

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Ehemaliger Vorstand: Prof. em. Dr. med. Dr. h.c. mult. K. Meßmer

Jetziger Vorstand: Prof. Dr. A. Baethmann

**Effekte des künstlichen Sauerstoffträgers DCLHb auf
Sauerstofftransport, Myokardperfusion und Gewebeoxygenierung
bei extremer normovolämischer Hämodilution**

Eine experimentelle Untersuchung am narkotisierten Hausschwein

DISSERTATION

Zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von
Jochen Tillmanns
aus
Heidelberg

2003

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Peter

Berichterstatter: Prof. em. Dr. med. Dr. h.c. mult. K. Meßmer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. S. Nees
Prof. Dr. M. Jochum

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. G. Kemming

Tag der mündlichen Prüfung: 27.11.2003

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	3
1.1	PROBLEMATIK DER FREMDBLUTTRANSFUSION	3
1.1.1	<i>Transfusions-Risiken</i>	3
1.1.2	<i>Verknappung allogener Blutkonserven</i>	4
1.2	FREMDBLUTSPARENDE MAßNAHMEN	5
1.3	AKUTE NORMOVOLÄMISCHE HÄMODILUTION	6
1.3.1	<i>Kompensation der Verdünnungsanämie</i>	7
1.3.2	<i>Kritischer Hämatokrit</i>	10
1.4	KÜNSTLICHE SAUERSTOFFTRÄGER UND HYPEROXIE	11
1.5	HÄMOGLOBINLÖSUNGEN	12
1.5.1	<i>Erythrozyten-Hämolysate</i>	12
1.5.2	<i>Modifizierte Hämoglobinlösungen</i>	14
1.5.3	<i>Diaspirin crosslinked Hemoglobin (DCLHb)</i>	15
1.6	FRAGESTELLUNG	16
2	MATERIAL UND METHODEN	17
2.1	EXPERIMENTELLES MODELL	17
2.2	ZUSAMMENSETZUNG DER VOLUMENERSATZLÖSUNGEN	17
2.3	ANÄSTHESIE	18
2.4	CHIRURGISCHE PRÄPARATION	19
2.5	VERSUCHSABLAUF	20
2.6	KRITISCHER HÄMATOKRIT	22
2.7	MESSPARAMETER UND -METHODEN	22
2.7.1	<i>Blutvolumen</i>	22
2.7.2	<i>Analyse von arteriellen, gemischt-venösen und portal-venösen Blutproben</i>	24
2.7.3	<i>Hämodynamik</i>	27
2.7.4	<i>Systemischer und gastro-intestinaler Sauerstofftransport</i>	28
2.7.5	<i>Regionaler myokardialer Blutfluß</i>	30
2.7.6	<i>Linksventrikuläre Myokardfunktion</i>	32
2.7.7	<i>Gewebe-Sauerstoffpartialdruck von Leber und Skelettmuskel</i>	35
2.7.8	<i>pH-Wert der Magennukosa</i>	37
2.8	STATISTIK	39
3	ERGEBNISSE	40
3.1	ALLGEMEINES	40
3.2	SCHRITTWEISE HÄMODILUTION BIS ZUM KRITISCHEN HÄMATOKRIT	40
3.3	HÄMODYNAMIK	42
3.3.1	<i>Ergebnisse der Blutvolumenbestimmung in beiden Gruppen</i>	42
3.3.2	<i>Ergebnisse der HSA-Gruppe</i>	42
3.3.3	<i>Ergebnisse der DCLHb-Gruppe</i>	44
3.3.4	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse der Hämodynamik</i>	45
3.4	SAUERSTOFFTRANSPORT	45
3.4.1	<i>Ergebnisse der HSA-Gruppe</i>	45
3.4.2	<i>Ergebnisse der DCLHb-Gruppe</i>	48
3.4.3	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse des Sauerstofftransportes</i>	50

3.5	MYOKARDIALE PERFUSION UND OXYGENIERUNG	50
3.5.1	<i>Ergebnisse der HSA-Gruppe</i>	50
3.5.2	<i>Ergebnisse der DCLHb-Gruppe</i>	53
3.5.3	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse der myokardialen Perfusion und Oxygenierung</i>	54
3.6	MYOKARDFUNKTION	55
3.6.1	<i>Ergebnisse der HSA-Gruppe</i>	55
3.6.2	<i>Ergebnisse der DCLHb-Gruppe</i>	56
3.6.3	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse der Myokardfunktion</i>	59
3.7	GEWEBEOXYGENIERUNG	59
3.7.1	<i>Ergebnisse der HSA-Gruppe</i>	59
3.7.2	<i>Ergebnisse der DCLHb-Gruppe</i>	61
3.7.3	<i>Zusammenfassung der Ergebnisse der Gewebeoxygenierung</i>	64
4	DISKUSSION	65
4.1	HERLEITUNG DER FRAGESTELLUNG.....	65
4.1.1	<i>Toleranz der Akuten normovolämischen Hämodilution</i>	65
4.1.2	<i>Effektivität der Akuten normovolämischen Hämodilution</i>	67
4.1.3	<i>Einsatz von Hämoglobinlösungen während ANH</i>	68
4.2	DISKUSSION VON MATERIAL UND METHODIK	69
4.2.1	<i>Experimentelles Modell</i>	69
4.2.2	<i>Erkennung des kritischen Hämatokrits durch Online-EKG-Analyse</i>	70
4.2.3	<i>Verwendung von 8% HSA als Kontrollsubstanz</i>	73
4.2.4	<i>Myokardiale Perfusion und -funktion</i>	73
4.2.5	<i>Sauerstofftransport in der DCLHb-Gruppe</i>	74
4.2.6	<i>Globale und regionale Gewebeoxygenierung</i>	75
4.3	DISKUSSION DER ERGEBNISSE.....	77
4.3.1	<i>Kritischer Hämatokrit</i>	77
4.3.2	<i>Kontrolle des Volumenstatus</i>	78
4.3.3	<i>Hämodynamik</i>	79
4.3.4	<i>Sauerstofftransport</i>	80
4.3.5	<i>Myokardiale Perfusion und Oxygenierung</i>	83
4.3.6	<i>Myokardfunktion</i>	88
4.3.7	<i>Gewebeoxygenierung</i>	90
4.4	HAUPTERGEBNIS.....	93
4.5	SCHLUßFOLGERUNG	93
5	ZUSAMMENFASSUNG	95
6	LITERATURVERZEICHNIS.....	99

1 Einleitung

1.1 Problematik der Fremdbluttransfusion

Die Transfusion von Fremdblut dient der Aufrechterhaltung einer minimalen Hämoglobinkonzentration des Blutes, um die Sauerstoffversorgung der Gewebe sicherzustellen. Zu diesem Zweck werden in Deutschland laut DRK-Statistik pro Jahr 4,5 Millionen Fremdblutkonserven verabreicht. Jede Fremdbluttransfusion ist trotz strenger Qualitätssicherung bei der Gewinnung und Verarbeitung der Blutkonserve nach wie vor mit einem Restrisiko für den Empfänger verbunden (Tab. 1.1).

1.1.1 Transfusions-Risiken

Hierzu zählt das Risiko einer transfusionsassoziierten Virus-Infektion mit Hepatitis B, Hepatitis C und HIV. In den letzten Jahren wurden neue Erreger (Hepatitis G-Virus, TT-Virus, Jakob-Creutzfeldt-Krankheit) als potentielle Gefahrenquellen identifiziert. Wie hoch das Risiko ist, sich über eine Transfusion mit diesen Erregern zu infizieren, kann derzeit noch nicht eingeschätzt werden. Andere Viren, wie Zytomegalie, HHV-8 und HTLV-I/II stellen neuerdings keine Übertragungsgefahr mehr dar.

Mindestens zehn Mal häufiger als Infektionen sind hingegen hämolytische Transfusionsreaktionen. Die akute hämolytische Transfusions-Reaktion entsteht

Tab. 1.1: Risiken bei Transfusion einer allogenen Bluteinheit ^{2,82,83}

Transfusionsbedingte Infektionen	Hepatitis B	1:220.000 – 1:250.000
	Hepatitis C	1:350.000 – 1:375.000
	HIV	1:1,3 – 1:3 Millionen
	Zytomegalie, HHV-8, HTLV-I/II	Sehr selten
	Bakterielle Kontamination	≥ 0,3%
	Septische Reaktion	1:1 Millionen
	Parasiten	Sehr selten
Hämolytische Transfusionsreaktionen	Akute Hämolysereaktion	1:33.000
	Verzögerte Hämolysereaktion	1:2.000 – 1:8.000
	Hämolysereaktion mit tödlichem Ausgang	1:1 – 1:2 Millionen
Immunologische Reaktionen	Febrile Transfusionsreaktion	1-7%
	Allergische Transfusionsreaktion	0,5%
	Anaphylaktischer Schock	1:500.000
	Immunmodulation	Wahrscheinlich
	Transfusionsbedingtes Lungenversagen	0,02%
	Posttransfusionelle Purpura	Sehr selten
Graft-versus-Host-Reaktion	Sehr selten	

meistens durch inkompatible AB0-Blutgruppen von Spender und Empfänger: Natürlich vorkommende Antikörper des Empfängers induzieren eine schnelle intravaskuläre Hämolyse der Spendererythrozyten, die in disseminierter intravasaler Gerinnung, Schock und akutem Nierenversagen enden kann; bei Vorliegen von inkompletten Antikörpern beispielsweise gegen Rhesus-Blutgruppen kann die Reaktion auch verzögert und abgeschwächt auftreten. Hämolytische Reaktionen können daneben auch durch unsachgemäße Lagerung, thermische Schädigung oder die Kontamination mit Pyrogenen, bakteriellen Endotoxinen und Bakterien verursacht werden. In diesem Zusammenhang ist insbesondere die vergleichsweise häufige bakterielle Kontamination von Spenderblut bedenklich.

Mittlerweile mehren sich Hinweise darauf, daß die allogene Bluttransfusion durch negative Effekte auf das Immunsystem ein erhöhtes Risiko für postoperative bakterielle Infektionen und Multiorganversagen birgt¹⁵⁹; das schwere Krankheitsbild des transfusionsassoziierten Lungenversagens zählt neben febrilen und allergischen Reaktionen zu den häufigsten Transfusions-Komplikationen in den entwickelten Ländern.

1.1.2 Verknappung allogener Blutkonserven

Neben den Transfusions-Risiken gewinnt das Problem der Verknappung allogener Blutkonserven an Bedeutung. Im Spendenpool verfügbare Blutkonserven können unter optimalen Bedingungen maximal 42 Tage verwendet werden. Die kurze Haltbarkeit macht langfristige Vorratsplanungen unmöglich und die kontinuierliche Gewinnung von Blutspenden notwendig. Der Blutkonserven-Bedarf wird nach Schätzungen schon in den nächsten Jahren nicht mehr gedeckt werden können, da einerseits die Spendebereitschaft stetig nachläßt und andererseits spendewillige Personen durch immer härtere Rückstellkriterien vom Spendenpool ausgeschlossen werden.

Verschärft wird die Situation durch einen erhöhten Blutkonserven-Bedarf, der durch die steigende Anzahl von chirurgischen Eingriffen mit hohen Blutverlusten, insbesondere in der wachsenden Bevölkerungsgruppe von Patienten > 65 Jahren, entsteht. Schon jetzt nehmen die Reserven, also die Anzahl nicht transfundierter Einheiten, stetig ab. Durch die Ressourcenverknappung und immer aufwendigere Verfahren bei der Blutkonserven-Produktion ist in den nächsten Jahrzehnten mit einem deutlichen Anstieg der Kosten für

eine Blutkonserve zu rechnen. Erste Schätzungen gehen bis zum Jahr 2030 von einer Verdopplung des heutigen Preises aus.

1.2 Fremdblutsparende Maßnahmen

Angesichts der beschriebenen Problematik sind Maßnahmen zur Vermeidung von Fremdbluttransfusionen zwingend erforderlich. Zu diesem Zweck finden heute pharmakologische, anästhesistische und chirurgische Techniken Verwendung (Tab. 1.2).

An allererster Stelle steht die strenge Indikationsstellung zur Transfusion, die einer kritischen Abwägung von Risiken und Nutzen im Einzelfall bedarf. Ebenso selbstverständlich ist eine sorgfältige chirurgische Technik: Hohe Blutverluste lassen sich durch geeignete minimalinvasive chirurgische Techniken und schnelle intraoperative Blutstillung vermindern. Bei der intraoperativen maschinellen Autotransfusion wird Blut direkt aus dem Operationsfeld mit einem OP-Sauger aufgefangen und abzentrifugiert. Die gewonnenen Erythrozyten werden gewaschen und retransfundiert; dies ist gerade bei Operationen mit hohem Blutverlust eine äußerst effektive Maßnahme.

Die Wahl des Anästhesieverfahrens hat Einfluß auf das Ausmaß von intraoperativen Blutverlusten. Beispielsweise ist die rein intravenöse Allgemeinanästhesie der kombinierten intravenösen und inhalativen Anästhesie überlegen. In Verbindung mit dem Anästhesieverfahren steht auch die kontrollierte Hypotension, die eine Senkung des hydrostatischen Blutdruckes durch Verminderung des peripheren Gefäßwiderstandes

Tab. 1.2: Übersicht über Maßnahmen zur Fremdbluteinsparung
(modifiziert nach HABLER u. MESSMER ⁵⁶)

1. Strenge Indikationsstellung	
2. Sicherstellung eines hohen Eigenblut-Anteils	<ul style="list-style-type: none">◇ ANH◇ Eigenblutspende◇ Erythropoietin ◇ Blutungsarmes chirurgisches Vorgehen◇ Wahl des Anästhesie-Verfahrens◇ Kontrollierte Hypotension◇ Maschinelle Autotransfusion◇ Antifibrinolytika
3. Steigerung der Sauerstofftransportkapazität	<ul style="list-style-type: none">◇ Hyperoxische Beatmung◇ Künstliche Sauerstoffträger<ul style="list-style-type: none">- Perfluorokarbone- Hämoglobinlösungen

vorsieht; während Operationen sickert so weniger Blut in das Operationsfeld. Antifibrinolytika unterstützen die Hämostase, indem sie die Plasminbildung aus Plasminogen und damit die Fibrinolyse hemmen.

Das Verfahren der präoperativen Eigenblutspende sieht in den Wochen vor der Operation eine oder mehrere Eigenblutspenden vor, um bei Bedarf ausschließlich autologes Blut transfundieren zu können. Durch die Verabreichung des Eigenblutes im Bedarfsfall ist der Patient vor den von allogenen Blutprodukten bekannten Transfusionskomplikationen geschützt. Das Hormon Erythropoietin (EPO) kann zusätzlich oder als alleinige Maßnahme verabreicht werden, um eine möglichst hohe präoperative Hämoglobinkonzentration zu gewährleisten.

Während die präoperative Eigenblutspende und Gabe von EPO eine Vorlaufzeit von mehreren Tagen bis Wochen benötigen, kann die akute normovolämische Hämodilution direkt vor Operationsbeginn durchgeführt werden.

1.3 Akute normovolämische Hämodilution

Die akute normovolämische Hämodilution (ANH) wurde in den frühen 1970er Jahren als Alternative zur Fremdbluttransfusion eingeführt¹⁰⁵. Diese wichtige fremdblutsparende Technik beinhaltet die präoperative Entnahme von frischem autologem Vollblut des Patienten. Bei der Entnahme wird Normovolämie durch simultanen Ersatz des entzogenen Vollblutes durch isoonkotische Kolloide im Verhältnis 1:1^{65;102} oder durch isotone Kristalloide im Verhältnis 3:1 aufrechterhalten¹³⁰. Mit dem isovolämischen Blutaustausch werden alle zellulären und azellulären Blutbestandteile verdünnt, insbesondere die für den Sauerstofftransport besonders wichtige Erythrozytenmasse. Das Ausmaß der Blutverdünnung (Hämodilutionsgrad) wird aus diesem Grund über die Hämoglobinkonzentration beziehungsweise den Hämatokrit kontrolliert; in diesem Zusammenhang wird zwischen der moderaten normovolämischen Hämodilution mit einem minimalen Hämatokrit von 28–30% und der extremen normovolämischen Hämodilution mit Zielhämatokritwerten von 20% oder weniger unterschieden⁸⁵.

Das gewonnene Blut kann intra- oder postoperativ an Stelle von Fremdblut transfundiert werden. Die Retransfusion der Konserven erfolgt zumeist in der umgekehrten Reihenfolge der Abnahme, um das an Erythrozyten, Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren besonders reiche, konzentrierte Blut möglichst nach Abschluß der

Operation zurückzugeben; dies garantiert dem Patienten einen hohen perioperativen Eigenblutanteil und eine geringere Wahrscheinlichkeit der Transfusion allogener Blutprodukte.

1.3.1 Kompensation der Verdünnungsanämie

Die Verdünnungsanämie ist mit einer Reduktion des arteriellen Sauerstoffgehaltes (CaO_2) verbunden, der sich aus der Summe von hämoglobingebundenem und physikalisch gelöstem Sauerstoff nach der folgenden Formel berechnet:

$$CaO_2 = (Hb \cdot 1,34 \cdot SaO_2) + (0,0031 \cdot PaO_2)$$

CaO_2 : arterieller Sauerstoffgehalt; Hb: arterielle Hämoglobinkonzentration; 1,34: Hüfner'sche Zahl (Sauerstoff-Bindungskoeffizient); SaO_2 : arterielle Hämoglobin-Sauerstoffsättigung; 0,0031: O_2 -Löslichkeitskoeffizient im Plasma; PaO_2 : arterieller Sauerstoffpartialdruck.

Der aus den Lungenalveolen aufgenommene Sauerstoff wird mit dem Blutstrom an die peripheren Gewebe verteilt und in den Zellen zur Energiegewinnung verbraucht. Als kritischer Parameter der Hämodilution gilt ein ausreichendes Sauerstoffangebot (DO_2), welches sich als Produkt von CaO_2 und Herzzeitvolumen (HZV) berechnet:

$$DO_2 = HZV \cdot CaO_2$$

DO_2 : Sauerstoffangebot; HZV: Herzzeitvolumen; CaO_2 : arterieller Sauerstoffgehalt

Der Organismus reagiert auf die während Hämodilution reduzierte Sauerstofftransportkapazität mit charakteristischen Kompensationsmechanismen, die ein ausreichendes Sauerstoffangebot an die Organe und Gewebe auch bei erniedrigtem arteriellen Sauerstoffgehalt sicherstellen. Im Einzelnen sind dies

1. die Steigerung des Herzzeitvolumens und verbesserte Organperfusion sowie
2. die vermehrte Sauerstoffausschöpfung des Blutes während der Organpassage.

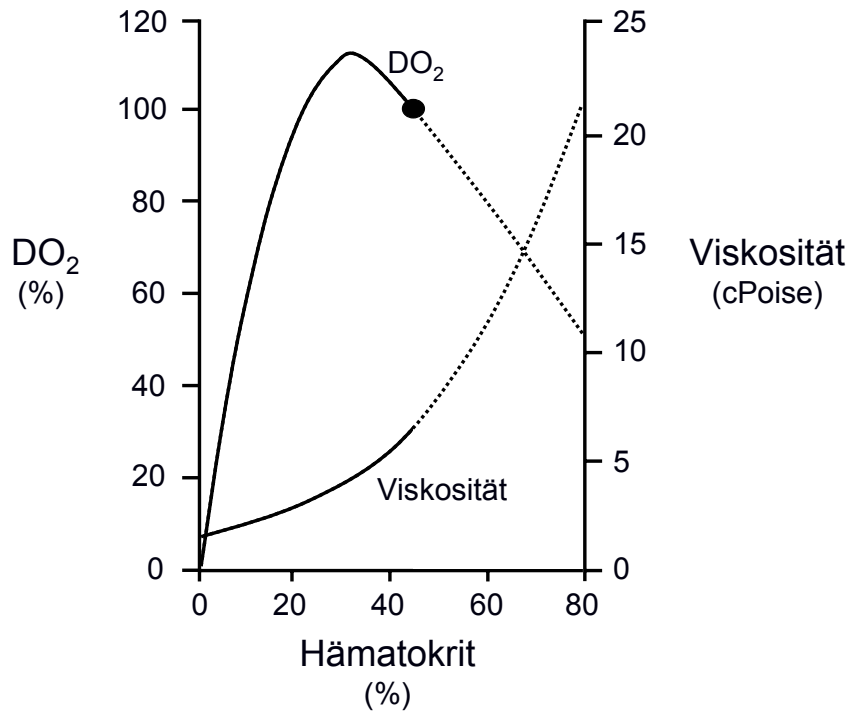


Abb. 1.1: Veränderung von Sauerstoffangebot (DO₂) und Viskosität bei volumenkompensiertem Blutentzug (modifiziert nach SUNDER-PLASSMANN et al. ¹⁵⁰).

Das Sauerstoffangebot ist relativ zum physiologischen Ausgangswert (Markierung) angegeben.

ad 1) Wie in Abb. 1.1 dargestellt, läßt sich während Hämodilution ausgehend vom physiologischen Hämatokrit trotz Verminderung der Hämoglobinkonzentration zunächst ein Anstieg des Sauerstoffangebotes beobachten. HINT berechnete 1968, daß der exponentielle Viskositätsabfall des zunehmend verdünnten Blutes im Bereich von Hämatokrit 45% bis Hämatokrit 20% eine Überkompensation der CaO₂-Reduktion verursacht ⁷⁰. SUNDER-PLASSMANN et al. bestätigten diese Überlegungen tierexperimentell und stellten das maximale Sauerstoffangebot bei Hämatokrit 30% fest ¹⁵⁰.

Die beschriebene Verbesserung des Sauerstoffangebotes wird durch ein erhöhtes Herzzeitvolumen infolge gesteigertem Schlagvolumen bei unveränderter Herzfrequenz ermöglicht:

$$\text{HZV} \uparrow = \text{SV} \uparrow \cdot \text{HF} \Leftrightarrow$$

HZV: Herzzeitvolumen; HF: Herzfrequenz; SV: Schlagvolumen

Der Anstieg des Schlagvolumens wird zunächst durch eine verminderte linksventrikuläre Nachlast infolge peripherer Vasodilatation begünstigt³⁵: Aufgrund der reduzierten Blutviskosität sind Blutflußgeschwindigkeit und Scherrate während Hämodilution erhöht¹⁰⁵; dies bewirkt eine vermehrte endotheliale Freisetzung von vasodilatierend wirkenden Substanzen wie z.B. Stickstoffmonoxid^{22;41}. Weiterhin wird der Schlagvolumen-Anstieg durch einen infolge des verringerten peripheren Widerstands erhöhten venösen Rückstrom unterstützt⁵⁴. Die myokardiale Kontraktilität ist ebenfalls gesteigert und ermöglicht gemeinsam mit der verbesserten linksventrikulären Füllung und der reduzierten Nachlast ein erhöhtes Auswurfvolumen des linken Ventrikels⁵⁹.

Die ANH verbessert neben der Makrozirkulation auch die Fließeigenschaften des Blutes in den Arteriolen, Präkapillaren, Kapillaren, postkapillären Venolen und Sammelvenolen (Mikrozirkulation). Mit dem als Kapillarrekruitment bezeichneten Anstieg der Anzahl durchbluteter Kapillaren pro Gewebeeinheit vergrößert sich die Austauschfläche zwischen Blut und Gewebe im Endstromgebiet^{103;157}. Die Fließeigenschaften sind während Hämodilution auch durch die bessere Verformbarkeit und reduzierte Aggregationsneigung der Erythrozyten sowie infolge der reduzierten Plasmaviskosität verbessert; in der Mikrozirkulation ist die Viskosität generell um bis zu 50% niedriger als im systemischen Kreislauf, da die Erythrozyten in der Mitte von Mikrogefäßen ($\varnothing < 300 \mu\text{m}$) schneller als das umgebende Plasma fließen und eine dynamische Reduktion des Hämatokrit bewirken (Fåhræus-Lindquist-Effekt).

ad 2) Der zweite wichtige Kompensationsmechanismus bei Verdünnungsanämie ist die erhöhte Sauerstoffextraktion im Gewebe¹⁰⁴. Der effektiv von den Kapillaren in die Gewebe diffundierte Sauerstoff wird relativ zum Sauerstoffangebot als Sauerstoffextraktionsrate angegeben und liegt in Ruhe bei 25–30%:

$$\text{O}_2 \text{ ER} = (\text{CaO}_2 - \text{CvO}_2) / \text{CaO}_2$$

O₂ ER: Sauerstoffextraktionsrate; CaO₂: arterieller Sauerstoffgehalt; CvO₂: gemischt-venöser Sauerstoffgehalt

Wird die ANH unter Hämatokrit 20% fortgesetzt, reicht der Blutflußanstieg alleine zur Kompensation des reduzierten Sauerstoffgehaltes nicht mehr aus und DO₂ sinkt unter

den Ausgangswert (Abb. 1.1) ¹⁶². Der Organismus nimmt den angebotenen Sauerstoff unter diesen Bedingungen vermehrt aus dem arteriellen Blut auf, unter anderem begünstigt durch die reduzierte Sauerstoffaffinität des verbliebenen Hämoglobins.

1.3.2 Kritischer Hämatokrit

Die Sauerstoffaufnahme im Gewebe (VO_2) bleibt während Hämodilution über einen weiten Bereich unabhängig vom Sauerstoffangebot ⁶⁰: Im Bereich zwischen Hämatokrit 30% und Hämatokrit 20% fällt DO_2 ab, VO_2 jedoch nicht (Abb. 1.2); dies liegt einerseits daran, daß das Sauerstoffangebot in Ruhe vier- bis fünfmal höher als der Sauerstoffbedarf der Gewebe ist und damit eine große Reserve beinhaltet. Andererseits wird die ausreichende Gewebesauerstoffversorgung durch die Zunahme des Herzzeitvolumens und die erhöhte Sauerstoffextraktionsrate sichergestellt. Die Sauerstoffaufnahme im Gewebe berechnet sich nach dem Fick'schen Prinzip aus Herzzeitvolumen und arterio-venöser Sauerstoffgehaltsdifferenz:

$$VO_2 = HZV \cdot (CaO_2 - CvO_2)$$

VO_2 : Sauerstoffaufnahme; HZV: Herzzeitvolumen; CaO_2 : arterieller Sauerstoffgehalt; CvO_2 : gemischt-venöser Sauerstoffgehalt

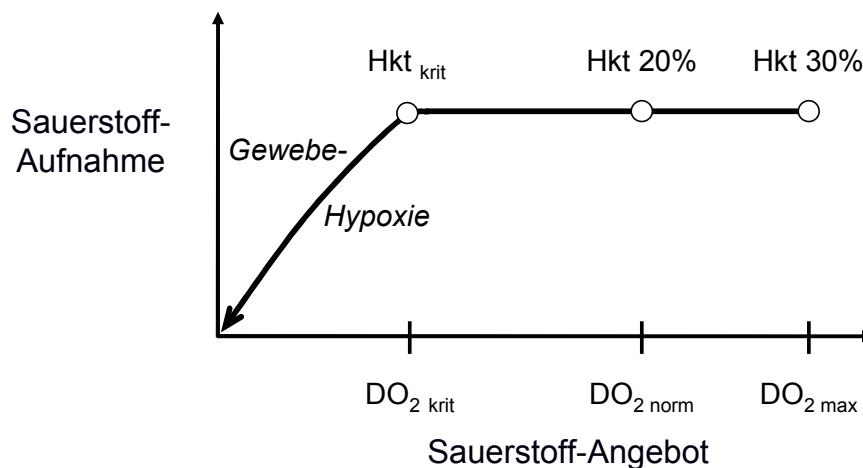


Abb. 1.2: Sauerstoffaufnahme (VO_2) und Sauerstoffangebot (DO_2) im Verlauf der Hämodilution.

Im Bereich von normalem ($DO_{2\text{norm}}$) und verbessertem Sauerstoffangebot ($DO_{2\text{max}}$) bleibt die Sauerstoffaufnahme unverändert. Bei der Reduktion von DO_2 wird der Sauerstoffbedarf ab einem kritischen Punkt ($DO_{2\text{krit}}$) nicht mehr ausreichend gedeckt. Die Sauerstoffaufnahme fällt in der Folge aus Mangel an Angebot ab; es beginnt sich eine Gewebhypoxie zu manifestieren.

Bei Absinken des Sauerstoffangebotes unter einen bestimmten kritischen Wert ($DO_{2\text{ krit}}$) reichen die Kompensationsmechanismen nicht mehr aus. Die Sauerstoffaufnahme wird bei Erreichen von $DO_{2\text{ krit}}$ vom Angebot abhängig und beginnt parallel zu DO_2 zu sinken (Abb. 1.2) ¹⁶⁶. Der Hämatokritwert, bei dem das Sauerstoffangebot den Bedarf nicht mehr ausreichend decken kann und VO_2 zu sinken beginnt, wird als kritischer Hämatokrit (Hkt_{krit}) bezeichnet. Die Sauerstoffmangelversorgung am kritischen Hämatokrit äußert sich in einer Gewebhypoxie, die als Ausdruck der zunehmend anaeroben Energiegewinnung von einem Anstieg der Serum-Laktatkonzentration begleitet wird. Besonders das Herz ist von dem Sauerstoffmangel betroffen, da es als Träger der Kompensationsarbeit auf eine ausreichende Sauerstoffzufuhr angewiesen ist. Am kritischen Hämatokrit droht aus diesem Grund das Auftreten einer Myokardischämie und die Dekompensation des Kreislaufes. Bei der Anwendung der ANH muß deshalb zwingend ein Hämodilutionsgrad gewählt werden, der eine ausreichende Reserve zum individuellen kritischen Hämatokrit beinhaltet.

1.4 Künstliche Sauerstoffträger und Hyperoxie

Die bereits beschriebenen fremdblutsparenden Methoden basieren allesamt auf dem Prinzip, einen möglichst hohen Anteil autologen Blutes im Kreislauf vorzuhalten. Viele der Methoden sind dabei auf den Einsatz bei elektiven Eingriffen beschränkt, in Notfallsituationen nicht sinnvoll anzuwenden oder können den Blutverlust nicht vollständig kompensieren. Für Situationen mit kurzzeitigem Bedarf an Volumen und Sauerstofftransportkapazität sind die Therapie mit künstlichen Sauerstoffträgern und die hyperoxische Beatmung konzipiert. Beide Verfahren können zur Vermeidung von Fremdbluttransfusionen sowohl eine eigenständige Alternative darstellen als auch in Kombination mit den bestehenden Maßnahmen angewendet werden, insbesondere mit der akuten normovolämischen Hämodilution.

Synthetisch hergestellte künstliche Sauerstoffträger übernehmen vornehmlich die Funktion der Erythrozyten und dienen der Aufrechterhaltung des Sauerstofftransports zu den Organen, da es nach heutigem Stand der Wissenschaft nicht möglich ist, Vollblut mit all seinen Komponenten künstlich herzustellen. Derzeit werden zwei Gruppen von künstlichen Sauerstoffträgern im klinischen Einsatz untersucht: Hämoglobinlösungen (aus humanem oder bovinem Blut bzw. gentechnisch hergestellt) und Perfluorocarbone (rein synthetisch hergestellte halogenierte Kohlenwasserstoffe). Sowohl bei der Therapie

mit Perfluorocarbonen⁵⁸ als auch bei der hyperoxischen Beatmung^{160;174} ist eine Ventilation mit 100% Sauerstoff vorgesehen, um die Sauerstofftransportkapazität des verdünnten Blutes zu verbessern. Die erhöhten Sauerstoffpartialdrücke um 600 mmHg können aufgrund der bekannten toxischen Wirkungen allerdings nur wenige Stunden eingesetzt werden. Perfluorocarbone können zudem nur in geringen Dosen verwendet werden, da ihre maximale Konzentration im Blut aufgrund der Gefahr einer Überladung des Retikulo-Endothelialen Systems begrenzt ist. Diese Einschränkungen treffen für Hämoglobinlösungen nicht zu.

1.5 Hämoglobinlösungen

1.5.1 Erythrozyten-Hämolysate

Auf der Suche nach einer Volumenersatzlösung mit sauerstofftransportierenden Eigenschaften wurden schon früh Hämoglobinlösungen aus hämolysierten Erythrozyten untersucht. Schon 1898 setzte v. STARK eine solche Hämoglobinlösung ein, um Patienten mit chronischer Anämie zu behandeln¹⁶⁷. Neben der gewünschten Verbesserung des Sauerstofftransportes beobachtete er allerdings in seinen Versuchen eine kurze intravasale Verweildauer, Nierenschädigungen und eine Aktivierung der Blutgerinnung. Als Ursache für diese Nebenwirkungen machte er unter anderem das im Hämolysat verbliebene Zellstroma verantwortlich. Daraus ergab sich die Notwendigkeit von stromafreien Hämoglobinlösungen, die in den folgenden Jahrzehnten aufgrund der aufwendigen Verfahren aber nur unzureichend hergestellt werden konnten.

Der amerikanische Physiologe Amberson beobachtete 1937 in Tierexperimenten einen vasokonstriktischen Effekt der Hämoglobinlösungen auf den pulmonalen und systemischen Kreislauf⁴. Zwölf Jahre später nutzte er dieses Wissen und infundierte einer jungen Patientin im schweren hämorrhagischen Schock – in Ermangelung von blutgruppenkompatiblem Fremdblut – eine selbst hergestellte Hämoglobinlösung; die Patientin war anschließend wieder hämodynamisch stabil und ansprechbar. Obwohl sie wenig später im Nierenversagen verstarb, war damit erstmals die Möglichkeit der Substitution von Blutverlusten bei schwerer Anämie gezeigt worden.

Die physikalisch-chemischen Eigenschaften von Hämoglobinlösungen unterscheiden sich von Vollblut durch eine erhöhte Sauerstoffaffinität, verkürzte intravasale Verweildauer und hohe osmotische Wirksamkeit, nephrotoxische und vasokonstriktische Effekte sowie oxidative Wirkungen unter Bildung freier Radikale.

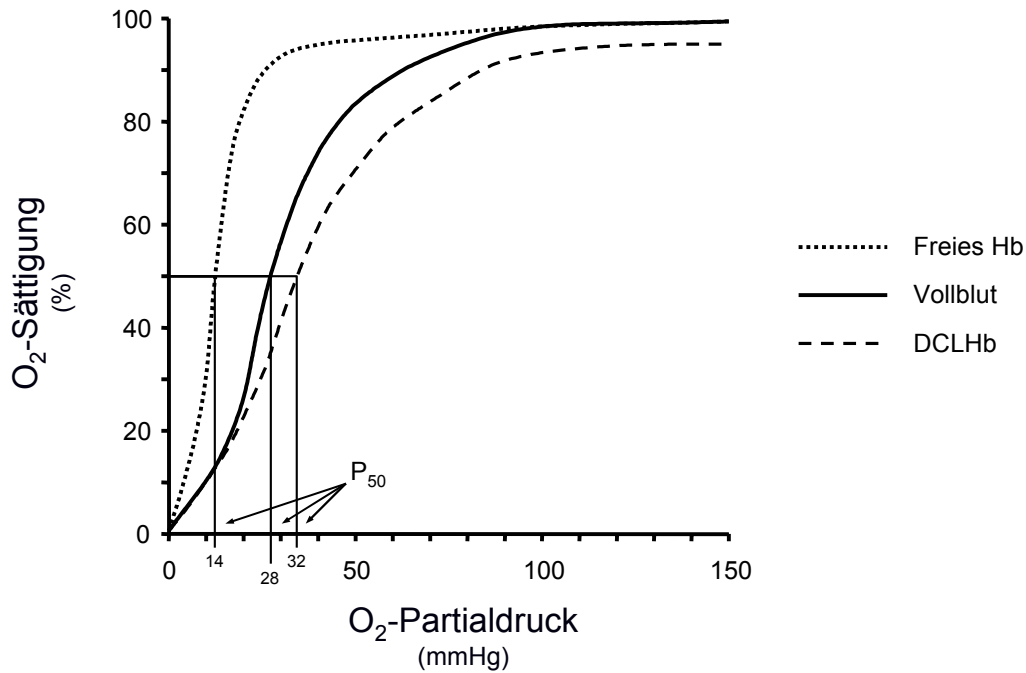


Abb. 1.3: Vergleich der Sauerstoffsättigungs-Kurven von Vollblut, freiem humanen Hämoglobin und DCLHb (nach DEBY-DUPONT et al. ³⁷).

Der niedrige Sauerstoff-Halbsättigungswert (P_{50}) von freiem, unmodifiziertem Hämoglobin ist mit erhöhter Sauerstoffaffinität und verschlechterter Sauerstoffabgabe an das Gewebe verbunden. Die Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve von DCLHb dagegen ermöglicht eine verbesserte Abgabe von Sauerstoff an das Gewebe im Vergleich zu Vollblut und unmodifiziertem freiem Hämoglobin.

Die Affinität des Hämoglobins für Sauerstoff läßt sich in einer sigmoidalen Sättigungskurve darstellen (Abb. 1.3). Als Maß für die Sauerstoffaffinität gilt der Sauerstoffpartialdruck, bei dem 50% des Hämoglobins mit Sauerstoff gesättigt sind. Dieser als P_{50} bezeichnete Wert befindet sich mit 14 mmHg für freies Hämoglobin weit unter dem Vollblut-Wert von 28 mmHg, wodurch bei gegebenem Sauerstoffpartialdruck weniger Sauerstoff an die Gewebe abgegeben werden kann.

Die verkürzte Halbwertszeit von freiem und unmodifiziertem Hämoglobin beruht auf seiner Instabilität: Hämoglobin ist ein tetrameres Molekül bestehend aus vier monomeren Peptidketten (Globine), denen jeweils ein Häm als prosthetische Gruppe angelagert ist; die Globine lassen sich aufgrund unterschiedlicher Aminosäuresequenzen in α -, β -, γ - und δ -Ketten unterteilen und liegen größtenteils paarweise als Dimere vor. Während Hämoglobin in den Erythrozyten normalerweise über 120 Tage zum Sauerstofftransport bereit steht, dissoziiert es im Blut aufgrund der tetrameren Molekularstruktur sehr schnell in seine monomeren und dimeren Untereinheiten; der

Anstieg osmotisch wirksamer Plasmabestandteile sorgt in der Folge für einen erhöhten kolloidosmotischen Druck und limitiert somit aufgrund der Gefahr von Flüssigkeitsverschiebungen die maximal infundierbare Konzentration von unmodifizierten Hämoglobin-Lösungen auf 7 g/dl ¹¹⁰.

Auch die vasokonstriktorisches Eigenschaften von Hämoglobin, die nach Infusion einen Anstieg des Blutdrucks im kleinen und großen Kreislauf auslösen, stehen mit dem molekularen Aufbau des Tetramers in Zusammenhang. Zwar ist die genaue Ursache bis heute noch nicht geklärt, eine wichtige Rolle spielen jedoch die Bindung von vasodilatierend wirkendem Stickstoffmonoxid ^{41;136;140} sowie die Interaktion mit dem Endothelinstoffwechsel ^{52;87;136} und α -adrenergen Katecholaminrezeptoren ⁵⁰.

1.5.2 Modifizierte Hämoglobinlösungen

Seit den Siebzigerjahren wurden erhebliche Anstrengungen unternommen, effektive und nebenwirkungsärmere Volumenersatzlösungen auf Hämoglobinbasis herzustellen. Dies gelang durch Reinigung der Erythrozyten-Hämolysate und Modifikationen am Hämoglobin-Tetramer. Neu entwickelte Ultrafiltrationsverfahren ermöglichen die

Tab. 1.3: In präklinischen und klinischen Studien untersuchte modifizierte Hämoglobinlösungen (modifiziert nach WINSLOW ¹⁷⁶, PALAPARTHY et al. ¹²⁰, RESTA et al. ¹²⁷)

Produktname	Hämoglobin	Gesamt-Hb (g/dl)	Modifikation
HemAssist™ (DCLHb) (Baxter Healthcare, USA)	Humanes Hb	10	Intramolekulare α - α -Bindung
PolyHeme™ (Northfield Lab. Inc., USA)	Humanes Hb	12-14	Pyridoxylierung, Polymerisierung an Glutaraldehyd
PHP (Apex Bioscience)	Humanes Hb	7,7	Pyridoxylierung, Konjugation
Hemolink™ (Hemosol Inc., Canada)	Humanes Hb	9,4	Polymerisierung mit <i>o</i> -Raffinose
PEG-Hämoglobin (Enzon)	Bovines Hb	5,5-6	Konjugation an Polyethylenglykol
Hemopure™ (Biopure Corp., USA)	Bovines Hb	13	Polymerisierung mit Glutaraldehyd
Optro™ (rHb 1.1) (Somatogen Inc., USA)	Rekombinantes humanes Hb	5	α - α -Bindung
rHb 2.0 (Baxter Healthcare, USA)	Rekombinantes humanes Hb	10	α - α -Bindung, Polymerisierung

Produktion hochgereinigter Hämoglobinlösungen, bei denen zudem die Übertragung von potentiell infektiösen Erregern durch Hitzebehandlung ausgeschlossen ist.

Der Stabilisierung des Hämoglobin-Tetramers dienen verschiedene Techniken (Tab. 1.3): Die intra- sowie intermolekulare Verknüpfung der Untereinheiten, die Polymerisation zu Makromolekülen und die Konjugation von einzelnen Tetrameren an Dextran oder andere Trägermoleküle. Ein Großteil des für die Lösungen verwendeten Hämoglobins wird heute aus abgelaufenen humanen Blutspenden gewonnen. Alternativ findet auch bovines oder gentechnisch hergestelltes Hämoglobin Verwendung. Die entstandenen modifizierten Hämoglobin-Lösungen beeindrucken durch die Sicherstellung eines adäquaten Sauerstoffangebotes an die Gewebe über mehrere Stunden^{32,51,143}.

1.5.3 Diaspirin crosslinked Hemoglobin (DCLHb)

Diaspirin crosslinked Hemoglobin (DCLHb, Baxter Healthcare Corp., Deerfield, IL, USA) ist eine 10% ige Lösung von modifiziertem Hämoglobin, die über sauerstofftransportierende, plasmaexpandierende und vasokonstriktorische Eigenschaften verfügt. Für die Herstellung werden überfällige humane Blutkonserven verwendet: Die Erythrozyten werden gewaschen, osmotisch hämolysiert und ultrafiltriert, um Erythrozyten-Stroma und sonstige Unreinheiten zu entfernen. Anschließend wird mit 3,5-Dibromosalicyl-Fumarat an Position 99 der beiden α -Untereinheiten eine Querverbindung zwischen den Lysin-Aminosäuren hinzugefügt²⁸. Die Lösung wird jetzt bei 70° C pasteurisiert, erneut ultrafiltriert⁵ und abschließend mit einer Elektrolyt-Lösung versetzt. Das fertige Produkt ist eine sterile und pyrogenfreie Hämoglobinlösung. Bei der Verabreichung erzeugt DCLHb nur eine sehr geringe Immunantwort, da die auf der Oberfläche der Erythrozyten befindlichen Blutgruppenantigene mit der Reinigung des Erythrozytenhämolysats entfernt wurden; Kreuzproben können dadurch vollständig entfallen.

Die α - α -Querverbindung stabilisiert das Hämoglobin-Tetramer und ermöglicht die Herstellung von 10% igen DCLHb-Lösungen, ohne bei Infusion eine Überladung mit osmotisch wirksamen Plasmabestandteilen zu bewirken. Die Sauerstoffabgabe an das Gewebe ist mit einem P₅₀-Wert von 32 mmHg erleichtert (Abb. 1.3). Der onkotische Druck von DCLHb ist aufgrund der im Vergleich zu Erythrozyten geringen Molekülgröße des Tetramers auf 43 mmHg erhöht, sodaß die Infusion eine intravasale

Volumenzunahme bewirkt. Nach Infusion von DCLHb ist im Kreislauf wie bei freiem Hämoglobin ein vasokonstriktorisches Effekt zu beobachten.

1.6 Fragestellung

Die akute normovolämische Hämodilution ist eine etablierte Methode zur Einsparung von Fremdbluttransfusionen. Bei Erreichen des kritischen Hämatokrit drohen aufgrund des Sauerstoffmangels Gewebhypoxie und Myokardischämie. Das während der ANH gesammelte Patientenblut muß intraoperativ spätestens dann retransfundiert werden, wenn das Sauerstoffangebot unter den kritischen Wert zu sinken droht. Aufgrund des begrenzten Vorrates an Eigenblut ist unter diesen Voraussetzungen die Wahrscheinlichkeit einer perioperativen Fremdbluttransfusion erhöht.

Diaspirin crosslinked Hemoglobin ist ein künstlicher Sauerstoffträger auf Basis von humanem Hämoglobin, der Sauerstoff transportieren und im Gewebe abgeben kann; zusätzlich verfügt es über vasokonstriktorisches und volumenexpandierende Eigenschaften. Der Einsatz von DCLHb als Austauschmittel während Hämodilution müßte das Sauerstoffangebot im verdünnten Blut bis in tiefere Hämatokritbereiche aufrechterhalten können, als dies mit einer herkömmlichen Volumenersatzlösung ohne spezifische sauerstofftransportierende Eigenschaften möglich ist. Die Oxygenierung der Gewebe könnte trotz reduziertem Hämatokrit sichergestellt und das Herz ausreichend mit Sauerstoff versorgt werden.

Ausgehend von dieser Annahme sollten im Rahmen der vorliegenden Arbeit folgende Fragen beantwortet werden:

1. Kann der kritische Hämatokrit bei Hämodilution mit einer DCLHb-Lösung im Vergleich zu einer herkömmlichen Volumenersatzlösung ohne sauerstofftransportierende Eigenschaften gesenkt werden?
2. Welche Auswirkungen hat die Hämodilution mit DCLHb auf Sauerstofftransport, Myokardperfusion, -funktion sowie die Gewebeoxygenierung?

2 Material und Methoden

2.1 Experimentelles Modell

Zur Beantwortung der Fragestellung wurde bei anästhesierten Schweinen eine mehrstufige normovolämische Hämodilution durchgeführt, wobei in zwei Gruppen als Dilutionsmittel entweder eine 10% DCLHb-Lösung (n=6) oder isoonkotisches humanes Serum-Albumin (HSA; n=6) diente.

Nach positiver Beurteilung des Tierversuchsantrages durch den Freistaat Bayern wurde die Versuchsreihe von Juli bis Oktober 1998 an 12 juvenilen Schweinen (Deutsche Landrasse, Alter ca. drei Monate) durchgeführt. Die Tierhaltung entsprach den Anforderungen des „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“¹¹³.

2.2 Zusammensetzung der Volumenersatzlösungen

Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der untersuchten DCLHb-Lösung sind in Tab. 2.1 aufgelistet. Die von der Firma Baxter (Baxter Healthcare Corp., Deerfield, IL, USA) zur Verfügung gestellten DCLHb-Einheiten zu je 250 ml wurden tiefgefroren angeliefert und bis zum Tag vor dem Versuch bei -80° C gelagert, um die Bildung von Methämoglobin zu reduzieren. Für jeden Versuch wurden am Vortag abhängig vom Körpergewicht des Versuchstieres 8-16 DCLHb-Einheiten bei +4° C aufgetaut, am

Tab. 2.1: Physikalisch-chemische Eigenschaften von DCLHb und HSA.

Parameter	Humanes Serum Albumin (HSA)	Diaspirin crosslinked Hb (DCLHb)
Gesamt-Hämoglobinkonzentration (g/dl)	–	10
Albumin-Konzentration (g/dl)	8	–
O ₂ -Bindungskapazität, P ₅₀ (mmHg)	–	32
Methämoglobin-Anteil (%)	–	< 5
Kolloidosmotischer Druck (mmHg)	43,8	42
Osmolarität (mOsm/l)	284	300
pH (bei 37° C)	7,41	7,40
Endotoxin-Aktivität (EU/ml)	–	< 0,1
Natrium (mmol/l)	132	140
Kalium (mmol/l)	3,8	4,0
Calcium (mmol/l)	1,6	2,3
Magnesium (mmol/l)	0,7	1,0
Chlorid (mmol/l)	116	110
Laktat (mmol/l)	36	32

Versuchstag bei Raumtemperatur vorgehalten und vor der Verabreichung in einem Wasserbad auf +37° C erwärmt. Nicht verwendete aufgetaute Einheiten wurden nach Versuchsende verworfen.

In der Kontrollgruppe wurde 8% humanes Serum-Albumin (HSA; Baxter Healthcare Corp., Deerfield, IL, USA) verwendet, das der DCLHb-Lösung in den physikalisch-chemischen Eigenschaften entsprach (Tab. 2.1). Durch Anhebung des onkotischen Druckes auf 43,8 mmHg ließ sich eine volumenbedingte Beeinflussung der Messergebnisse vermeiden. Die HSA-Lösung wurde in Einheiten mit jeweils 250 ml geliefert, bei +4° C gelagert und vor Verabreichung im Wasserbad auf +37° C erwärmt.

2.3 Anästhesie

Die Versuchstiere wurden mit Ketamin 10 mg/kg KG (Ketavet, Pharmacia & Upjohn GmbH, Erlangen, Deutschland), Midazolam 1 mg/kg KG (Dormicum V, Hoffmann-LaRoche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) und Atropinsulfat 0,025 mg/kg KG (Atropinsulfat Braun, B.Braun Melsungen, Deutschland) prämediziert. Dreißig Minuten später wurde ein venöser Zugang (20 G, Vigon, Ecouen, Frankreich) in das linke oder rechte Ohr des Tieres gelegt und die Narkose mit Fentanyl 0,05 mg/kg KG (Fentanyl, Janssen, Neuss) und Metohexital 2 mg/kg KG (Brevimytal, Lilly, Giessen) unter permanenter Kontrolle der arteriellen Sauerstoffsättigung mit einem Pulsoxymeter (Ohmeda, Louisville, CO, USA) eingeleitet.

Nach Muskelrelaxation durch i.v.-Injektion von Pancuronium-Bromid 0,2 mg/kg KG (Pancuronium, CuraMed Pharma, Karlsruhe, Deutschland) erfolgte die endotracheale Intubation unter direkter Laryngoskopie (Mikrolaryngealtubus mit 6 mm Innendurchmesser, Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland). Nach auskultatorischer Verifizierung der korrekten Tubuslage wurde unter manueller Beatmung ein Tonometrikatheter mit integrierter Magensonde (Tonometrics Inc., Worcester, MA, USA) transoral in den Magen eingeführt. Die Beatmung erfolgte mit einem Siemens Servo Ventilator 900 B (Siemens-Elcoma, Solna, Schweden) bei einem inspiratorischen Sauerstoffanteil von 21% (FiO_2 0,21), einer Atemfrequenz von 10-12 Hüben/Min und einem positiven end-expiratorischen Druck (PEEP) von 7 cm H₂O. Eine adäquate Ventilation wurde durch regelmäßige Messung des arteriellen und expiratorischen CO₂-Partialdruckes (Oxisensor, Nellcor Inc., Hayward CA, USA) kontrolliert und gegebenenfalls zur Einstellung der Normokapnie angepaßt. Die Narkose wurde mit

Diazepam 0,5–1,0 mg/h/kg KG (Diazepam ratiopharm, Ratiopharm, Ulm, Deutschland), Morphin 80 µg/h/kg KG (Morphin, Merck, Darmstadt, Deutschland) und Pancuronium-Bromid 0,2 mg/h/kg KG aufrechterhalten. Als Trägerinfusion und zum Ersatz der Perspiratio insensibilis wurden 15 ml/h/kg KG einer Kochsalz-Lösung mit Kalium-Chlorid-Zusatz verabreicht.

Die Körperkerntemperatur wurde in der A. pulmonalis gemessen (Ejection Fraction / Cardiac Output Computer, Baxter, Irvine, Kalifornien, USA) und durch eine Heizmatte und Heizlampe stabil gehalten. Ein angeschlossenes 3-Kanal-EKG ermöglichte die elektrokardiographische Überwachung.

2.4 Chirurgische Präparation

Die chirurgische Präparation (in Rückenlage) erfolgte unter sterilen Bedingungen. Zunächst wurden folgende Katheter und Schleusen nach Freipräparierung der angegebenen Gefäße unter Sicht implantiert:

Über die V. jugularis interna rechts ein Swan-Ganz-Katheter (Swan-Ganz TD cath. 7,5 F, Baxter Healthcare Corp., Santa Ana, CA, USA) in die linke oder rechte A. pulmonalis zur Messung des Pulmonal-Arterien-Druckes (PAP),

über die V. jugularis interna links ein zentralvenöser Katheter in die V. cava superior für Blutentnahmen und zur Messung des zentralvenösen Blutdruckes (ZVD),

über die A. carotis communis links ein Katheter-Tip-Manometer (5 F, PC 370, Houston, Texas, USA) in den linken Ventrikel zur kontinuierlichen Aufzeichnung des systolischen (LVP) und end-diastolischen linksventrikulären Druckes (LVEDP),

über die A. femoralis rechts ein Katheter-Tip-Manometer (5 F, PC 350, Houston, Texas USA) in die Aorta descendens zur Messung des mittleren und diastolischen Aortendruckes (MAP, AOPd) sowie ein Pigtail-Katheter (Cordis, Roden, Niederlande) zur Gewinnung von arteriellen Referenzproben für die Mikrosphären-Technik, sowie

über die A. femoralis links eine 8,5 F Schleuse (Arrow, Reading, PA, USA) für Blutabnahmen und zur Blutvolumenbestimmung.

Die korrekte Lage der Katheter wurde anhand typischer Druckkurven und mittels Durchleuchtung verifiziert. Nach anschließender Thorakotomie und Eröffnung des

Perikards erfolgte die Herzpräparation: Zur Messung des koronaren Blutflusses wurde eine Ultraschall-Sonde (Ø 2 mm, Transonic, Ithaca, NY, USA) um den Ramus interventricularis anterior (LAD) plaziert, zur Messung des Herzzeitvolumens (HZV) eine weitere Sonde (Ø 14 mm, Transonic, Ithaca, NY, USA) um die Wurzel der Aorta ascendens. Danach wurde über das linke Herzohr ein Katheter (14 G, Arrow, Reading, PA, USA) in den linken Vorhof zur Injektion von Mikrosphären eingeführt. Die Implantation zweier Mikrosonometrie-Kristalle in die Vorderwand des linken Ventrikels ermöglichte die Analyse der regionalen myokardialen Wandbewegung. Nach einer ca. 15 cm langen, medianen Laparatomie wurde in die V. portae ein Katheter (14 G, Arrow, Reading, PA, USA) zur Gewinnung von Blutproben sowie eine weitere Ultraschall-Sonde (Transonic, Ithaca, NY, USA) an diesem Gefäß zur Blutflussmessung angebracht. Die Kontrolle des Harnzeitvolumens erfolgte mit Hilfe eines chirurgisch implantierten Blasendauerkatheters. Zuletzt wurden die Oberflächen des M. rectus abdominis und der Leber für die direkte Messung der Gewebeoxygenierung freigelegt und vor dem Austrocknen mit Hilfe einer wasserundurchlässigen Folie geschützt.

2.5 Versuchsablauf

Nach abgeschlossener chirurgischer Präparation und einer Stabilisierungsphase von 15-30 Minuten erfolgte eine Ausgangsmessung. Im Anschluß wurden alle Tiere in eine der beiden Untersuchungs-Gruppen randomisiert und eine mehrstufige normovolämische Hämodilution auf Ziel-Hämatokritwerte von 15%, 8%, 4%, 2% und 1% unter ständiger EKG-Kontrolle durchgeführt (Abb. 2.1). Die Ermittlung des für den jeweiligen Ziel-Hämatokrit notwendigen Austauschvolumens erfolgte mittels einer in Vorversuchen erfolgreich erprobten Hämodilutionsformel nach BOURKE und SMITH ¹⁵:

$$V_L = BV \cdot \ln (Hkt_0 / Hkt_t)$$

V_L : Austauschvolumen; BV : Blutvolumen; Hkt_0 : Ausgangs-Hämatokrit;
 Hkt_t : Ziel-Hämatokrit

Nach Austausch des errechneten Volumens wurde der mutmaßliche Ziel-Hämatokrit anhand einer arteriellen Kontroll-Blutprobe überprüft und bei Bedarf weitere 50-100 ml ausgetauscht. Der Blutaustausch erfolgte in Schritten von wenigen Millilitern durch Blutentzug aus der A. femoralis und gleichzeitige volumenäquivalente Infusion des Austauschmittels in den rechten Vorhof.

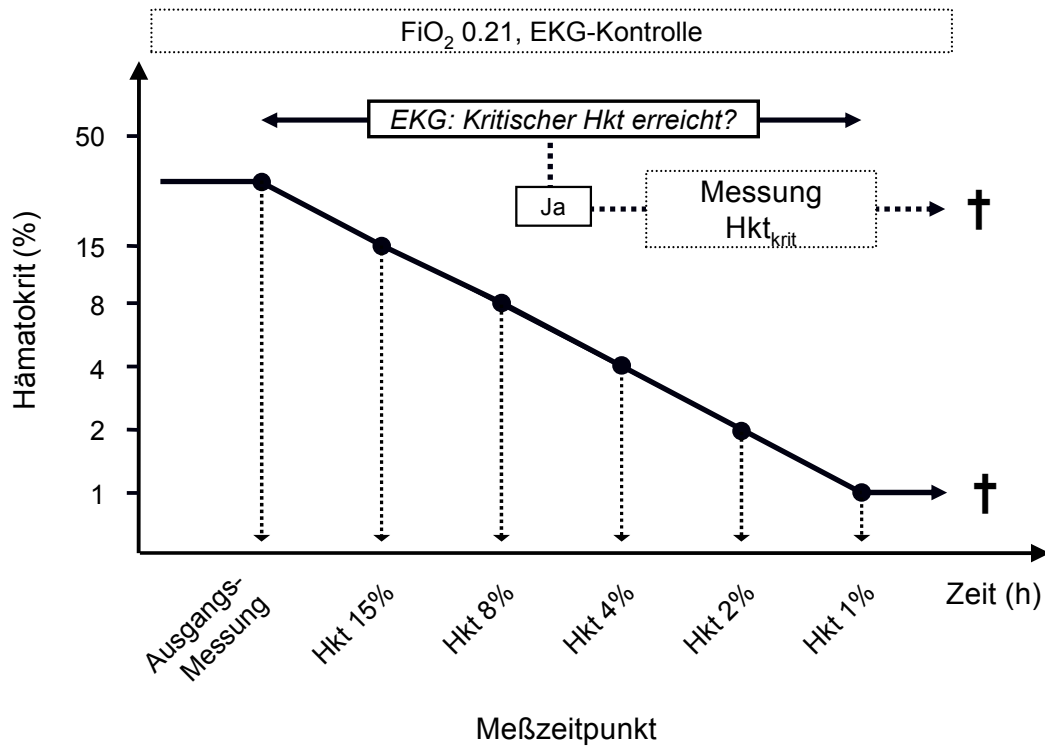


Abb. 2.1: Übersicht über das Versuchsprotokoll mit Angabe der Meßzeitpunkte.

Zu Beginn der Hämodilution (Ausgangsmessung) und nach jedem Hämodilutionsschritt (Meßzeitpunkte Hkt 15% bis Hkt 1%) erfolgte die Aufzeichnung der Meßparameter. Überlebende Tiere wurden nach Abschluß der letzten Messung getötet (†). Bei Erreichen des kritischen Hämatokrits wurde die Hämodilution beendet und eine letzte Messung durchgeführt (Meßzeitpunkt Hkt_{krit}).

Jedem Hämodilutions-Schritt folgte eine Messung (Abb. 2.1). Bei Erreichen des individuellen kritischen Hämatokrits traten vor dem Ende des Protokolls signifikante, für eine Myokardischämie typische EKG-Veränderungen auf, und die Hämodilution wurde beendet. Es folgte eine letzte Messung am kritischen Hämatokrit (Meßzeitpunkt Hkt_{krit}). Nach Beendigung des Protokolls – entweder durch Erreichen des kritischen Hämatokrits oder nach der letzten Messung bei Hämatokrit 1% – wurden die Tiere mit einer hochdosierten intrakardialen Kalium-Chlorid-Gabe getötet. Für die spätere Auswertung des regionalen Organblutflusses wurde das Herz entfernt und in Formalin konserviert.

2.6 Kritischer Hämatokrit

Während des gesamten Versuchsablaufes erfolgte eine kontinuierliche EKG-Registrierung und -Dokumentation mit Analyse der Ableitungen II und V₅ unter Zuhilfenahme einer Sirecust 1281 Monitor- und Druckereinheit (Sirecust und Siredoc, Siemens, München, Deutschland). Das Erreichen des individuellen Hkt_{krit} war durch ischämietypische EKG-Veränderungen definiert. Dies waren zum einen das Auftreten von Herzrhythmusstörungen in Form von ventrikulären oder supraventrikulären Extrasystolen oder ventrikulären Tachykardien, zum anderen Veränderungen der ST-Strecke > 0,1 mV im Vergleich zur isoelektrischen Strecke in der kontinuierlichen ST-Segmentanalyse. Die zuletzt genannten ST-Segmentveränderungen sind mit einer Sensitivität von 80% mit einer Myokardischämie verbunden ⁹⁶.

2.7 Messparameter und -methoden

Zu jedem Meßzeitpunkt wurden die folgenden Daten aufgezeichnet:

- Dokumentation des EKG (Rhythmus-Streifen)
- Messung des aktuellen Blutvolumens
- Simultane Abnahme von arteriellem, gemischt-venösem und portal-venösem Blut
- Aufnahme der Hämodynamik- und Beatmungsparameter
- Bestimmung des regionalen myokardialen Organblutflusses
- Messung der regionalen myokardialen Kontraktilität
- Messung des Gewebe-Sauerstoffpartialdruckes auf Leber und Skelettmuskel
- Messung des gastral-mukosalen pH-Wertes

Die Aufnahme sämtlicher Daten dauerte etwa 20 Minuten pro Meßzeitpunkt.

2.7.1 Blutvolumen

Das Blutvolumen ermittelten wir mit der Indikator-Verdünnungsmethode unter Zuhilfenahme des Farbstoffes Indocyanin-Grün (ICG, Cardio Green, Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA) ¹⁶. Die Methode erlaubt die Bestimmung des Blutvolumens innerhalb von wenigen Minuten mit sehr gut reproduzierbaren Ergebnissen ⁶⁴. ICG ist ein streng intravasaler Indikator, da es sehr schnell an α 1-Lipoproteine gebunden wird. Nach dem Prinzip der Massenerhaltung kann das intravasale Blutvolumen mit Hilfe einer bekannten Indikatormenge und der resultierenden Indikatorkonzentration bestimmt werden:

$$BV = m_0 / c_0$$

BV: Blutvolumen; m_0 : Injizierte Indikator-Menge;
 c_0 : Konzentration des Indikators im Blut

ICG hat eine kurze Halbwertszeit von 6 Minuten, da es bei der Leberpassage zu 70-80% aus dem Blut aufgenommen wird. Ein Teil des injizierten Farbstoffes wird so bis zum

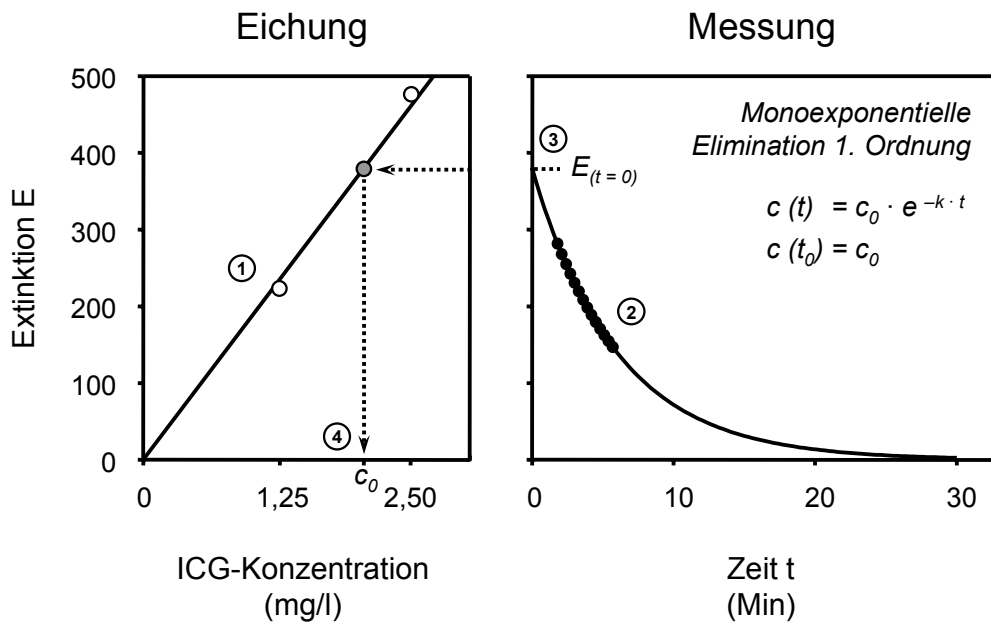


Abb. 2.2: Bestimmung der ICG-Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion (c_0).

Für die Umrechnung von Extinktion und ICG-Konzentration wird zunächst eine Eichgerade erstellt (Pos. 1). Anschließend erfolgt die Injektion und Messung des Indikators über einen Zeitraum von sechs Minuten (Pos. 2). Mit Hilfe des monoexponentiellen Eliminationsmodells kann die Extinktion zum Zeitpunkt der Injektion ($E_{(t=0)}$) extrapoliert (Pos. 3) und mit der anfangs erstellten Eichgeraden in die ICG-Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion umgerechnet werden (Pos. 4).

[ICG: Indocyanin-Grün; E: Extinktion; c: Indikator-Konzentration; t: Zeit; c_0 : Indikator-Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion; t_0 : Zeitpunkt der Injektion; k: Eliminationskonstante]

Zeitpunkt einer ausreichenden Durchmischung im Blut bereits eliminiert. Deshalb kann die Indikator-Konzentration c_0 nicht direkt nach Injektion bestimmt werden, sondern muß – wie in Abb. 2.2 detailliert dargestellt – auf Grundlage eines monoexponentiellen Eliminationsmodells der 1. Ordnung auf den Zeitpunkt der Injektion zurückextrapoliert werden: Die Bestimmung der Indikator-Konzentration im Blut erfolgte

spektralphotometrisch bei 805 nm, dem Absorptions-Maximum von ICG. Um die resultierenden Extinktionswerte in ICG-Konzentrationen umzurechnen, wurde vor der Durchführung der Blutvolumenmessung eine Eichgerade erstellt; dazu wurden die Extinktionen von drei Vollblut-Eichproben mit bekannten ICG-Konzentrationen (0 mg/l, 1,25 mg/l und 2,50 mg/l ICG) gemessen.

Nach Injektion von 0,25 mg/kg KG ICG über den zentral-venösen Katheter in die V. cava superior und Abwarten einer zweiminütigen Verteilungsphase wurden Extinktionswerte über einen Zeitraum von 6 Minuten in Abständen von 30 Sekunden bestimmt. Die Blutproben wurden stromabwärts aus der linken A. femoralis direkt in eine durchsichtige Durchflussküvette geleitet, die ICG-Konzentration spektralphotometrisch gemessen und das Blut anschließend wieder reinjiziert. Unter Zuhilfenahme des oben angeführten Eliminationsmodells und der 12 ermittelten Extinktionswerte konnte daraufhin der theoretisch zum Injektions-Zeitpunkt gemessene Extinktionswert extrapoliert werden. Dieser Extinktionswert wurde dann unter Zuhilfenahme der aus den Extinktionen der Eichproben erstellten Kalibrationsgerade in die ICG-Konzentration zum Injektionszeitpunkt (c_0) konvertiert und das Blutvolumen errechnet. Das Blutvolumen wurde abschließend auf das Körpergewicht normalisiert:

$$BVI = BV / KG \cdot 1000$$

BVI: Blutvolumenindex; BV: Blutvolumen; KG: Körpergewicht;
1000: Konstante zur Anpassung der Einheiten

2.7.2 Analyse von arteriellen, gemischt-venösen und portal-venösen Blutproben

Zur Bestimmung des Hämatokritwertes wurde arterielles Blut zentrifugiert und der kapilläre Hämatokrit bestimmt (Mittelwert aus vierfacher Messung). Für Blutgasanalysen, Blutchemie und Oxymetrie wurden simultan arterielle (A. femoralis), gemischt-venöse (A. pulmonalis) und portal-venöse (V. portae) Blutproben entnommen, auf Eis gekühlt und sofort analysiert. Folgende Parameter wurden mit einem Blutgassystem 860 (Chiron Diagnostics, Fernwald, Deutschland) gemessen: Die Elektrolyte Kalium und Natrium, die Blutgasparameter pH, Sauerstoffpartialdruck (pO_2), Kohlendioxidpartialdruck (pCO_2) und Bikarbonat-Konzentration sowie Pufferbasen-Überschuß und Serum-Laktatkonzentration als Parameter der globalen Gewebeoxygenierung.

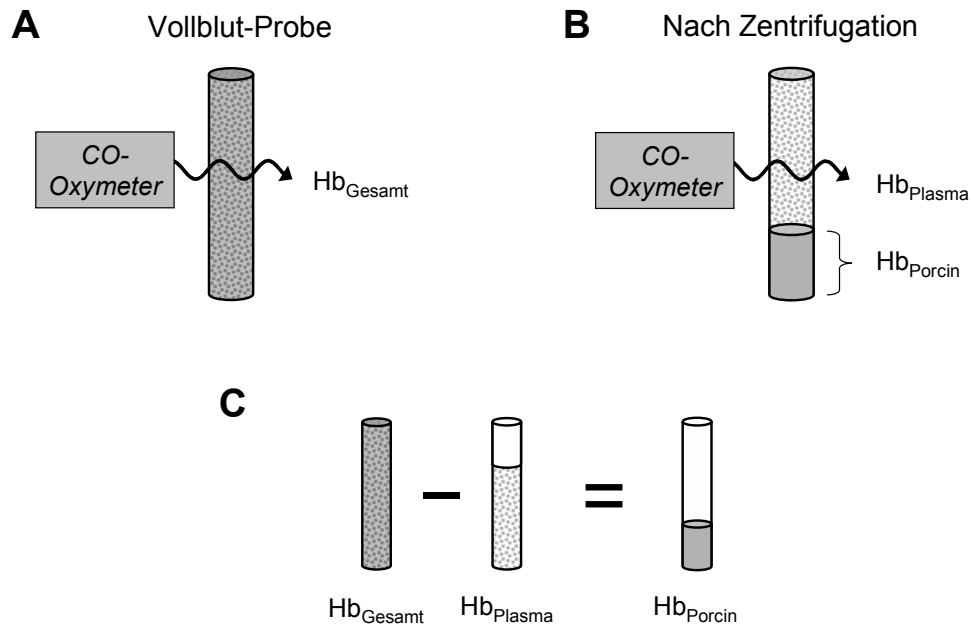


Abb. 2.3: Selektive Bestimmung von porcinem (Hb_{Porcin}), plasmatischem DCLHb (Hb_{Plasma}) und Gesamt-Hämoglobin (Hb_{Gesamt}) in der DCLHb-Gruppe.

Die Gesamt-Hämoglobinkonzentration einer Vollblutprobe wurde mit einem Absorptionsspektrometer gemessen (A); nachträglich erfolgte die erneute absorptionsspektrometrische Messung des plasmatisch gelösten Hämoglobins (B) und Berechnung von Hb_{Porcin} (C).

Die Gesamt-Hämoglobinkonzentration (Hb_{Gesamt}) wurde mit einem für Schweineblut kalibrierten Absorptionsspektrometer (682 CO-Oxymeter, Instrumentation Laboratory, Lexington, MA, USA) aus Vollblutproben bestimmt (Abb. 2.3 A). Das Meßprinzip beruht auf dem unterschiedlichen Absorptionsverhalten der Hämoglobinderivate bei sechs Wellenlängen zwischen 530 und 670 nm. Mit diesen Wellenlängen werden die Absorptions-Maxima der Hämoglobinderivate ($cHHb$, cO_2Hb , $cCOHb$ und $cMetHb$; siehe Formel) erfaßt. Die Hämoglobin-Sauerstoffsättigung ($SO_{2Porcin}$) und der Methämoglobin-Anteil ($\%MetHb$) werden wie folgt daraus berechnet:

$$SO_{2Porcin} = cO_2Hb / (cHHb + cO_2Hb + cCOHb + cMetHb)$$

$$\%MetHb = cMetHb / (cHHb + cO_2Hb + cCOHb + cMetHb) \cdot 100$$

$cHHb$: Deoxyhämoglobin-Konzentration; $cCOHb$: Carboxyhämoglobin-Konzentration; cO_2Hb : Oxyhämoglobin-Konzentration; $cMetHb$: Methämoglobin-Konzentration

In der DCLHb-Gruppe mußten DCLHb-Konzentration (DCLHb), Met-DCLHb-Konzentration (Met-DCLHb) und DCLHb-Sauerstoffsättigung ($SO_{2\text{DCLHb}}$) nachträglich ermittelt werden.

Die DCLHb-Sauerstoffsättigung ($SO_{2\text{DCLHb}}$) wurde - in Abhängigkeit vom jeweiligen Sauerstoffpartialdruck - anhand eines Polynoms errechnet, das die im Vergleich zu Vollblut verringerte Sauerstoffaffinität von DCLHb berücksichtigte (Rechtsverschiebung der Sauerstoff-Sättigungskurve, vgl. Abb. 1.3).

Die Gesamt-Hämoglobinkonzentration beinhaltet bei den DCLHb-Tieren neben dem nativen Schweinehämoglobin (Hb_{Porcin}) zusätzlich plasmatisch gelöstes humanes DCLHb (Hb_{Plasma}). Zur Bestimmung von Hb_{Plasma} wurden die Blutproben der DCLHb-Gruppe zentrifugiert, das Blutplasma dekantiert und nachträglich mit dem eigens für humanes Blut kalibrierten Absorptions-Spektrometer zweifach gemessen (Abb. 2.3 B). Der Anteil an nativem Schweinehämoglobin konnte anschließend errechnet werden (vgl. Abb. 2.3 C):

$$Hb_{\text{Porcin}} = Hb_{\text{Gesamt}} - Hb_{\text{Plasma}}$$

Hb_{Porcin} : Native porcine Hämoglobinkonzentration; Hb_{Gesamt} : Gesamt-Hämoglobinkonzentration; Hb_{Plasma} : Plasmatisch gelöste Hämoglobinkonzentration;

DCLHb enthält einen höheren Methämoglobin-Anteil als Vollblut. Um dies bei der Ermittlung der durch DCLHb bereitgestellten Sauerstofftransportkapazität zu berücksichtigen, wurde Hb_{Plasma} zu allen Meßzeitpunkten um den durch DCLHb eingebrachten Methämoglobin-Anteil (Met-DCLHb) korrigiert. Bei der Berechnung von Met-DCLHb wurde das schon in der Ausgangsmessung vorhandene native Methämoglobin ($\text{MetHb}_{\text{Porcin}}$) von der Gesamt-Methämoglobinkonzentration subtrahiert:

$$\text{DCLHb} = Hb_{\text{Plasma}} - \text{Met-DCLHb}$$

$$\text{Met-DCLHb} = \text{MetHb}_{\text{Gesamt}} - \text{MetHb}_{\text{Porcin}}$$

$$\text{MetHb}_{\text{Gesamt}} = Hb_{\text{Gesamt}} \cdot \% \text{MetHb} / 100$$

DCLHb: Um Met-DCLHb korrigierte DCLHb-Konzentration; Hb_{Plasma} : Plasmatisch gelöste Hämoglobinkonzentration; Met-DCLHb: Methämoglobinkonzentration von DCLHb; $\text{MetHb}_{\text{Gesamt}}$: Gesamt-Methämoglobinkonzentration; $\text{MetHb}_{\text{Porcin}}$: Met-Hb-Gesamtkonzentration bei der Ausgangsmessung; Hb_{Gesamt} : Gesamt-Hämoglobinkonzentration; $\% \text{MetHb}$: Methämoglobin-Anteil an Hb_{Gesamt}

2.7.3 Hämodynamik

Gemessene Größen

Die Herzfrequenz (HF) wurde durch automatische Zählung der elektrokardiographisch aufgezeichneten R-Zacken bestimmt. Die Aufzeichnung von aortalen und linksventrikulären Blutdruckkurven erfolgte mit elektronischen Katheter-Tip-Manometern, an deren Spitze eine Druckwandlermembran als Teil einer Wheatstone-Messbrücke angebracht ist. Bei druckbedingter Verbiegung ändert der Druckwandler seinen Widerstand proportional; die in der Messbrücke anliegende Spannung ist damit eine direkte Funktion des intravasalen Blutdruckes. Die Katheter-Tip-Manometer wurden im Wasserbad bei +37° C erwärmt und kurz vor Positionierung in der Aorta abdominalis beziehungsweise dem linken Ventrikel geeicht. Aus den gemessenen Blutdruckkurven wurden mittlerer (MAP) und diastolischer arterieller Blutdruck (AOPd) sowie mittlerer (LVP) und end-diastolischer linksventrikulärer Blutdruck bestimmt (LVEDP). Der pulmonal-arterielle Blutdruck (PAP) wurde über einen flüssigkeitsgefüllten Katheter mit einem Statham-P23Db Druckwandler (Vigo-Spectramed, Oxnard, Kalifornien, USA) auf der Höhe des rechten Vorhofs gemessen.

Kontinuierliche Blutflußmessungen wurden mit Ultraschall-Transit-Time-Meßköpfen durchgeführt (Transonic Inc, Ithaca, NY, USA). Die mit dieser Methode gemessenen Blutflußwerte zeichnen sich durch eine sehr hohe Korrelation mit dem tatsächlichen Blutfluss aus¹⁰. Der an dem Gefäß angebrachte Meßkopf enthält je einen Sende- und Empfangswandler. Die ausgesendete Ultraschallwelle wird auf der Rückseite des Blutgefäßes reflektiert und vom Schallkopf empfangen. Eine Auswerteeinheit berechnet anschließend die Blutflußgeschwindigkeit anhand von zurückgelegter Signalstrecke und dafür benötigter Zeit. Mit diesem Verfahren wurden das Herzzeitvolumen (HZVI) in der proximalen Aorta ascendens und mit einem kleineren Meßkopf der koronare Blutfluß im Ramus interventricularis anterior ermittelt (LADI). Zur Beurteilung der Versorgungsqualität des gastrointestinalen Stromgebietes („Splanchnikusgebiet“) wurde zudem der Blutfluß in der V. portae (PVI) gemessen.

Die Blutdruck- und Blutflußwerte wurden alle 4 ms gemessen, digitalisiert (A/D ME-26, Meilhaus Electronic, Puchheim) und mit einer computer-gestützten Meßwert-Verarbeitungssoftware (DasyLab, Datalog Systeme GmbH, Mönchengladbach, Deutschland) aufgezeichnet. Für jeden Meßzeitpunkt wurden die Werte über 15 Sekunden gemittelt.

Abgeleitete Größen

Die Körperoberfläche der Tiere wurde aus dem Körpergewicht wie folgt berechnet ⁷⁴:

$$\text{Körperoberfläche} = 9,0 \cdot \text{Körpergewicht}^{2/3}$$

9,0: Konstante zur Anpassung der Formel an die Spezies Schwein

Bis auf den Blutvolumenindex beziehen sich alle im Text als Indizes (Suffix ,I') angegebenen Größen auf die Körperoberfläche.

Als Parameter von Herzarbeit und -Perfusion wurden Schlagvolumen-Index (SVI) und koronarer Perfusionsdruck (CPP) berechnet:

$$\text{SVI} = \text{HZVI} / \text{HF}$$

$$\text{CPP} = \text{AOPd} - \text{LVEDP}$$

Der systemische (SVRI) und pulmonale Gefäßwiderstandsindex (PVRI) wurde mit Hilfe von mittlerem arteriellen bzw. mittlerem pulmonal-arteriellen Blutdruck, zentralvenösem Blutdruck , linksventrikulärem end-diastolischen Füllungsdruck und dem Herzzeitvolumen berechnet:

$$\text{SVRI} = (\text{MAP} - \text{ZVD}) / \text{HZVI} \cdot 79,9$$

$$\text{PVRI} = (\text{PAP} - \text{LVEDP}) / \text{HZVI} \cdot 79,9$$

79,9: Konstante zur Anpassung der verschiedenen Einheiten

2.7.4 Systemischer und gastro-intestinaler Sauerstofftransport

Zur Berechnung des Sauerstoffgehaltes im Blut werden die Hämoglobinkonzentration, die Sauerstoffsättigung und der Sauerstoffpartialdruck benötigt.

Der an Hämoglobin gebundene Sauerstoff berechnet sich als Produkt von Sauerstoffsättigung, Hämoglobingehalt und dem Sauerstoff-Bindungskoeffizienten (1,34 ml O₂/g Hb; Hüfner'sche Zahl). In der vorliegenden Arbeit wurde die Hüfner'sche Zahl verwendet, da der theoretische, unter Verwendung der Molekularmasse des Hämoglobins berechnete Sauerstoff-Bindungskoeffizient von 1,39 ml O₂/g Hb nicht berücksichtigt, daß ein Teil des an Häm gebundenen Eisens in Form von

Hämochromogen vorliegt und dadurch die Sauerstofftransportkapazität des Tetramers verringert ist.

Nur ein sehr geringer Sauerstoff-Anteil ist unter physiologischen Bedingungen physikalisch gelöst; dieser ergibt sich aus dem Produkt von Sauerstoffpartialdruck und dem Sauerstoff-Löslichkeitskoeffizienten im Plasma (0,0031 ml O₂/dl Blut bei +37° C).

Der Sauerstoffgehalt von arteriellem (CaO₂), gemischt-venösem (CvO₂) und portal-venösem (CpO₂) Blut wurde demnach wie folgt berechnet:

$$\text{CaO}_2 = (\text{Hb}_{\text{Porcin}} \cdot 1,34 \cdot \text{SaO}_{2 \text{ Porcin}}) + (\text{DCLHb} \cdot 1,34 \cdot \text{SaO}_{2 \text{ DCLHb}}) + (\text{PaO}_2 \cdot 0,0031)$$

$$\text{CvO}_2 = (\text{Hb}_{\text{Porcin}} \cdot 1,34 \cdot \text{SvO}_{2 \text{ Porcin}}) + (\text{DCLHb} \cdot 1,34 \cdot \text{SvO}_{2 \text{ DCLHb}}) + (\text{PvO}_2 \cdot 0,0031)$$

$$\text{CpO}_2 = (\text{Hb}_{\text{Porcin}} \cdot 1,34 \cdot \text{SpO}_{2 \text{ Porcin}}) + (\text{DCLHb} \cdot 1,34 \cdot \text{SpO}_{2 \text{ DCLHb}}) + (\text{PpO}_2 \cdot 0,0031)$$

Globales Sauerstoffangebot (DO₂I) und globale Sauerstoffextraktion (O₂ ER) wurden anschließend ermittelt:

$$\text{DO}_2\text{I} = \text{HZVI} \cdot \text{CaO}_2$$

$$\text{O}_2 \text{ ER} = (\text{CaO}_2 - \text{CvO}_2) / \text{CaO}_2 \cdot 100$$

Der globale Sauerstoffverbrauch (VO₂I) wurde durch Analyse der Atemgase mit einem Kalorimeter (Deltatrac II, MBM-200, Datex/Ohmeda, Helsinki, Finland) direkt gemessen. Das Meßprinzip beruht auf den paramagnetischen Eigenschaften von Sauerstoff: Wird das expiratorische Atemgas durch ein Magnetfeld geleitet, ändert sich sein Volumen. Durch Anlegen eines pulsierenden Magnetfeldes entsteht eine Druckwelle, deren Amplitude dem aktuellen Sauerstoffpartialdruck des Meßgases proportional ist, aus dem das Kalorimeter den Sauerstoffanteil des Atemgases berechnet.

Die Sauerstoffaufnahme im Splanchnikusgebiet (S-VO₂I) wurde nach dem Fick'schen Prinzip aus portal-venösem Blutfluß und arterio-portalvenöser Sauerstoffkonzentrationsdifferenz berechnet:

$$\text{S-VO}_2\text{I} = \text{PVI} \cdot (\text{CaO}_2 - \text{CpO}_2)$$

2.7.5 Regionaler myokardialer Blutfluß

Der regionale myokardiale Blutfluß wurde mit Hilfe von fluoreszierenden Mikrosphären (MS) gemessen. Nach Injektion in den Kreislauf verteilen sich die Mikrosphären mit dem Blutfluß in den Organen. In den Gefäßen der Endstrombahn embolisieren sie aufgrund ihrer schlechten Verformbarkeit und des im Verhältnis zu Erythrozyten doppelt so großen Durchmessers. Da nur ein vernachlässigbar geringer Anteil der Mikrosphären die Endstrombahn des Organs passieren kann, korreliert der Mikrosphären-Gehalt einer Gewebeprobe direkt mit dem Gewebe-Blutfluß. Der Mikrosphären-Gehalt einer Gewebeprobe wird bei Anwendung von fluoreszierenden Mikrosphären spektrophotometrisch bestimmt. Sind Mikrosphären-Gehalt und Blutfluß einer Referenzprobe bekannt, kann der gesuchte Blutfluß einer Gewebeprobe durch Bestimmung des Mikrosphären-Gehaltes dieser Probe nach der folgenden Formel berechnet werden:

$$Q_{\text{rm}} / F_{\text{rm}} = Q_{\text{ref}} / F_{\text{ref}}$$

Q_{rm} : Blutfluß der Gewebeprobe; F_{rm} : Fluoreszenzintensität der Gewebeprobe;
 Q_{ref} : Blutfluß der Referenzprobe; F_{ref} : Fluoreszenzintensität der Referenzprobe.

In unseren Versuchen wurden zu jedem Meßzeitpunkt $4-6 \cdot 10^6$ fluoreszenz-markierte Latex-Mikrosphären ($\varnothing 15 \mu\text{m}$, Molecular Probes, Leiden, Niederlande) über den linken Vorhof in die Blutbahn injiziert. Die Mikrosphären waren zuvor mit einem Schüttelmixer (Lenco Instruments B. V., Breda, Niederlande) in 5 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert worden. Um eine Unterscheidung der Blutflüsse zu den Meßzeitpunkten zu ermöglichen, wurden bei jeder Meßung Mikrosphären von unterschiedlich fluoreszierender Farbe verwendet. Simultan zur Mikrosphären-Injektion wurden arterielle Referenz-Blutproben mit einem konstanten Blutfluß von 3,24 ml/min aus der Aorta gewonnen (Präzisions-Pumpe Modell 640A, Harvard Apparatus, South Natick, MA, USA).

Das Herz der Tiere wurde nach Versuchsende entfernt und zur Aufbereitung für mindestens 72 Stunden in 10% Formaldehyd konserviert. Zur weiteren Verarbeitung wurden Vorhöfe und rechter Ventrikel abgetrennt. Der verbliebene linke Ventrikel inklusive Septum wurde von umgebendem Fett- und Bindegewebe befreit und nach einem festgelegten Schema disseziert: Der linke Ventrikel wurde von kranial nach kaudal in vier horizontale Scheiben geschnitten; die vier Scheiben wurden in jeweils acht

gleich große Kreissegmente zerteilt. Jedes Kreissegment wurde von innen nach außen in einen inneren, einen mittleren und einen äußeren Anteil zerlegt. Pro Versuch entstanden durch diese Präparation 96 Einzelproben des linken Ventrikels.

Aufbereitung und Fluoreszenz-Messung von Myokard- und Referenzproben erfolgten mit einem robotergesteuerten Verfahren¹⁵³, das am Institut für Chirurgische Forschung entwickelt und tierexperimentell durch Vergleich mit radioaktiven Mikrosphären validiert worden ist¹⁵²: Ein Roboterarm (Zymate XP, Zymark Laboratory Robot, Idstein, Deutschland) bewegt hierbei computergesteuert die Proben, die nach einem festgelegten Programm gewogen, in organischem Lösungsmittel (KOH) über 6 Stunden zersetzt und mehrfach gereinigt werden. Die Fluoreszenzintensität aller von den Mikrosphären eingebrachten Farbstoffe wird abschließend mit einem Luminiszenz-Spektrometer (LS50B, Perkin Elmer, Überlingen, Deutschland) gemessen¹²³.

Der Blutfluß wurde für jeden Meßzeitpunkt in allen 96 myokardialen Gewebeproben bestimmt und auf das Probengewicht bezogen. Da das Probengewicht während des automatisierten Wägeprozesses abnimmt und dadurch falsch niedrig bestimmt wird, wurde das Probengewicht mit einem Korrekturfaktor versehen; der Korrekturfaktor wurde anhand eines exponentiellen Modells ermittelt, das bei einer nachträglich durchgeführten Untersuchung myokardialer Gewebeproben erstellt und validiert worden war. Die bei der Ausgangsmessung ermittelten Blutflußwerte entsprachen nach der Korrektur den in der Literatur beschriebenen Standardwerten.

Die Beurteilung der regionalen myokardialen Perfusion erfolgte anhand von linksventrikulärem Gesamt-Blutfluß (LV-MBF), endomyokardialem (ENDO-MBF) und epimyokardialem Blutfluß (EPI-MBF) sowie der Endo/Epi-Relation (EER).

Der linksventrikuläre Gesamt-Blutfluß wurde für jeden Meßzeitpunkt als Median aller 96 myokardialen Einzel-Blutflußwerte, ENDO-MBF und EPI-MBF analog als Median der jeweils 32 endomyo- bzw. epimyokardialen Einzel-Blutflußwerte ermittelt. Die Endo/Epi-Relation als sensitiver Parameter der myokardialen Perfusion konnte durch die exakte Blutflußbestimmung in den einzelnen Myokardschichten als Verhältnis von endomyo- zu epimyokardialem Blutfluß bestimmt werden:

$$\text{EER} = \text{ENDO-MBF} / \text{EPI-MBF}$$

Das Epimyokard wird normalerweise immer ausreichend perfundiert und kann daher als Maß für den Sauerstoffbedarf des gesamten Myokards dienen. Das Endomyokard dagegen wird zuletzt von dem durch die Koronararterien angelieferten, sauerstoffreichen Blut perfundiert (Prinzip der „letzten Wiese“). Eine konstante EER läßt somit auf eine ausreichende Perfusion des Endomyokards schließen, wogegen ein Mißverhältnis von Sauerstoffangebot und -bedarf (Myokardischämie) durch eine Abnahme dieser Relation gekennzeichnet ist. Die physiologische Endo/Epi-Relation beträgt beim anästhesierten Schwein 1,0-1,2¹⁰¹.

Als Parameter des regionalen Sauerstofftransportes wurden das linksventrikuläre Sauerstoffangebot (LV-DO₂) und der koronare Gefäßwiderstand (CVRI) berechnet¹¹:

$$\text{LV-DO}_2\text{I} = \text{LV-MBF} \cdot \text{CaO}_2$$

$$\text{CVRI} = (\text{AOPd} - \text{ZVD}) / \text{LV-MBF} \cdot 79,9$$

79,9: Konstante zur Anpassung der verschiedenen Einheiten

2.7.6 Linksventrikuläre Myokardfunktion

Systolische Myokardfunktion

Die Analyse der globalen myokardialen Kontraktilität erfolgte anhand der maximalen systolischen Druckanstiegsgeschwindigkeit im linken Ventrikel (dP/dt_{\max}); mit dP/dt_{\max} können Veränderungen der linksventrikulären Kontraktilität sensitiv erfaßt werden. Die Druckänderungsgeschwindigkeit im linken Ventrikel wurde als 1. Ableitung des LVP alle 4 ms berechnet und für jeden Meßzeitpunkt über 15 s gemittelt.

Zusätzlich wurde mit der Mikrosonometrie-Methode die segmentale subendokardiale Segment-Verkürzungsfraction (LV-VF) als Parameter der regionalen myokardialen Kontraktilität bestimmt¹³². Die Methode beruht auf dem Ultraschall-Laufzeitverfahren: Zwei piezo-elektrische Ultraschallsignalwandler senden und empfangen wechselseitig Ultraschallimpulse. Die bei der Übertragung eines Ultraschallimpulses verstrichene Zeit steht in linearem Zusammenhang zu der physikalischen Distanz, sodaß sich bei bekannter Schallgeschwindigkeit die Entfernung zwischen den Ultraschallsignalwandlern berechnen läßt:

$$\text{Entfernung} = \text{Signal-Laufzeit} \cdot v$$

v: Schallgeschwindigkeit im biologischen Gewebe (1540 m/sek)

Während der systolischen Myokardkontraktion verkürzt sich die gemessene Segmentlänge. Die prozentuale Verkürzungsfraction (LV-VF) wird bei bekannter end-systolischer (ESL) und end-diastolischer Segmentlänge (EDL) nach folgender Formel errechnet:

$$\text{LV-VF} = (\text{EDL} - \text{ESL}) / \text{EDL} \cdot 100$$

Für die Messung der linksventrikulären subendokardialen Segmentlänge wurden zwei Ultraschallsignalwandler (\varnothing 1,5 mm, 5 Mhz, Dr. W. Heimisch, Deutsches Herzzentrum, München, Deutschland) senkrecht zur langen Herzachse von Herzbasis bis Herzspitze in die Vorderwand des linken Ventrikels implantiert. Zwischen den Ultraschallsignalwandlern lag eine Distanz von 10–20 mm. Zu jedem Meßzeitpunkt wurde die Segmentlänge alle 4 ms für 15 s aufgezeichnet. Nachträglich wurden end-systolische und end-diastolische Segmentlängen für jeden Meßzeitpunkt end-expiratorisch bestimmt und die prozentuale linksventrikuläre Verkürzungsfraction (LV-VF) nach der oben angegebenen Formel berechnet.

Diastolische Myokardfunktion

Die Beurteilung der globalen diastolischen Myokardfunktion erfolgte anhand der maximalen diastolischen Druckabfallsgeschwindigkeit im linken Ventrikel (dp/dt_{\min}). Die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit wird während des Herzzyklus normalerweise in der isovolumetrischen Relaxationsphase erreicht. Veränderungen von Zeitpunkt und Betrag dieses Parameters lassen Rückschlüsse auf die Steifigkeit des Myokards zu.

Die diastolische Relaxations-Zeitkonstante τ gilt als Mass der aktiven Komponente der diastolischen Myokardfunktion; der Parameter wird aus der Änderung des linksventrikulären Druckes während der isovolumetrischen Relaxationsphase des Herzens bestimmt. Bislang ist keine mathematische Methode bekannt, die nachweislich eine exakte Abbildung der Myokardrelaxation in der Diastole liefert, weshalb τ mit der in der Literatur gebräuchlichen Methode nach Raff und Glanz berechnet wurde, die von

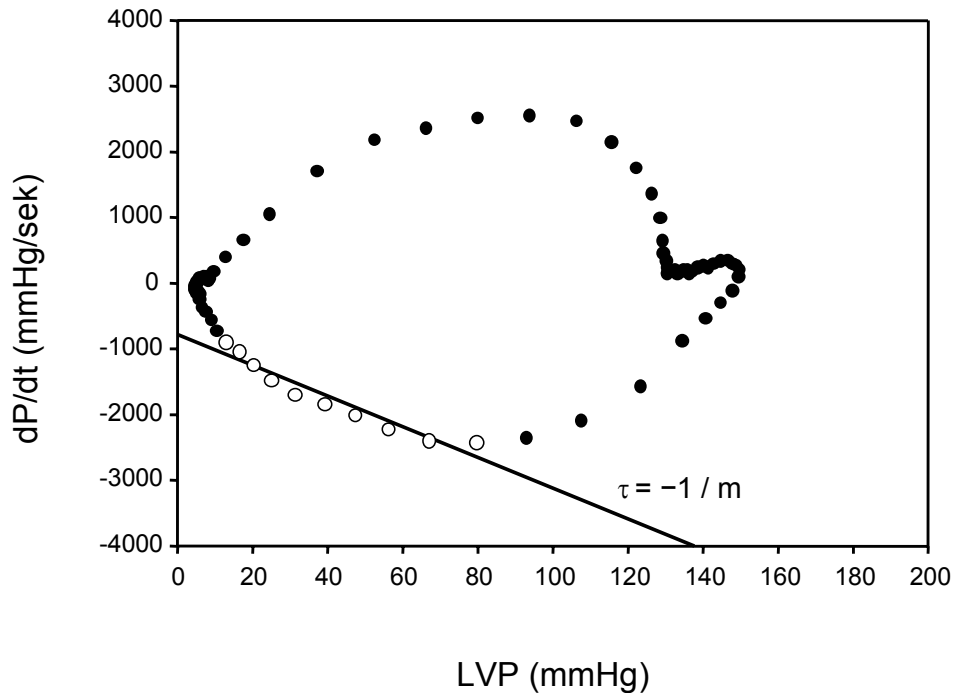


Abb. 2.4: Bestimmung der diastolischen Relaxations-Zeitkonstanten Tau (τ).

Dargestellt ist das Verhältnis zwischen linksventrikulärem Blutdruck (LVP) und der linksventrikulären Druckänderungsgeschwindigkeit (dP/dt) während eines Herzzyklus. Die weiß markierten Datenpunkte umfassen die isovolumetrische Relaxation in der frühen Diastole. Die Relaxations-Zeitkonstante τ wird als negativer Umkehrbruch der Steigung (m) einer linearen Regressionsgeraden durch die markierten Datenpunkte bestimmt.

einem exponentiellen linksventrikulären Druckabfall während der isovolumetrischen Relaxation ausgeht¹²⁴. Die linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt) lässt sich danach in diesem Abschnitt des Herzzyklus als lineare Funktion des LVP nach folgender Formel beschreiben:

$$dP/dt = LVP \cdot (-1/\tau) + (LVP_B/\tau)$$

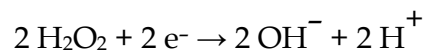
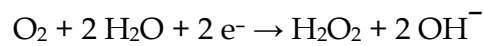
LVP_B: Konstante für alle nicht durch das Myokard selbst verursachten LVP-Veränderungen

Für die Bestimmung von τ trägt man die Werte von dP/dt gegen LVP während des isovolumetrischen Druckabfalls auf und legt eine Regressionsgerade durch die Datenpunkte der isovolumetrischen Relaxationsphase (Abb. 2.4). Mit der Steigung der Regressionsgeraden (m) wird τ wie folgt berechnet:

$$\tau = (-1/m)$$

2.7.7 Gewebe-Sauerstoffpartialdruck von Leber und Skelettmuskel

Die Messung der Sauerstoff-Partialdrücke auf der Oberfläche von Leber und Skelettmuskel erfolgte mit zwei Mehrdraht-Oberflächen-Elektroden (MDO-Elektroden) nach dem polarographischen Prinzip. In einer mit Elektrolytlösung gefüllten Meßkammer befinden sich zwei Edelmetall-Elektroden, die über einen Strommesser und eine Spannungsquelle miteinander verbunden sind (Abb. 2.5). Durch eine Membran diffundieren O₂-Moleküle aus dem Meßmedium in die Elektrolytlösung; bei von außen angelegter Spannung (Polarisationsspannung) wird molekularer Sauerstoff aus der Elektrolytlösung an der Kathode reduziert ⁴⁹:



Der dabei entstehende Reduktionsstrom wird gemessen; er ist der Menge der O₂-Moleküle im Meßmedium bei richtig gewählter Polarisationsspannung direkt proportional. Die Polarisationsspannung muss hoch genug gewählt werden, um den Sauerstoff an der Kathoden-Oberfläche vollständig zu reduzieren. Der in der Folge noch meßbare Reduktionsstrom resultiert aus der Diffusion von Sauerstoff aus dem Meßmedium an die Kathode und ist direkt proportional zum Diffusionsgradienten, dieser ist wiederum abhängig vom Sauerstoffpartialdruck im Meßmedium. Die Polarisationsspannung darf keinesfalls zu hoch gewählt werden, da sonst auch andere Gase wie molekularer Stickstoff reduziert und falsch hohe O₂-Werte gemessen werden.

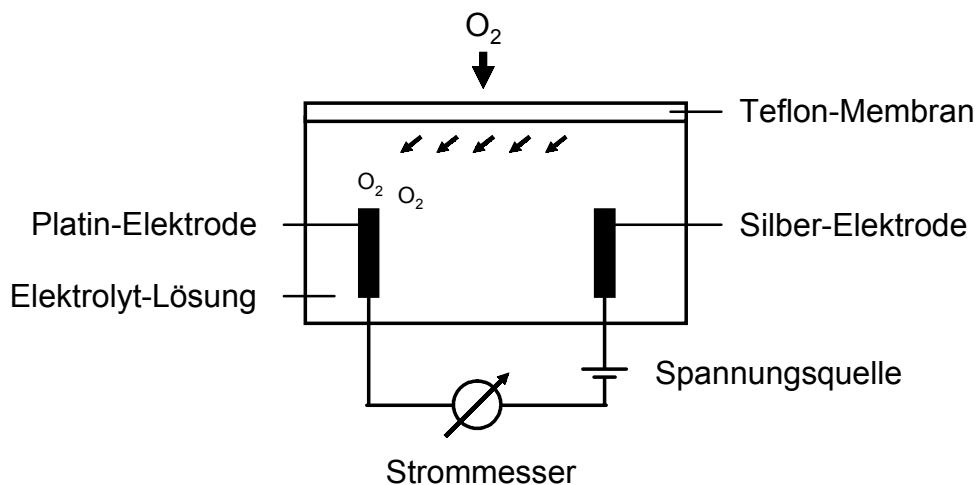


Abb. 2.5: Schematische Darstellung des polarographischen Sauerstoff-Sensors.

Die von uns verwendeten MDO-Elektroden (\varnothing 5 mm, Eschweiler, Kiel, Deutschland) bestehen aus einer elektrolytgefüllten Meßkammer, in der acht Platin-Kathoden (\varnothing 12 μ m) von einer ringförmigen Silber-Anode umschlossen werden^{29;98}. Die Kathoden wurden vor jedem Experiment gereinigt und mit einer 12 μ m dünnen elektrolytgetränkten Cuprophanmembran (12 μ m) bedeckt. Abschließend wurde eine O₂-permeable Teflonmembran (12 μ m) über Kathoden und Ring-Anode gezogen. Als Elektrolyt kam eine 0,3 molare Kaliumchloridlösung zum Einsatz.

Zur Umwandlung der gemessenen Signale in Sauerstoffpartialdruckwerte wurde für jede Platin-Kathode eine Eichgerade erstellt. Warme Kochsalzlösung (+37° C) wurde nacheinander mit drei Gasgemischen (reiner Stickstoff, Stickstoff mit 5% O₂, Stickstoff mit 10% O₂) bis zum Erreichen des Äquilibrium durchströmt; für jedes Gasgemisch wurde der Reduktionsstrom gemessen und dem Sauerstoffpartialdruck der Kochsalzlösung zugeordnet; dieser wurde aus aktuellem Luftdruck, gesättigtem Wasserdampfdruck bei +37° C und Sauerstoff-Anteil der Lösung berechnet. Anschließend wurde für jede der acht Kathoden aus der 3-Punkt-Eichung eine Regressions-Eichgerade ermittelt.

Für die Messung wurden die Elektroden mittels einer speziellen Halterung mit geringem Druck auf Leber und Skelettmuskel gesetzt, um eine Ischämie der im Messfeld befindlichen Endstrombahn durch Kompression zu vermeiden. Durch 15-maliges

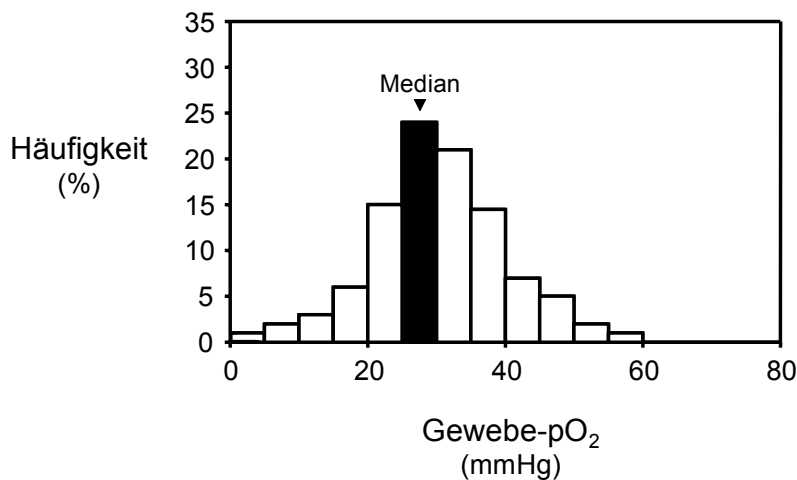


Abb. 2.6: Darstellung von Gewebe-pO₂-Messungen als Summenhistogramm. Jeder Balken markiert eine Klasse, seine Höhe die relative Häufigkeit der Werte. Ein typisches Histogramm ist definiert durch seine Form, seine Lage auf der Abszisse, den Median und den Anteil hypoxischer Werte < 10 mmHg.

Drehen und Versetzen der Elektrode wurden pro Messung auf jedem Organ 120 Meßwerte erfaßt. Die Meßsignale wurden anschließend verstärkt, digitalisiert (pOVI, MIB, Steindorf, Deutschland) und mit einem digitalen Meßsystem aufgezeichnet (DasyLab, Datalog Systeme GmbH, Mönchengladbach, Deutschland).

Die an der Leber- und Skelettmuskeloberfläche gewonnenen 120 Einzelwerte wurden mit der zuvor erstellten Eichgeraden in Gewebe-Sauerstoffpartialdruckwerte (tpO₂-Werte) umgerechnet, in Klassen von 5 mmHg eingeteilt und in Form von Summenhistogrammen dargestellt, die die Häufigkeitsverteilung der gemessenen tpO₂-Werte darstellen (Abb. 2.6). Für jeden Meßzeitpunkt wurde zudem der Median aus allen Einzelwerten berechnet und im Histogramm separat markiert. Die Interpretation der Histogramme erfolgt durch Beurteilung der Form (unter Ruhebedingungen glockenförmig) und Verteilung der Werte. Bei Hypoxie steigen die tpO₂-Werte < 10 mmHg an und das Histogramm verschiebt sich nach links; als Zeichen einer zunehmend heterogenen Gewebeoxygenierung verschwindet die Glockenform und das Histogramm wird breiter und unregelmäßiger.

2.7.8 pH-Wert der Magenmukosa

Mit der Bestimmung des pH-Wertes der Magenmukosa (pHi) wurde die adäquate Oxygenierung der Magenschleimhaut beurteilt⁴⁵. Die besondere Ischämiegefährdung des Splanchnikusgebietes ist in der eingeschränkten Sauerstoffextraktionsfähigkeit begründet: Durch erhöhten arterio-venösen Shuntfluß im Endstromgebiet kann die O₂-Extraktion bei sinkender Perfusionsrate nicht so weit wie im restlichen Organismus gesteigert werden. Der kritische Wert, bei dem die Sauerstoffaufnahme vom Angebot abhängig ist, wird früher als im gesamten Organismus erreicht. Durch vermehrte anaerobe Glykolyse entsteht eine erhöhte intrazelluläre Laktatkonzentration, der pH-Wert im Gewebe fällt ab. Ein Abfall des pHi signalisiert somit eine ungenügende Oxygenierung der Magenmukosa.

Der pHi-Wert wird mit Hilfe einer modifizierten Henderson-Hasselbalch-Gleichung berechnet:

$$\text{pHi} = 6,1 + \log \left(\frac{[\text{HCO}_3^-]}{(\text{pCO}_2 \cdot 0,03 \cdot \text{CF})} \right)$$

CF: Von der Äquilibrierungszeit abhängiger Korrekturfaktor; [HCO₃⁻]: Arterielle Bikarbonat-Konzentration; pCO₂: Intramukosaler Kohlendioxid-Partialdruck

Der intramukosale $p\text{CO}_2$ wurde nach dem tonometrischen Prinzip gemessen: Der Partialdruck von Kohlendioxid in der Füllflüssigkeit des Tonometrie-Katheters äquilibriert sich durch eine semipermeable Membran mit der CO_2 -Gasspannung in der umgebenden Magenmukosa. Zu jedem Meßzeitpunkt wurde der Silikon-Ballon des Tonometrie-Katheters (vgl. 2.3) luftleer mit Kochsalz-Lösung gefüllt und für 30 Minuten mit der Magenmukosa H^+ -äquilibriert. Nach Beendigung der Meßperiode wurde die intraluminale Flüssigkeit entzogen und deren $p\text{CO}_2$ gemessen.

2.8 Statistik

Es wurden zwei Gruppen mit je $n=6$ Tieren untersucht, denen die Versuchstiere nach einem festgelegten Randomisierungsschema am Versuchstag zugeteilt wurden. Die statistischen Auswertungen wurden mit den Softwarepaketen SAS 6.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA), SigmaStat 2.0 (Jandel Scientific, USA) und Excel 95 (Microsoft, Seattle, USA) durchgeführt. Aufgrund der geringen Gruppengröße wurden die Daten als nicht-normalverteilt angenommen und dementsprechend verteilungsfreie statistische Methoden angewendet.

Veränderungen der Meßparameter über die Zeit wurden in beiden Gruppen mit einer Rangvarianzanalyse nach Friedman analysiert; anschließend wurden die Werte der Ausgangsmessung und der letzten erfolgreichen Messung (Meßzeitpunkt Hkt_{krit} in der HSA-Gruppe bzw. Meßzeitpunkt Hkt 1% in der DCLHb-Gruppe) mit einem Wilcoxon-Vorzeichenrangtest auf signifikante Veränderungen verglichen. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der Ausgangsmessung sowie Unterschiede zwischen den Meßzeitpunkten Hkt_{krit} in der HSA-Gruppe und Hkt 1% in der DCLHb-Gruppe wurden mit einem Mann-Whitney-U-Test untersucht, der Fehler erster Art mit 0,05 festgesetzt.

Im Folgenden werden alle Daten als Median und der Differenz von erstem und drittem Quartil (Interquartils-Abstand) angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede in Tabellen und Abbildungen sind wie folgt gekennzeichnet:

- §: Signifikanter Unterschied innerhalb der HSA-Gruppe zwischen Ausgangsmessung und Meßzeitpunkt Hkt 6% ($p<0,05$).
- *: Signifikanter Unterschied innerhalb der DCLHb-Gruppe zwischen Ausgangsmessung und Meßzeitpunkt Hkt 1% ($p<0,05$).
- #: Signifikanter Unterschied zwischen HSA-Gruppe zum Meßzeitpunkt Hkt 6% und DCLHb-Gruppe zum Meßzeitpunkt Hkt 1% ($p<0,05$).

3 Ergebnisse

3.1 Allgemeines

In unserer Studie wurden für die Auswertung von 12 erfolgreichen Versuchen mit HSA (Gruppe HSA; n=6 Tiere) und DCLHb (Gruppe DCLHb; n=6 Tiere) insgesamt 17 Tiere untersucht. Drei Tiere dienten in der Pilotphase zur Etablierung des Protokolls; zwei weitere Tiere wurden nach der Präparationsphase aufgrund zu hoher Blut-Laktatwerte von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen. Das Körpergewicht stimmte in beiden Gruppen überein, es lag in der HSA-Gruppe bei 22 (6) kg und in der DCLHb-Gruppe bei 23 (8) kg. Bei keinem der im Folgenden aufgeführten Parameter zeigten sich in der Ausgangsmessung signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen.

3.2 Schrittweise Hämodilution bis zum kritischen Hämatokrit

Im Verlauf der Hämodilution fiel der Hämatokrit in beiden Gruppen gleichermaßen ab. Die im Protokoll definierten Zielhämatokritwerte wurden mit hoher Genauigkeit und Beständigkeit erreicht (Abb. 3.1). Den Gruppen wurde für jeden gemessenen Zielhämatokrit ein gemeinsamer Meßzeitpunkt zugeordnet. Median und Interquartils-Abstand der Hämatokritwerte waren zu den jeweiligen Meßzeitpunkten in beiden Gruppen gleich.

Tab. 3.1: Überlebensrate und kritischer Hämatokrit.

Gruppe	Überlebende	Nicht-Überlebende	Kritischer Hämatokrit
DCLHb	6	0	–
HSA	0	6	6,1%

Alle Tiere der HSA-Gruppe verstarben bei Hämatokrit 6,1% im Herzversagen. In der DCLHb-Gruppe dagegen überlebten alle 6 Tiere bis zum Ende des Protokolls, ohne den kritischen Hämatokrit zu erreichen (Fisher Exact Test $p < 0,05$).

In der HSA-Gruppe wurde der kritische Hämatokrit (Hkt_{krit}) bei 6,1% (1,7) festgestellt (Tab. 3.1). Ischämietypische EKG-Veränderungen in den Extremitäten- und Brustwandableitungen waren bei allen sechs HSA-Tieren zu beobachten. Es fanden sich bei fünf

Tieren ST-Segmentsenkungen von $> 0,1$ mV oder ST-Hebungen als Hinweise auf eine subendokardiale bzw. transmurale Myokardischämie. Ferner fanden sich bei vier Tieren ventrikuläre Extrasystolen Lown IIIa und bei einem Tier ein intermittierender AV-Knoten-Ersatzrhythmus. Alle Tiere der HSA-Gruppe verstarben innerhalb von 20 Minuten nach der letzten Messung bei Hkt_{krit} . Demgegenüber konnte die Hämodilution unter Verwendung von DCLHb bis Hämatokrit 1,2% (0,1) fortgesetzt werden, ohne daß eines der Tiere verstarb. Keines der sechs Tiere präsentierte in der EKG-Analyse Zeichen einer myokardialen Ischämie. Der im Protokoll definierte kritische Hämatokrit wurde in der DCLHb-Gruppe nicht erreicht.

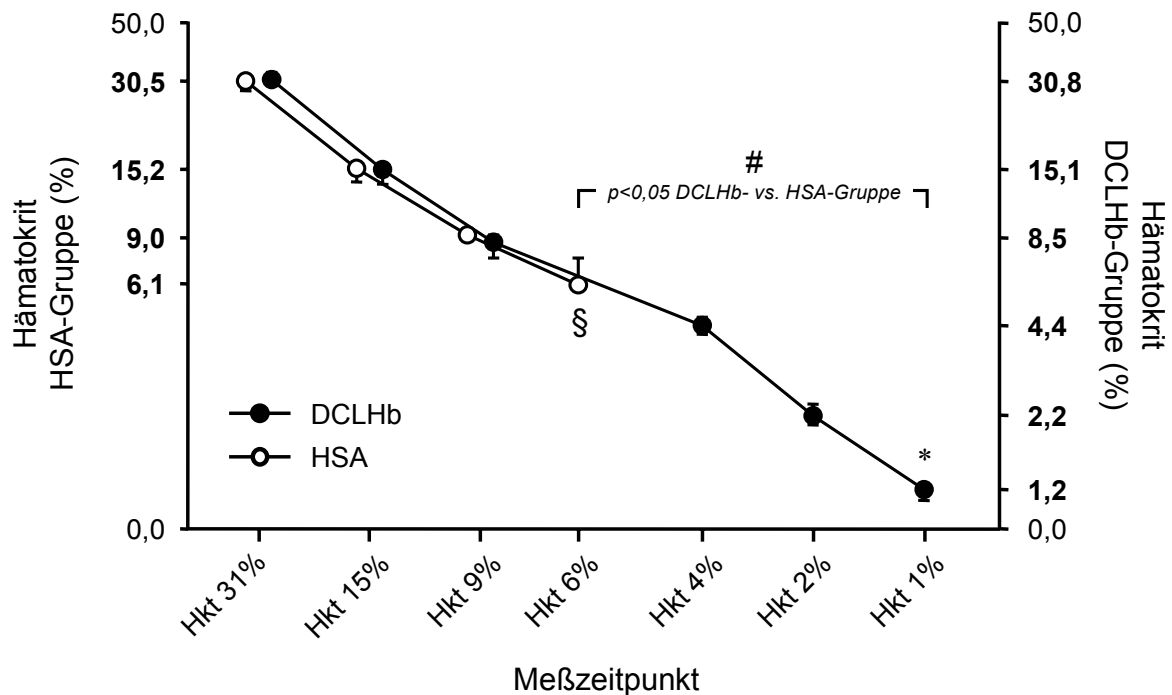


Abb. 3.1: Verlauf des Hämatokrits in der HSA- und DCLHb-Gruppe während des gesamten Versuchsverlaufs und Zuordnung zu den Meßzeitpunkten Hkt 31%, Hkt 15%, Hkt 9%, Hkt 6% (Hkt_{krit} der HSA-Gruppe), Hkt 4%, Hkt 2% und Hkt 1%.

Die Hämatokritwerte beider Gruppen sind zur besseren Übersicht logarithmisch auf der Ordinate aufgetragen. Abgebildet sind jeweils Median, Q1 und Q3; §: $p < 0,05$ innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: $p < 0,05$ innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%)

3.3 Hämodynamik

3.3.1 Ergebnisse der Blutvolumenbestimmung in beiden Gruppen

Der Blutvolumenindex und alle weiteren hämodynamischen Parameter sind in Tab. 3.2 zusammengefaßt.

Weder in der HSA- noch in der DCLHb-Gruppe kam es zu signifikanten Änderungen des Blutvolumens während der Beobachtungszeit. In der DCLHb-Gruppe veränderte sich das Blutvolumen überhaupt nicht, in der HSA-Gruppe war bei allen sechs Tieren nach Hämodilution auf Hämatokrit 15% ein geringer Anstieg des Blutvolumens auf 125% des Ausgangswertes zu beobachten (n.s.), der im weiteren Verlauf bis Hkt_{krit} persistierte. Zu keinem Zeitpunkt waren die Unterschiede zwischen den Gruppen signifikant.

3.3.2 Ergebnisse der HSA-Gruppe

Bei allen HSA-Tieren fand sich nach Hämodilution auf Hämatokrit 9% der ANH-typische Anstieg des Herzzeitvolumens auf maximal 180% des Ausgangswertes (n.s.), der maßgeblich durch das auf maximal 174% gesteigerte Schlagvolumen hervorgerufen wurde ($p < 0,05$). Bei Erreichen von Hkt_{krit} war das Herzzeitvolumen wieder gesunken und im Vergleich zum Ausgangswert nicht verändert. Die Herzfrequenz blieb während des gesamten Versuchsverlaufs auf Höhe des Ausgangswertes.

Ermöglicht wurde das zunächst erhöhte Herzzeitvolumen durch die Verringerung des systemischen Gefäßwiderstandes (SVRI), der während des gesamten Versuchsverlaufs stetig abnahm und am kritischen Hämatokrit auf 41% des Ausgangswerts abgefallen war ($p < 0,05$). Wie Abb. 3.2 zeigt, sank der mittlere aortale Blutdruck äquivalent zu SVRI von 95 (25) mmHg bei der Ausgangsmessung auf 56 (22) mmHg am kritischen Hämatokrit ab ($p < 0,05$).

Die ANH-bedingte Widerstandsreduktion wurde auch im kleinen Kreislauf beobachtet. Am kritischen Hämatokrit war der pulmonal-vaskuläre Widerstand auf ~50% vermindert ($p < 0,05$); der pulmonal-arterielle Mitteldruck dagegen blieb im Gegensatz zum mittleren Aortendruck während des Versuchs unverändert.

Tab. 3.2: Parameter der Hämodynamik in beiden Versuchsgruppen während des gesamten Versuchsverlaufs.

HSA	Hkt 31%	Hkt 15%	Hkt 9%	Hkt 6%		
BVI (ml•kg ⁻¹)	67 (17)	83 (16)	83 (3)	85 (25)		
HZVI (l•min ⁻¹ •m ⁻²)	3,5 (0,7)	5,9 (0,9)	6,3 (0,5)	4,0 (1,9)		
HF (Schläge•min ⁻¹)	153 (23)	163 (23)	165 (23)	170 (44)		
SVI (ml•m ⁻²)	23 (6)	37 (8)	40 (5)	28 (14)	§	
MAP (mmHg)	95 (25)	105 (8)	86 (11)	56 (22)	§	
SVRI (dyn•s•cm ⁻⁵ •m ⁻²)	2100 (171)	1253 (191)	980 (97)	871 (247)	§	
PAP (mmHg)	20 (3)	22 (7)	19 (3)	21 (13)		
PVRI (dyn•s•cm ⁻⁵ •m ⁻²)	286 (79)	189 (113)	153 (105)	147 (153)	§	

DCLHb	Hkt 31%	Hkt 15%	Hkt 9%	Hkt 4%	Hkt 2%	Hkt 1%	
BVI (ml•kg ⁻¹)	73 (10)	69 (9)	68 (12)	73 (8)	73 (10)	71 (6)	
HZVI (l•min ⁻¹ •m ⁻²)	4,0 (1,2)	3,8 (1,0)	4,3 (0,9)	4,9 (1,3)	4,4 (1,0)	4,2 (0,7)	
HF (Schläge•min ⁻¹)	152 (35)	141 (44)	143 (38)	139 (39)	140 (24)	154 (28)	
SVI (ml•m ⁻²)	29 (17)	29 (11)	33 (8)	34 (5)	31 (5)	28 (10)	
MAP (mmHg)	110 (19)	145 (22)	143 (27)	140 (42)	132 (33)	108 (30)	#
SVRI (dyn•s•cm ⁻⁵ •m ⁻²)	1912 (1039)	2682 (482)	2431 (242)	2129 (1452)	2117 (1297)	1938 (1576)	
PAP (mmHg)	23 (8)	43 (6)	42 (10)	41 (10)	43 (12)	38 (10)	#
PVRI (dyn•s•cm ⁻⁵ •m ⁻²)	342 (176)	696 (347)	684 (149)	541 (245)	606 (297)	631 (148)	* #

BVI: Blutvolumenindex; HZVI: Herzzeitvolumenindex; HF: Herzfrequenz; MAP: mittlerer arterieller Blutdruck; SVI: Schlagvolumenindex; SVRI: systemischer Gefäßwiderstandsindex; PAP: mittlerer pulmonal-arterieller Blutdruck; PVRI: pulmonaler Gefäßwiderstandsindex.

Angabe der Werte als Median (Interquartils-Abstand). §: p<0,05 innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: p<0,05 innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%); #: p<0,05 HSA-Gruppe (Hkt 6%) vs. DCLHb-Gruppe (Hkt 1%). Getestete Meßzeitpunkte sind durch Fettschrift markiert.

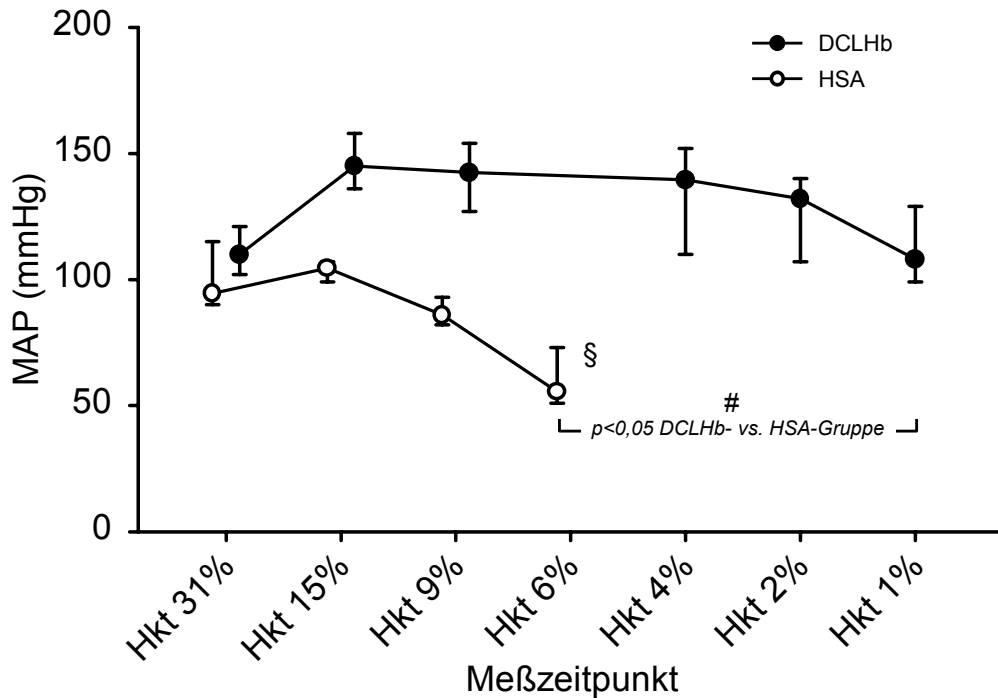


Abb. 3.2: Mittlerer Aortendruck (MAP) während des gesamten Versuchsverlaufs.

Abgebildet sind jeweils Median, Q1 und Q3; §: $p < 0,05$ innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: $p < 0,05$ innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%)

3.3.3 Ergebnisse der DCLHb-Gruppe

In der DCLHb-Gruppe blieb die für ANH charakteristische Zunahme des Herzzeitvolumens aus. Schlagvolumen, Herzfrequenz und Herzzeitvolumen zeigten bei keinem Meßzeitpunkt signifikante Unterschiede zu den jeweiligen Ausgangswerten.

Die Infusion von DLCHb verursachte eine Erhöhung des systemischen Gefäßwiderstandes auf maximal 140% (n.s.). Der mittlere aortale Blutdruck blieb hierdurch während des gesamten Versuchverlaufs stabil über dem Ausgangswert (Abb. 3.2); in der Folge wurde bei Hämatokrit 1% ein doppelt so hoher Wert wie in der HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit beobachtet ($p < 0,05$).

Wesentlich ausgeprägter war der signifikante Anstieg des pulmonal-vaskulären Widerstandes auf maximal ~200%. Im Verlauf der Hämodilution mit DCLHb stieg der pulmonal-arterielle Mitteldruck auf Werte zwischen 38 und 43 mmHg ($p < 0,05$). Im Vergleich zur HSA-Gruppe blieben sowohl PVRI als auch PAP bis Hämatokrit 1% signifikant erhöht.

3.3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse der Hämodynamik

- In der HSA-Gruppe wurden nach Beginn der Hämodilution ein signifikant erhöhtes Herzzeitvolumen und ein leicht erhöhtes Blutvolumen gemessen. In der DCLHb-Gruppe dagegen blieben Blutvolumen und Herzzeitvolumen während des Versuchsverlaufs unverändert.
- In der HSA-Gruppe waren am kritischen Hämatokrit im Vergleich zu den Ausgangswerten das Herzzeitvolumen nicht mehr gesteigert und der mittlere aortale Blutdruck signifikant abgefallen. Dagegen wurde direkt nach Beginn der Hämodilution mit DCLHb sowohl im systemischen als auch im pulmonalen Kreislauf ein signifikant höherer Blutdruck als in der HSA-Gruppe gemessen; dieser Unterschied blieb über den weiteren Versuchsverlauf bestehen.

3.4 Sauerstofftransport

3.4.1 Ergebnisse der HSA-Gruppe

Alle Parameter des globalen Sauerstofftransports sind in Tab. 3.3 aufgelistet.

Die Hämodilution war in der HSA-Gruppe mit einer signifikanten Reduktion des Hämatokrits und der Konzentration des nativen porcinen Hämoglobins verbunden: Am kritischen Hämatokrit wurden im Blut nur noch 21% der vor Beginn der Hämodilution gemessenen Hb_{Porcin} -Konzentration ermittelt ($p < 0,05$). Der pulmonale Gasaustausch dagegen verbesserte sich mit zunehmender Blutverdünnung geringfügig: Am kritischen Hämatokrit waren der arterielle Sauerstoffpartialdruck auf 111 mmHg und die arterielle Sauerstoffsättigung des porcinen Hämoglobins auf 97% angestiegen (beide Parameter n.s.). Einen nennenswerten Einfluß auf den arteriellen Sauerstoffgehalt hatten diese Veränderungen jedoch nicht. Wie Abb. 3.3 zeigt, nahm CaO_2 analog der Hb_{Porcin} -Konzentration bis zum kritischen Hämatokrit auf ~25% des Ausgangswertes ab ($p < 0,05$).

Der reduzierte arterielle Sauerstoffgehalt wurde von den HSA-Tieren zunächst durch den ANH-typischen Anstieg des Herzzeitvolumens kompensiert: Während CaO_2 nach Hämodilution auf Hämatokrit 15% schon auf ~50% reduziert war, betrug das globale Sauerstoffangebot (DO_2I) zum gleichen Meßzeitpunkt noch 86% des Ausgangswertes (Abb. 3.4). Mit dem Wegfall des kompensatorisch erhöhten Blutflusses bei Hkt_{krit} jedoch fiel DO_2I ähnlich wie CaO_2 deutlich auf ~25% im Vergleich zur Ausgangsmessung ab ($p < 0,05$).

Tab. 3.3: Parameter des globalen Sauerstofftransports in beiden Versuchsgruppen während des gesamten Versuchsverlaufs.

HSA	Hkt 31%	Hkt 15%	Hkt 9%	Hkt 6%	
Hkt (%)	30,5 (3,3)	15,2 (2,0)	9,0 (0,4)	6,1 (1,7)	§
Hb_{Gesamt} (g•dl ⁻¹)	9,6 (1,0)	4,8 (0,6)	2,9 (0,1)	2,0 (0,7)	§
Hb_{Porcin} (g•dl ⁻¹)	9,6 (1,0)	4,8 (0,6)	2,9 (0,1)	2,0 (0,7)	§
DCLHb (g•dl ⁻¹)	—	—	—	—	
PaO₂ (mmHg)	80 (11)	83 (11)	84 (12)	111 (16)	
SaO_{2 DCLHb} (%)	—	—	—	—	
SaO_{2 Porcin} (%)	93 (2)	96 (2)	97 (1)	97 (1)	
CaO₂ (ml•dl ⁻¹)	12,2 (1,0)	6,3 (0,7)	4,0 (0,3)	2,9 (0,9)	§
DO_{2I} (ml•min ⁻² •m ⁻²)	425 (127)	366 (101)	247 (12)	114 (98)	§
Met-DCLHb (%)	—	—	—	—	

DCLHb	Hkt 31%	Hkt 15%	Hkt 9%	Hkt 4%	Hkt 2%	Hkt 1%	
Hkt (%)	30,8 (2,6)	15,1 (2,2)	8,5 (1,5)	4,4 (0,6)	2,2 (0,4)	1,2 (0,1)	* #
Hb_{Gesamt} (g•dl ⁻¹)	10,1 (0,6)	7,4 (0,5)	6,1 (0,7)	5,6 (1,2)	5,3 (1,0)	4,7 (0,6)	* #
Hb_{Porcin} (g•dl ⁻¹)	10,1 (0,6)	4,2 (0,2)	2,2 (0,5)	1,2 (0,8)	0,6 (0,2)	0,2 (0,2)	* #
DCLHb (g•dl ⁻¹)	0,0 (0,0)	3,2 (0,3)	3,9 (0,5)	4,2 (0,4)	4,6 (0,6)	4,6 (0,9)	* #
PaO₂ (mmHg)	85 (14)	71 (4)	78 (15)	76 (11)	78 (32)	85 (3)	#
SaO_{2 DCLHb} (%)	0 (0)	90 (2)	93 (6)	92 (4)	93 (15)	95 (1)	* #
SaO_{2 Porcin} (%)	94 (1)	88 (4)	91 (8)	90 (2)	91 (18)	93 (2)	#
CaO₂ (ml•dl ⁻¹)	13,0 (0,7)	8,8 (0,5)	7,5 (0,9)	7,1 (1,1)	6,4 (0,7)	6,2 (0,8)	* #
DO_{2I} (ml•min ⁻² •m ⁻²)	528 (164)	353 (110)	301 (79)	307 (95)	264 (75)	254 (71)	*
Met-DCLHb (%)	0 (0)	9 (4)	11 (9)	13 (6)	14 (7)	15 (7)	* #

Hkt: Hämatokrit; Hb_{Gesamt}: Gesamt-Hämoglobinkonzentration; Hb_{Porcin}: porcine Hämoglobinkonzentration; DCLHb: DCLHb-Konzentration; PaO₂: arterieller Sauerstoffpartialdruck; SaO_{2 Porcin} und SaO_{2 DCLHb}: arterielle Sauerstoffsättigung von Hb_{Porcin} und DCLHb; CaO₂: arterieller Sauerstoffgehalt; DO_{2I}: systemischer Sauerstoffangebotsindex; Met-DCLHb: Anteil von DCLHb an der Gesamt-Met-hämoglobinkonzentration.

Angabe der Werte als Median (Interquartils-Abstand). §: p<0,05 innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: p<0,05 innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%); #: p<0,05 HSA-Gruppe (Hkt 6%) vs. DCLHb-Gruppe (Hkt 1%). Getestete Meßzeitpunkte sind durch Fettschrift markiert.

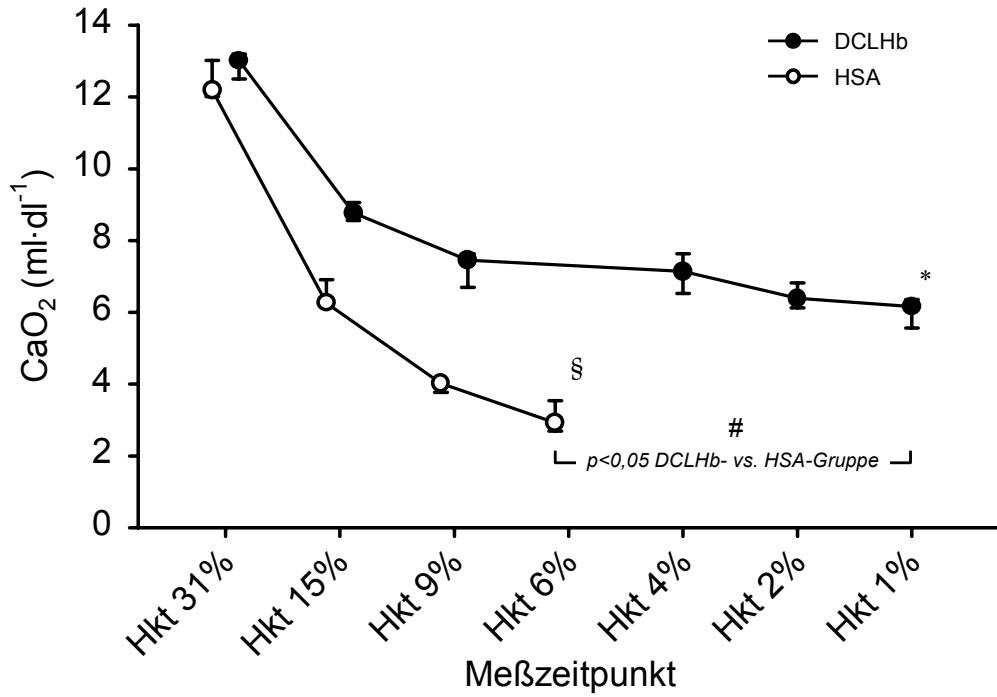


Abb. 3.3: Arterieller Sauerstoffgehalt (CaO_2) während des gesamten Versuchsverlaufs. Abgebildet sind jeweils Median, Q1 und Q3; §: $p < 0,05$ innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: $p < 0,05$ innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%)

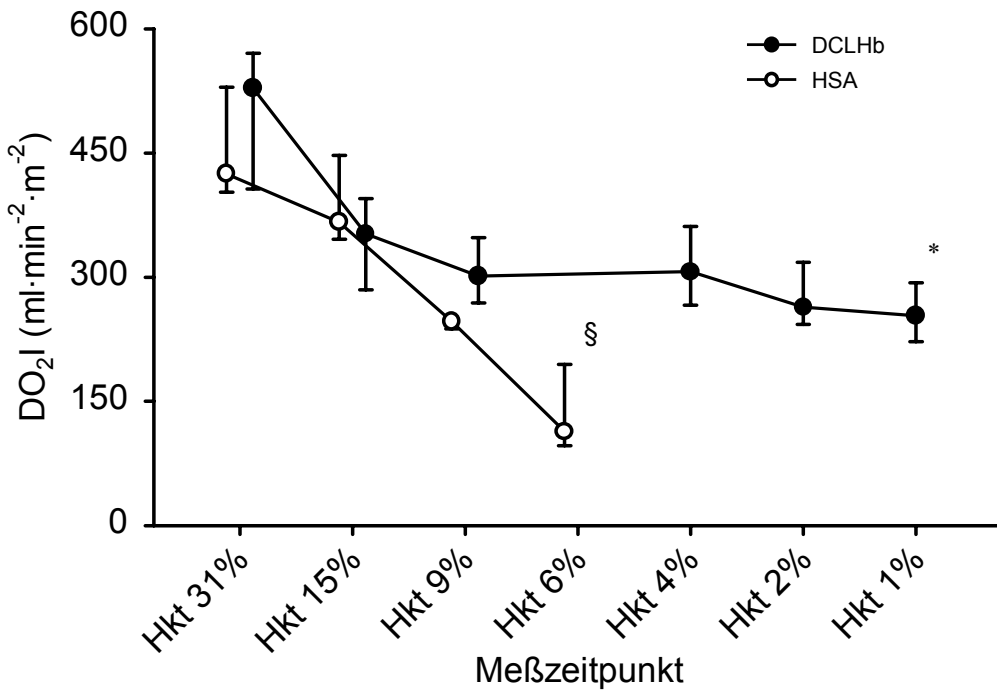


Abb. 3.4: Globaler Sauerstoffangebotsindex (DO_2I) während des gesamten Versuchsverlaufs. Abgebildet sind jeweils Median, Q1 und Q3; §: $p < 0,05$ innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: $p < 0,05$ innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%)

3.4.2 Ergebnisse der DCLHb-Gruppe

Auch in der DCLHb-Gruppe nahm die Konzentration des nativen porcinen Hämoglobins mit jedem Hämodilutionsschritt ab. Bei Hämatokrit 1% betrug die Hb_{Porcin} -Konzentration nur noch vernachlässigbare 2% des Ausgangswertes ($p < 0,05$); dies entspricht genau einem Zehntel der Hämoglobinkonzentration, die in der HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit gemessen wurde ($p < 0,05$). Der pulmonale Gasaustausch war nicht wie in der HSA-Gruppe verbessert, sondern blieb über den gesamten Versuchsverlauf unverändert.

Der arterielle Sauerstoffgehalt der DCLHb-Tiere war schon nach dem ersten Hämodilutionsschritt höher als in der HSA-Gruppe; trotz der massiv verminderten Hb_{Porcin} -Konzentration nahm CaO_2 im gesamten Versuchsverlauf nur auf ~50% des Ausgangswertes ab ($p < 0,05$). Im Vergleich zur HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit bedeutet dies selbst bei Hämatokrit 1% einen mehr als doppelt so hohen arteriellen Sauerstoffgehalt ($p < 0,05$).

Der Grund hierfür liegt in der Substitution des entzogenen Blutes durch DCLHb. Die DCLHb-Konzentration nahm mit jedem Hämodilutionsschritt bis auf 4,6 g/dl bei Hämatokrit 1% zu ($p < 0,05$). Auffallend ist der hohe Met-DCLHb-Anteil, der bei Hämatokrit 1% signifikant auf 15% angestiegen war ($p < 0,05$). In den bei Hämatokrit 1% verbliebenen Erythrozyten befand sich dagegen – wie bereits erwähnt – nur noch eine vernachlässigbar geringe Hb_{Porcin} -Konzentration.

Der Sauerstoffgehalt des Blutes rekrutiert sich nach Infusion von DCLHb aus drei Kompartimenten: Dem physikalisch gelösten Sauerstoff, dem an das native Hämoglobin gebundenen Sauerstoff und dem von DCLHb transportierten Sauerstoff. In Abb. 3.5 sind die relativen Anteile von jedem dieser drei Kompartimente am Sauerstoffangebot dargestellt: Schon bei Hämatokrit 9% stellte DCLHb 64% des angebotenen Sauerstoffes zur Verfügung, bei Hämatokrit 1% lag der DCLHb-Anteil am DO_2I sogar $> 90\%$ ($p < 0,05$). An Hb_{Porcin} gebundener und physikalisch gelöster Sauerstoff machten zu diesem Zeitpunkt dagegen nur noch jeweils 4% aus (beide Parameter $p < 0,05$).

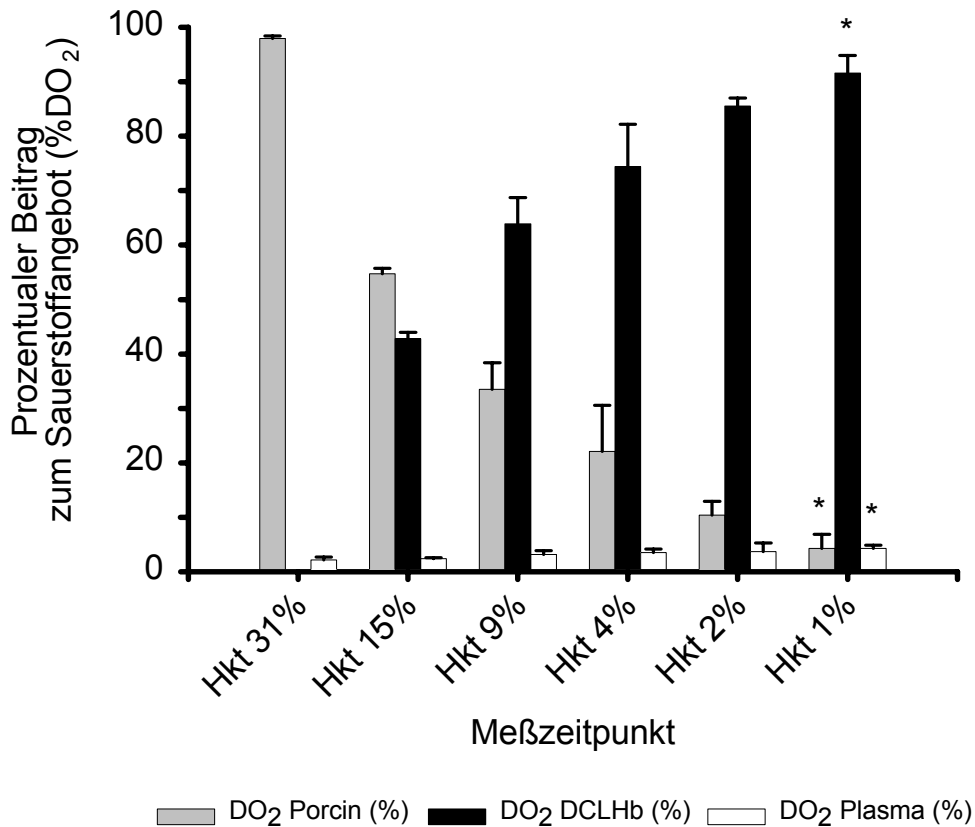


Abb. 3.5: Relative Anteile von porcinem Hb, DCLHb und plasmatisch gelöstem Sauerstoff an der Sauerstofftransportkapazität (% DO₂) in der DCLHb-Gruppe während des gesamten Versuchsverlaufs.

Abgebildet sind jeweils Median und Semi-Interquartilsabstand; *: p < 0,05 innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%)

Das globale Sauerstoffangebot wies bis Hämatokrit 15% in beiden untersuchten Gruppen keinen Unterschied auf; bei Hämatokrit 9% und darunter jedoch profitierten die DCLHb-Tiere zunehmend von der verbesserten Sauerstofftransportkapazität. Das globale Sauerstoffangebot war bei den folgenden Meßzeitpunkten in der DCLHb-Gruppe immer höher als in der HSA-Gruppe: Bis Hämatokrit 1% fiel DO₂I nur auf ~50% des Ausgangswertes (p < 0,05); dies wurde ohne den in der HSA-Gruppe beobachteten Herzzeitvolumenanstieg erreicht. Sowohl das globale Sauerstoffangebot als auch der arterielle Sauerstoffgehalt waren bei Hämatokrit 1% mehr als doppelt so hoch wie in der HSA-Gruppe zum Zeitpunkt des kritischen Hämatokrits (p < 0,05).

3.4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse des Sauerstofftransportes

- Der arterielle Sauerstoffgehalt und das globale Sauerstoffangebot waren in der HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit auf ~25% des Ausgangswertes reduziert. In der DCLHb-Gruppe dagegen lagen sowohl CaO_2 als auch DO_2I bis Hämatokrit 1% noch bei ~50% der Ausgangswerte.
- Schon mit Beginn der Hämodilution stellte DCLHb zwei Drittel der gesamten Sauerstofftransportkapazität zur Verfügung; bei Hämatokrit 1% waren > 90% des angebotenen Sauerstoffes an DCLHb gebunden.
- Mit im Verlauf der Hämodilution stieg der Anteil von Met-DCLHb im Blut der DCLHb-Tiere auf 15% an.

3.5 Myokardiale Perfusion und Oxygenierung

3.5.1 Ergebnisse der HSA-Gruppe

Eine Übersicht über die Parameter der myokardialen Perfusion und Oxygenierung findet sich in Tab. 3.4.

Die Tiere in der HSA-Gruppe nahmen die Koronarreserve vollständig in Anspruch und steigerten den koronaren Blutfluß in der LAD bis auf ~500% ($p < 0,05$). Der koronarvaskuläre Widerstand war aufgrund der mit Hämodilution verbundenen Viskositätsabnahme vom ersten Hämodilutionsschritt an auf bis zu 10% reduziert ($p < 0,05$). Der erhöhte Koronarblutfluß ermöglichte bis Hämatokrit 9% eine deutliche Steigerung der Myokarddurchblutung. Der regionale myokardiale Blutfluß stieg zunächst ebenso wie LADI auf das 5-fache des Ausgangswertes an; das linksventrikuläre Sauerstoffangebot war trotz reduziertem CaO_2 auf ~150% erhöht.

Am kritischen Hämatokrit jedoch verschlechterte sich die myokardiale Sauerstoffversorgung drastisch; der koronare Perfusionsdruck fiel bei reduziertem arteriellen Blutdruck signifikant auf ~30% des Ausgangswertes ab (Abb. 3.6). Als Folge des stark gesunkenen CPP und des konsekutiv reduzierten koronaren Blutflusses verringerte sich der regionale myokardiale Blutfluss nach Erreichen von Hkt_{krit} auf Ausgangswerte ($p < 0,05$); damit entfiel die für die Kompensation der Verdünnungsanämie erforderliche myokardiale Mehrdurchblutung. Das linksventrikuläre Sauerstoffangebot brach zusammen und erreichte nur noch ~30% des Ausgangswertes (n.s.).

Tab. 3.4: Parameter der myokardialen Perfusion und Oxygenierung in beiden Versuchsgruppen während des gesamten Versuchsverlaufs.

HSA	Hkt 31%	Hkt 15%	Hkt 9%	Hkt 6%		
LADI (ml•min ⁻¹ •m ⁻²)	56 (22)	191 (55)	290 (76)	238 (152)	§	
LV-MBF (ml•min ⁻¹ •g ⁻¹)	1,6 (0,3)	4,7 (1,0)	7,6 (2,7)	2,2 (0,6)	§	
CPP (mmHg)	64 (19)	62 (5)	41 (8)	19 (8)	§	
CVRI (dyn•s•g• cm ⁻⁵ •m ⁻²)	4530 (936)	1347 (503)	520 (181)	1123 (197)	§	
LV-DO₂I (ml•min ⁻¹ •g ⁻¹)	32,7 (12,1)	42,9 (20,5)	46,8 (13,2)	9,7 (3,6)		
LV-DO₂I_{endo} (ml•min ⁻¹ •g ⁻¹)	34,7 (12,3)	45,7 (37,1)	31,5 (25,4)	5,7 (2,1)		
EER	1,07 (0,29)	1,06 (0,29)	0,69 (0,34)	0,50 (0,19)	§	

DCLHb	Hkt 31%	Hkt 15%	Hkt 9%	Hkt 4%	Hkt 2%	Hkt 1%
LADI (ml•min ⁻¹ •m ⁻²)	50 (19)	100 (16)	124 (32)	139 (47)	169 (110)	153 (92) *
LV-MBF (ml•min ⁻¹ •g ⁻¹)	1,9 (0,6)	3,2 (0,6)	3,6 (1,6)	4,2 (3,9)	6,4 (3,3)	4,3 (2,4)
CPP (mmHg)	78 (30)	105 (23)	100 (35)	94 (43)	87 (34)	65 (22) #
CVRI (dyn•s•g• cm ⁻⁵ •m ⁻²)	4937 (2248)	3867 (1398)	2795 (614)	2184 (1531)	1847 (1047)	2154 (1685)
LV-DO₂I (ml•min ⁻¹ •g ⁻¹)	33,5 (21,3)	36,6 (17,4)	37,8 (13,1)	40,6 (35,8)	55,0 (35,2)	39,1 (7,7)
LV-DO₂I_{endo} (ml•min ⁻¹ •g ⁻¹)	28,9 (20,5)	37,8 (11,4)	39,6 (12,2)	35,2 (20,1)	48,5 (32,6)	39,8 (17,8)
EER	1,00 (0,37)	1,27 (0,43)	1,36 (0,63)	1,36 (0,65)	1,15 (0,39)	1,03 (0,60) #

LADI: Koronarflußindex (R. interventr. ant.); LV-MBF: linksventrikulärer myokardialer Blutfluß; CPP: Koronarer Perfusionsdruck; CVRI: Koronarer Widerstandsindex; LV-DO₂I: linksventrikuläres Sauerstoffangebot; LV-DO₂I_{endo}: linksventrikuläres endomyokardiales Sauerstoffangebot; EER: Relation von endomyo- zu epimyokardialem Blutfluß.

Angabe der Werte als Median (Interquartils-Abstand). §: p<0,05 innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: p<0,05 innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%); #: p<0,05 HSA-Gruppe (Hkt 6%) vs. DCLHb-Gruppe (Hkt 1%). Getestete Meßzeitpunkte sind durch Fettschrift markiert.

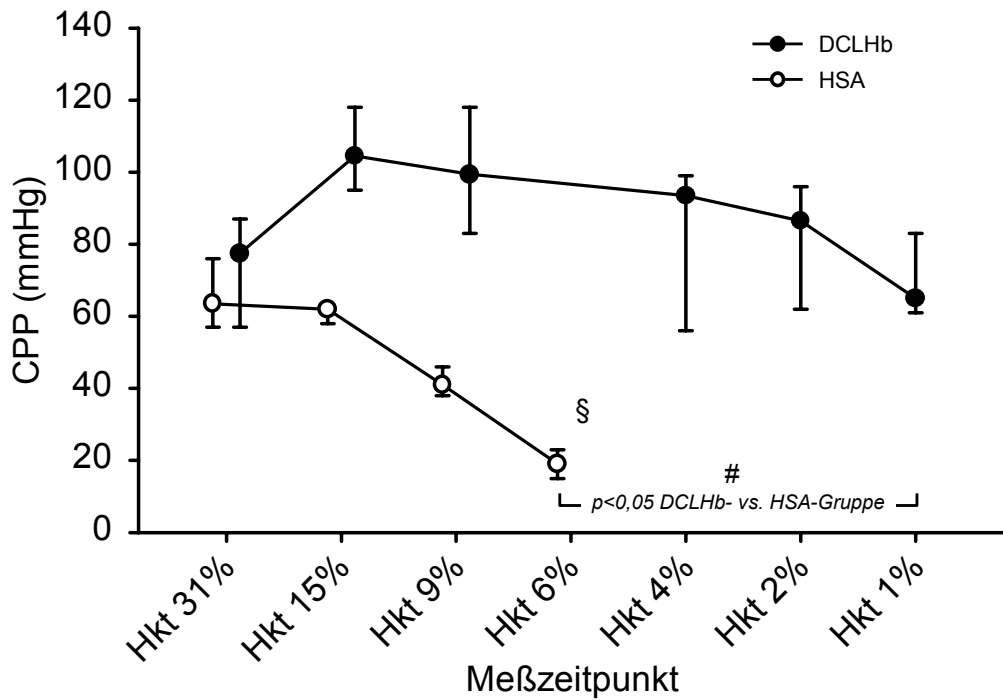


Abb. 3.6: Koronarer Perfusionsdruck (CPP) während des gesamten Versuchsverlaufs.

Abgebildet sind jeweils Median, Q1 und Q3; §: $p < 0,05$ innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: $p < 0,05$ innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%)

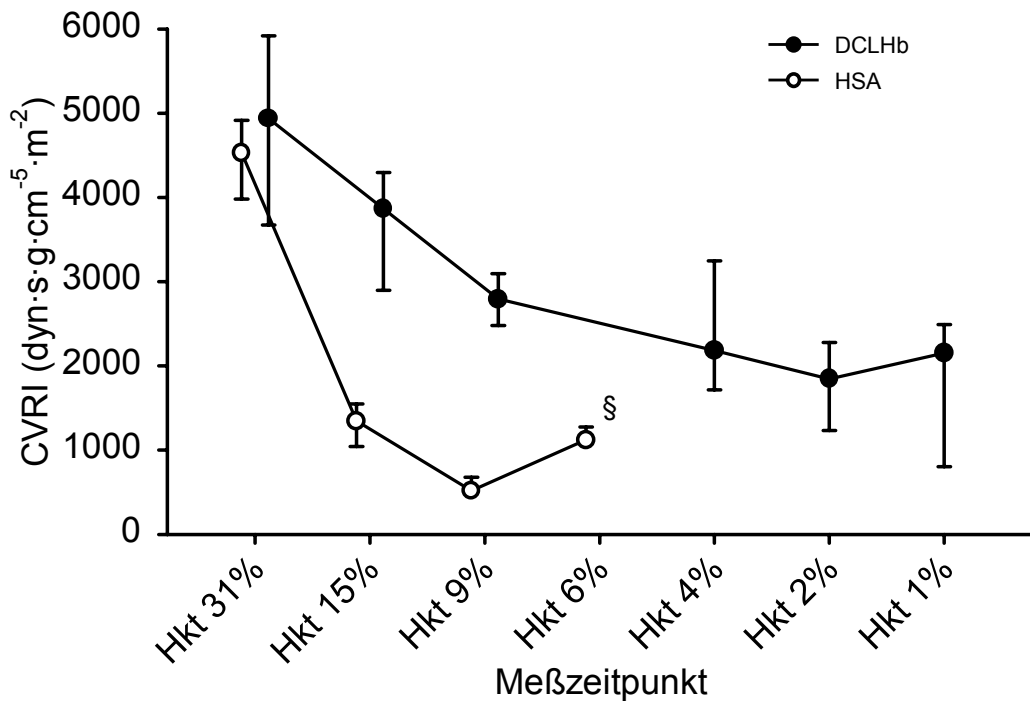


Abb. 3.7: Koronar-vaskulärer Widerstand (CVRI) während des gesamten Versuchsverlaufs.

Abgebildet sind jeweils Median, Q1 und Q3; §: $p < 0,05$ innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: $p < 0,05$ innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%)

Insbesondere durch die hämodynamischen Veränderungen kam es bei den HSA-Tieren zu einer kritischen Beeinträchtigung der Myokardoxygenierung: Besonders betroffen war das Endomyokard, denn die signifikante CPP-Reduktion zu diesem Zeitpunkt bewirkte eine Umverteilung der Myokardperfusion zu Lasten der Innenschicht. In der Folge manifestierte sich bei allen Tieren der HSA-Gruppe eine massive Ischämie des Endomyokards, erkennbar an dem deutlich reduzierten Verhältnis von endomyo- zu epimyokardialem Blutfluß. Die Endo/Epi-Relation fiel von 1,0 vor Beginn der Hämodilution auf 0,5 am kritischen Hämatokrit ab ($p < 0,05$). Wie Abb. 3.8 zeigt, betrug das endomyokardiale Sauerstoffangebot dadurch zum Zeitpunkt des kritischen Hämatokrits weniger als ein Fünftel des Ausgangswertes.

3.5.2 Ergebnisse der DCLHb-Gruppe

In offensichtlichem Gegensatz zu den HSA-Tieren zeigte sich DCLHb als ausreichend potent, sowohl die myokardiale Perfusion als auch die myokardiale Oxygenierung bis zum letzten Meßzeitpunkt bei Hämatokrit 1% zu verbessern.

Die DCLHb-Tiere mußten die Koronarreserve nur zum Teil ausschöpfen und steigerten den koronaren Blutfluß in der LAD auf maximal ~350% ($p < 0,05$). Wie in Abb. 3.7 dargestellt, war der koronar-vaskuläre Widerstand im Gegensatz zu systemischem und pulmonalem Gefäßwiderstand im Verlauf der Hämodilution nicht erhöht, sondern auf bis zu ~40% verringert (n.s.). Dies ermöglichte den nachhaltigen Anstieg des myokardialen Blutflusses in der DCLHb-Gruppe auf maximal ~350% (n.s.); bei Hämatokrit 1% war LV-MBF noch immer doppelt so hoch wie in der HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit. Das gesamtmyokardiale Sauerstoffangebot profitierte neben dem verbesserten Blutfluß auch von dem erhöhten arteriellen Sauerstoffgehalt: Es war bis Hämatokrit 1% über den Ausgangswert erhöht und zu diesem Meßzeitpunkt viermal so hoch wie in der HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit.

Zusätzlich bewirkte die während des gesamten Versuchsverlaufs stabilisierte Hämodynamik nach Infusion von DCLHb bis Hämatokrit 1% eine deutlich verbesserte endomyokardiale Perfusion und Oxygenierung; der koronare Perfusionsdruck blieb nahezu unverändert auf der Höhe des Ausgangswertes und war bei Hämatokrit 1% im Vergleich zur HSA-Gruppe signifikant erhöht (Abb. 3.6). Der relative Anteil der endomyokardialen Durchblutung am gesamtmyokardialen Blutfluss war höher als in der HSA-Gruppe: Die Endo/Epi-Relation fiel bei den DCLHb-Tieren im gesamten

Versuchszeitraum nicht unter 1,0 ab. Die im Vergleich zur HSA-Gruppe signifikant verbesserte Innenschichtperfusion in der DCLHb-Gruppe stellte bei Hämatokrit 1% ein im Vergleich zum Ausgangswert auf ~140% gesteigertes endomyokardiales Sauerstoffangebot zur Verfügung (n.s.). Die in der HSA-Gruppe beobachtete Myokardischämie wurde durch die Austauschtransfusion mit DCLHb verhindert.

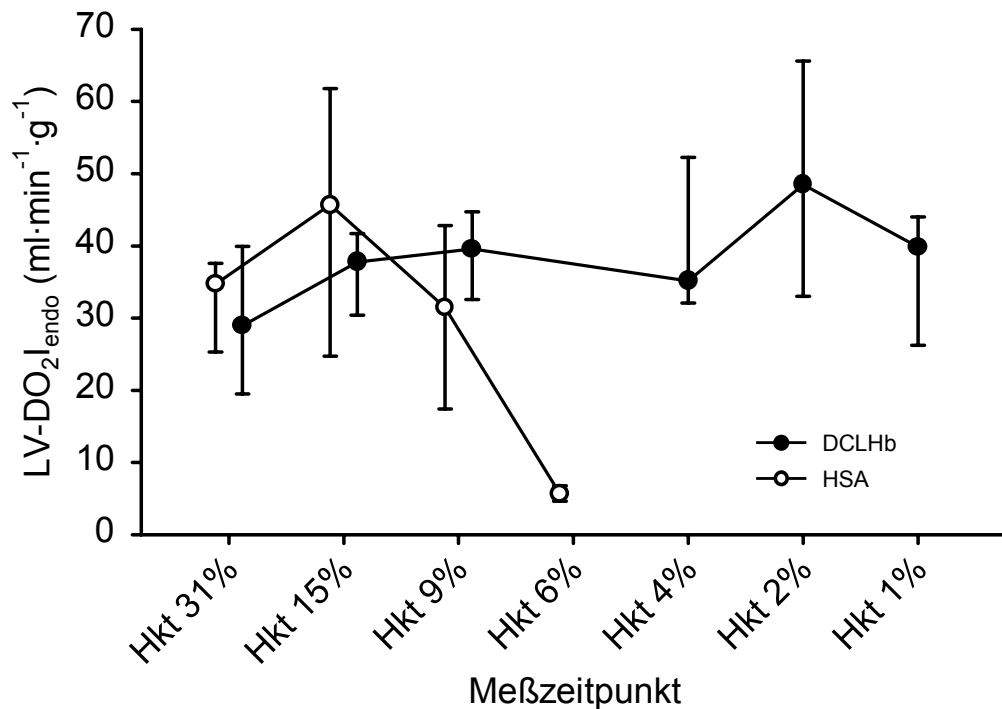


Abb. 3.8: Endomyokardiales Sauerstoffangebot ($LV-DO_{2I_{endo}}$) während des gesamten Versuchsverlaufs.

Abgebildet sind jeweils Median, Q1 und Q3; §: $p < 0,05$ innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: $p < 0,05$ innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%)

3.5.3 Zusammenfassung der Ergebnisse der myokardialen Perfusion und Oxygenierung

- Bei den HSA-Tieren wurde eine Steigerung des koronaren Blutflusses bis auf ~500% beobachtet. Der regionale myokardiale Blutfluß stieg ebenfalls bis auf ~500% an. Die lebenserhaltende myokardiale Mehrdurchblutung sistierte am kritischen Hämatokrit; der regionale Blutfluss fiel auf Ausgangswerte zurück.
- Bei den DCLHb-Tieren waren koronarer Blutfluß und regionaler myokardialer Blutfluss während des gesamten Versuchsablaufs nur auf ~350% erhöht.

- In der HSA-Gruppe fielen koronarer Perfusionsdruck und Endo/Epi-Relation am kritischen Hämatokrit auf weniger als 50% der Ausgangswerte ab; die Austauschtransfusion mit DCLHb hingegen stabilisierte sowohl CPP als auch EER. Beide Parameter fielen zu keinem Zeitpunkt unter ihren Ausgangswert ab.
- Das endomyokardiale Sauerstoffangebot nahm bei den HSA-Tieren bis $H_{kt_{krit}}$ infolge des verringerten arteriellen Sauerstoffgehaltes und der eingeschränkten Innenschichtperfusion auf $< 20\%$ des Ausgangswertes ab; durch Infusion von DCLHb jedoch konnte die endomyokardiale Sauerstoffversorgung während des gesamten Versuchsverlaufs bis Hämatokrit 1% maßgeblich verbessert werden.

3.6 Myokardfunktion

3.6.1 Ergebnisse der HSA-Gruppe

Eine Übersicht über die myokardialen Funktionsparameter findet sich in Tab. 3.5 und Abb. 3.9.

In der HSA-Gruppe war die myokardiale Kontraktilität bei Hämatokrit 15% erwartungsgemäß verbessert: Sowohl die Druckänderungsgeschwindigkeit im linken Ventrikel als auch die linksventrikuläre Segment-Verkürzungsfraction waren zu diesem Zeitpunkt gesteigert. Infolge der beschriebenen linksventrikulären Ischämie am kritischen Hämatokrit kam es zu einem signifikanten systolischen Funktionsverlust des linksventrikulären Myokards (Abb. 3.9 A): dP/dt_{max} und LV-VF waren in der HSA-Gruppe nach Hämodilution bis zum kritischen Hämatokrit auf $\sim 60\%$ der Ausgangswerte reduziert. Die HSA-Tiere konnten – anders als bei den vorherigen Meßzeitpunkten – trotz reduzierter Nachlast kein erhöhtes Schlagvolumen auswerfen. Als Anzeichen des ischämischen Linksherzversagens stieg der linksventrikuläre end-diastolische Füllungsdruck signifikant auf 13 mmHg an.

Die linksventrikuläre Ischämie in der HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit hatte auch eine Störung der diastolischen Funktion zur Folge. Zum einen war die Relaxationszeitkonstante τ um 7 ms erhöht, zum anderen ließ dP/dt_{min} eine signifikant verlangsamte Relaxation des linksventrikulären Myokards erkennen (Abb. 3.9 B).

Tab. 3.5: Parameter der Myokardfunktion in beiden Versuchsgruppen während des gesamten Versuchsverlaufs.

HSA	Hkt 31%	Hkt 15%	Hkt 9%	Hkt 6%		
LV-VF (%)	9,2 (11,2)	14,6 (6,6)	8,3 (4,5)	5,6 (1,6)		
dP/dt_{max} (mmHg•s ⁻¹)	2838 (385)	3464 (912)	3364 (1190)	1678 (730) §		
LVEDP (mmHg)	7 (1)	9 (5)	8 (4)	13 (9) §		
dP/dt_{min} (mmHg•s ⁻¹)	-1932 (738)	-2055 (668)	-1898 (48)	-1293 (478) §		
τ (ms)	41 (4)	37 (10)	41 (11)	48 (12)		

DCLHb	Hkt 31%	Hkt 15%	Hkt 9%	Hkt 4%	Hkt 2%	Hkt 1%
LV-VF (%)	8,7 (9,4)	9,3 (6,3)	12,1 (7,0)	10,0 (2,7)	10,3 (3,6)	10,8 (7,0) #
dP/dt_{max} (mmHg•s ⁻¹)	3196 (401)	3447 (1341)	3138 (1144)	3027 (1113)	4249 (1913)	3829 (957) #
LVEDP (mmHg)	6 (1)	8 (2)	8 (1)	8 (2)	9 (2)	8 (3) #
dP/dt_{min} (mmHg•s ⁻¹)	-2214 (612)	-2781 (697)	-2604 (317)	-2038 (237)	-1733 (368)	-1531 (364)
τ (ms)	33 (14)	47 (12)	48 (7)	60 (26)	68 (36)	78 (37) * #

LV-VF: linksventrikuläre Segment-Verkürzungsfraction; dP/dt_{max} und dP/dt_{min}: maximale und minimale Druckänderungsgeschwindigkeit im linken Ventrikel; τ: diastolische Relaxations-Zeitkonstante; LVEDP: linksventrikulärer end-diastolischer Füllungsdruck.

Angabe der Werte als Median (Interquartils-Abstand). §: p<0,05 innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: p<0,05 innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%); #: p<0,05 HSA-Gruppe (Hkt 6%) vs. DCLHb-Gruppe (Hkt 1%). Getestete Meßzeitpunkte sind durch Fettschrift markiert.

3.6.2 Ergebnisse der DCLHb-Gruppe

Auch in der DCLHb-Gruppe verbesserte sich die systolische Myokardfunktion bei Hämatokrit 15%, allerdings nicht so ausgeprägt wie in der HSA-Gruppe. Besonders interessant ist jedoch, daß im Gegensatz zur HSA-Gruppe die Systolenfunktion im gesamten Versuchsverlauf erhalten war: Die linksventrikuläre Segment-Verkürzungsfraction und dP/dt_{max} waren bei Hämatokrit 1% auf ~120% im Vergleich zur Ausgangsmessung erhöht (beide Parameter n.s.). Wie Abb. 3.9 A zeigt, ist zwischen den Gruppen ein offensichtlicher Unterschied in der myokardialen Pumpfunktion zu beobachten: Bei Hämatokrit 1% waren als Hinweis auf eine bessere myokardiale Kontraktionskraft der DCLHb-Tiere sowohl LV-VF als auch dP/dt_{max} im Vergleich zum kritischen Hämatokrit in der HSA-Gruppe signifikant erhöht.

In deutlichem Gegensatz zu der anhaltend guten Pumpfunktion in der Systole ließen die DCLHb-Tiere deutliche Einschränkungen der diastolischen Myokardfunktion erkennen. Nach Erreichen von Hämatokrit 1% wies die signifikant erhöhte Relaxationszeitkonstante τ ebenso auf eine diastolische Wandbewegungsstörung hin wie die um ein Drittel verringerte maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (n.s.). Die im Vergleich zur HSA-Gruppe schlechtere diastolische Ventrikelfunktion ist in Abb. 3.9 B detailliert dargestellt.

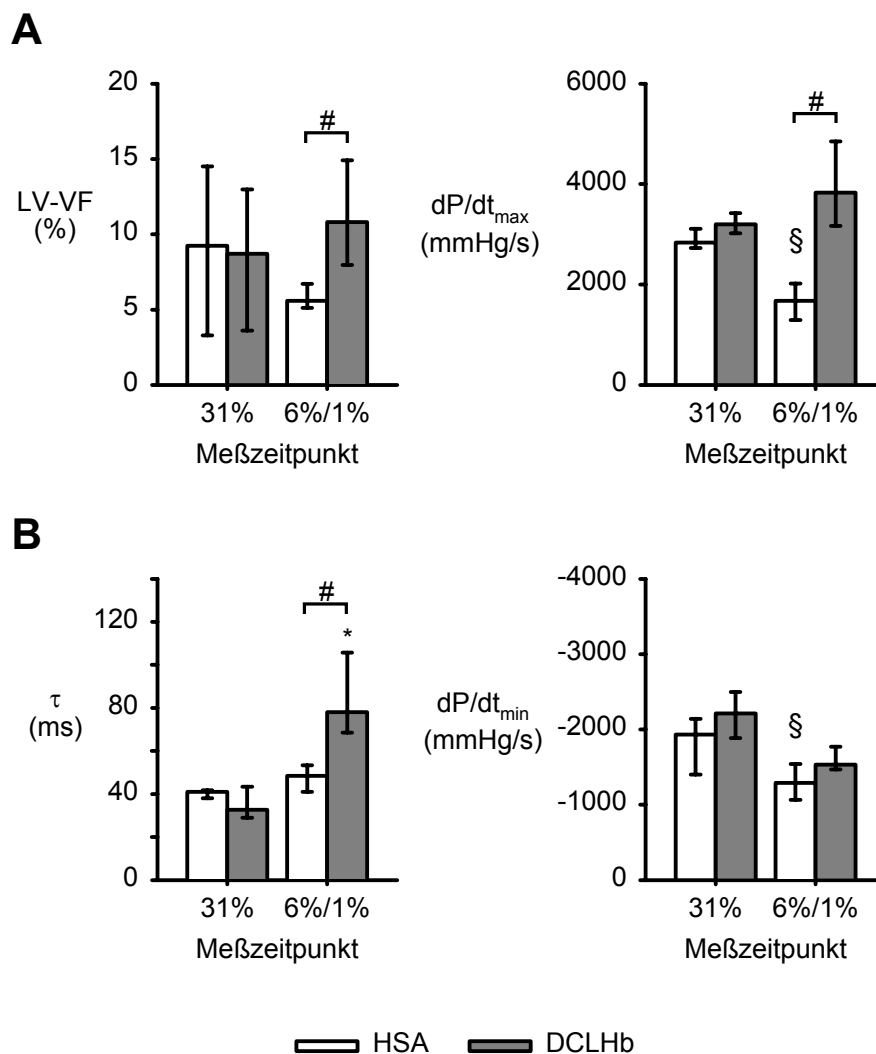


Abb. 3.9: Übersicht über die systolische (A) und diastolische (B) Myokardfunktion vor und nach Hämodilution in der HSA- bzw. DCLHb-Gruppe.

Die systolische Myokardfunktion wird durch die linksventrikuläre Segmentverkürzungsfraction (LV-VF) und maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dP/dt_{max}) repräsentiert, die diastolische Myokardfunktion durch die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit (dP/dt_{min}) sowie die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation τ . Für jeden Parameter sind jeweils Median, Q1 und Q3 der Ausgangsmessung (Hkt 31%) und der letzten Messung bei Hämatokrit 6% (HSA-Gruppe) bzw. Hämatokrit 1% (DCLHb-Gruppe) abgebildet. §: $p < 0,05$ innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: $p < 0,05$ innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%)

Tab. 3.6: Parameter der globalen Gewebeoxygenierung in beiden Versuchsgruppen während des gesamten Versuchsverlaufs.

HSA	Hkt 31%	Hkt 15%	Hkt 9%	Hkt 6%	
PvO₂ (mmHg)	36 (2)	30 (2)	25 (5)	23 (4)	§
CvO₂ (ml•dl ⁻¹)	7,3 (1,5)	3,0 (0,6)	1,4 (0,5)	0,9 (0,4)	§
O₂ ER (%)	43 (7)	55 (6)	65 (11)	71 (10)	§
VO₂I (ml•min ⁻¹ •m ⁻²)	224 (58)	232 (65)	196 (23)	151 (107)	§
%VO₂IDCLHb (%)	—	—	—	—	
S-VO₂I (ml•min ⁻¹ •m ⁻²)	48 (24)	38 (9)	32 (6)	21 (15)	§
pHi	7,30 (0,14)	7,35 (0,06)	7,29 (0,06)	7,13 (0,16)	
Art. BE (mmol•l ⁻¹)	-1,6 (2,5)	0,8 (5,3)	-2,4 (1,0)	-7,5 (1,1)	§
Art. Laktat (mmol•l ⁻¹)	2,5 (2,0)	2,3 (0,4)	4,6 (2,0)	9,0 (3,8)	§

DCLHb	Hkt 31%	Hkt 15%	Hkt 9%	Hkt 4%	Hkt 2%	Hkt 1%	
PvO₂ (mmHg)	36 (8)	29 (5)	28 (5)	25 (3)	24 (7)	23 (4)	*
CvO₂ (ml•dl ⁻¹)	6,7 (2,1)	4,0 (0,9)	2,9 (1,2)	2,8 (0,6)	2,4 (1,2)	1,9 (0,4)	* #
O₂ ER (%)	46 (15)	55 (8)	57 (11)	61 (2)	66 (11)	67 (5)	*
VO₂I (ml•min ⁻¹ •m ⁻²)	211 (24)	203 (15)	204 (15)	196 (13)	177 (18)	170 (22)	*
%VO₂IDCLHb (%)	0 (0)	41 (1)	61 (3)	75 (10)	86 (3)	91 (3)	* #
S-VO₂I (ml•min ⁻¹ •m ⁻²)	40 (20)	32 (16)	28 (14)	32 (17)	30 (17)	31 (14)	
pHi	7,31 (0,05)	7,27 (0,10)	7,26 (0,05)	7,20 (0,10)	7,18 (0,19)	7,06 (0,12)	
Art. BE (mmol•l ⁻¹)	-1,5 (1,6)	-2,3 (2,9)	-3,4 (2,0)	-2,8 (2,8)	-4,4 (1,5)	-5,9 (6,6)	
Art. Laktat (mmol•l ⁻¹)	2,3 (1,0)	2,6 (1,5)	2,9 (2,3)	2,8 (2,7)	4,2 (2,3)	6,4 (4,1)	*

PvO₂: gemischtvenöser Sauerstoffpartialdruck; CvO₂: gemischtvenöser Sauerstoffgehalt; O₂ ER: arteriell-gemischtvenöse Sauerstoffextraktionsrate; VO₂I: gemessener Sauerstoffaufnahmeindex; %VO₂IDCLHb: Anteil von DCLHb-gebundenem Sauerstoff am systemischen Sauerstoffverbrauch; S-VO₂I: gastro-intestinaler Sauerstoffaufnahmeindex; pHi: pH-Wert der Magenmukosa; Art. BE und Art. Laktat: Plasma-Pufferbasenüberschuß und Plasma-Laktatkonzentration im arteriellen Blut.

Angabe der Werte als Median (Interquartils-Abstand). §: p<0,05 innerhalb der HSA-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 6%); *: p<0,05 innerhalb der DCLHb-Gruppe (Hkt 31% vs. Hkt 1%); #: p<0,05 HSA-Gruppe (Hkt 6%) vs. DCLHb-Gruppe (Hkt 1%). Getestete Meßzeitpunkte sind durch Fettschrift markiert.

3.6.3 Zusammenfassung der Ergebnisse der Myokardfunktion

- Am kritischen Hämatokrit wurde in der HSA-Gruppe ein Funktionsverlust des linken Ventrikels offensichtlich, der bei allen Tieren zum Tod führte. Die DCLHb-Tiere dagegen zeigten während des gesamten Versuchsablaufs keine meßbaren Einschränkungen der Pumpfunktion. Sowohl dP/dt_{max} als auch LV-VF waren bei Hämatokrit 1% unverändert und im Vergleich zur HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit wesentlich besser.
- Die diastolische Myokardfunktion war in beiden untersuchten Gruppen im Verlauf der Hämodilution zunehmend eingeschränkt. Diastolische Wandbewegungsstörungen traten in der HSA-Gruppe nach Erreichen von Hkt_{krit} , in der DCLHb-Gruppe bei Hämatokritwerten $< 4\%$ auf.

3.7 Gewebeoxygenierung

3.7.1 Ergebnisse der HSA-Gruppe

Die Parameter der globalen Gewebeoxygenierung sind in Tab. 3.6 zusammengefaßt; die Meßergebnisse für den lokalen Gewebe- pO_2 auf der Oberfläche von Leber und Skelettmuskel sind in Abb. 3.11 und Abb. 3.12 dargestellt.

Bei den HSA-Tieren wurde während Hämodilution neben dem Anstieg des Herzzeitvolumens eine Zunahme der arterio-venösen Sauerstoffextraktion bis auf 71% am kritischen Hämatokrit beobachtet ($p < 0,05$). Sauerstoffpartialdruck und -gehalt im gemischt-venösen Blut waren folglich signifikant reduziert; erhöhtes Herzzeitvolumen einerseits und gesteigerte Sauerstoffextraktionsrate andererseits stellten bis einschließlich Hämatokrit 9% eine ausreichende globale Sauerstoffaufnahme sicher (Tab. 3.6 und Abb. 3.10).

Bei Hämatokritwerten $< 9\%$ jedoch versagte die Kompensation bei allen Tieren der HSA-Gruppe: Das globale Sauerstoffangebot war auf $\sim 25\%$ gesunken, VO_2 wurde abhängig und fiel in der Folge massiv ab ($p < 0,05$). Abb. 3.10 zeigt die gemessene Sauerstoffaufnahme im Verlauf eines repräsentativen Experimentes der HSA-Gruppe. Die Graphik macht deutlich, daß zum Meßzeitpunkt Hkt_{krit} sicher Angebotsabhängigkeit von VO_2 vorlag. Die Kurve zeigt nach 4 Stunden und 55 Minuten einen kontinuierlichen Abfall von VO_2 infolge Abnahme der DO_2 . Anhand der Graphik sieht man, daß der Inklinationspunkt der VO_2 -Kurve erst *ex post* theoretisch herleitbar ist. Der Eintritt der

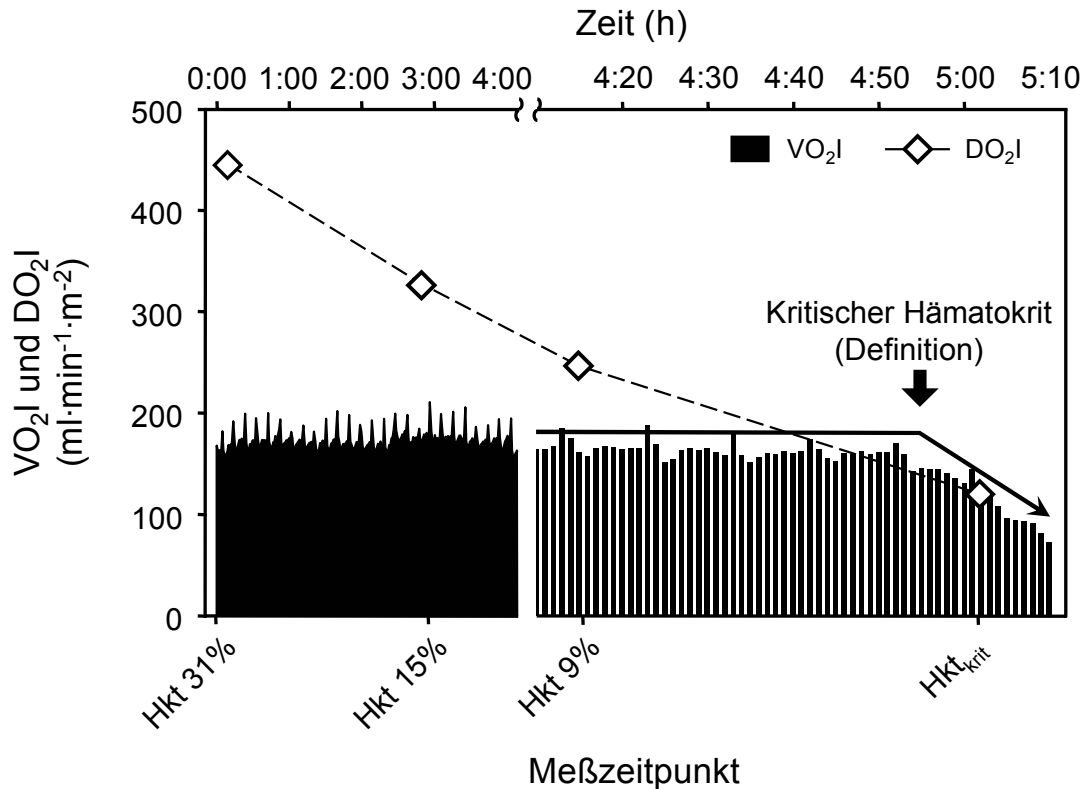


Abb. 3.10: Beispielhafter Verlauf der Sauerstoffaufnahme an einem Tier der HSA-Gruppe.

Dargestellt sind das globale Sauerstoffangebot (DO_2I) zu den vier Meßzeitpunkten Hkt 31%, Hkt 15%, Hkt 9% und Hkt_{krit} sowie die gleichzeitig kontinuierlich gemessene globale Sauerstoffaufnahme (VO_2I).

Die Sauerstoffaufnahme bleibt trotz des sinkenden Sauerstoffangebots bis einschließlich Hämatokrit 9% unverändert. Während der anschließenden Hämodilution wird VO_2I angebotsabhängig und fällt stark ab; der kritische Hämatokrit ist nach Definition erreicht. Ungefähr 5 Minuten später treten im EKG ischämie-typische Veränderungen auf und der Meßzeitpunkt Hkt_{krit} wird vollzogen.

VO_2 -Angebotsabhängigkeit mag einer manifesten Myokardischämie am kritischen Hämatokrit um wenige Minuten vorausgegangen sein.

Der deutliche VO_2I -Abfall am kritischen Hämatokrit wurde bei allen Tieren der HSA-Gruppe beobachtet. Eine Einschränkung der Gewebeoxygenierung fand sich schon vorher: Die direkte und sensitive Messung des Gewebe-Sauerstoffpartialdruckes auf der Oberfläche von Leber (Abb. 3.11) und Skelettmuskel (Abb. 3.12) ergab bei Hämatokrit 9% einen leicht erhöhten Anteil hypoxischer Werte < 10 mmHg sowie eine diskrete Linksverschiebung und Verbreiterung der Summenhistogramme; dieser Trend setzte sich bis Hkt_{krit} fort. Am kritischen Hämatokrit war vor allem die Oxygenierung des Skelettmuskels deutlich verschlechtert: Der mediane Gewebe- pO_2 war auf ~25% reduziert und der Anteil hypoxischer Werte auf > 50% erhöht. Die Messung auf der

Leberoberfläche ergab am kritischen Hämatokrit einen auf > 30% erhöhten Anteil der hypoxischen Werte, einen auf ~50% gesunkenen medianen Gewebe-pO₂ sowie ein verbreitertes Summenhistogramm. Auch im Splanchnikusgebiet wurden Anzeichen der Gewebehypoxie sichtbar: Die gastro-intestinale Sauerstoffaufnahme fiel bis zum kritischen Hämatokrit auf ~50% des Ausgangswertes ab (p<0,05). Der pH-Wert der Magenmukosa nahm aufgrund der verschlechterten Oxygenierung bis auf 7,13 am kritischen Hämatokrit ab (n.s.). Die offensichtlich ausgeprägte Gewebehypoxie am kritischen Hämatokrit äußerte sich auch durch den massiven Anstieg der Serum-Laktatkonzentration und das ausgeprägte arterielle Basendefizit (beide Parameter p<0,05).

3.7.2 Ergebnisse der DCLHb-Gruppe

In der DCLHb-Gruppe war die Oxygenierung der Gewebe erhalten, obwohl der in der HSA-Gruppe als kritisch identifizierte Hämatokritwert (6%) unterschritten war. Zwar nahm auch in der DCLHb-Gruppe die Sauerstoffextraktionsrate im Gewebe signifikant bis auf 67% bei Hämatokrit 1% zu, der gemischt-venöse Sauerstoffgehalt war aber selbst bei Hämatokrit 1% noch mehr als doppelt so hoch wie in der HSA-Gruppe bei Hkt_{krit} (p<0,05). Auffällig war der hohe VO₂I-Anteil von an DCLHb gebundenem Sauerstoff: Bei Hämatokrit 1% lieferte DCLHb mehr als 90% des aufgenommenen Sauerstoffes (p<0,05). Bis Hämatokrit 1% nahm VO₂I aufgrund des hohen Sauerstoffangebotes und der effektiven Sauerstoffabgabe im Gewebe nur auf ~80% ab, wobei die etwas ausgeprägtere Verringerung unterhalb Hämatokrit 4% auffällt (p<0,05).

Die direkte Messung der Gewebe-Sauerstoffpartialdrücke ergab in der DCLHb-Gruppe bis einschließlich Hämatokrit 4% keine Anzeichen für einen Sauerstoffmangel; erst bei Hämatokrit 2% offenbarten die auf der Oberfläche von Leber und Skelettmuskel gemessene Linksverschiebung des Summenhistogramms und die Reduktion des medianen Gewebe-pO₂ auf ~50% des Ausgangswertes eine beginnende Gewebehypoxie. Der in der HSA-Gruppe bei Hkt_{krit} gemessene Anteil hypoxischer Werte wurde aber bis Hämatokrit 1% weder auf der Leber- noch auf der Skelettmuskeloberfläche erreicht.

Als Ausdruck einer Hypoxie im Splanchnikusgebiet fiel der pH-Wert der Magenmukosa bei Hämatokrit 1% auf 7,06 ab (n.s.). Die Sauerstoffaufnahme im Splanchnikusgebiet war jedoch ebenso wie VO₂I nur auf ~80% reduziert (n.s.). Laktatanstieg und signifikant erhöhter Pufferbasenverbrauch waren im Vergleich zur HSA-Gruppe geringer ausgeprägt, deuteten aber ebenfalls auf die beginnende Gewebehypoxie hin.

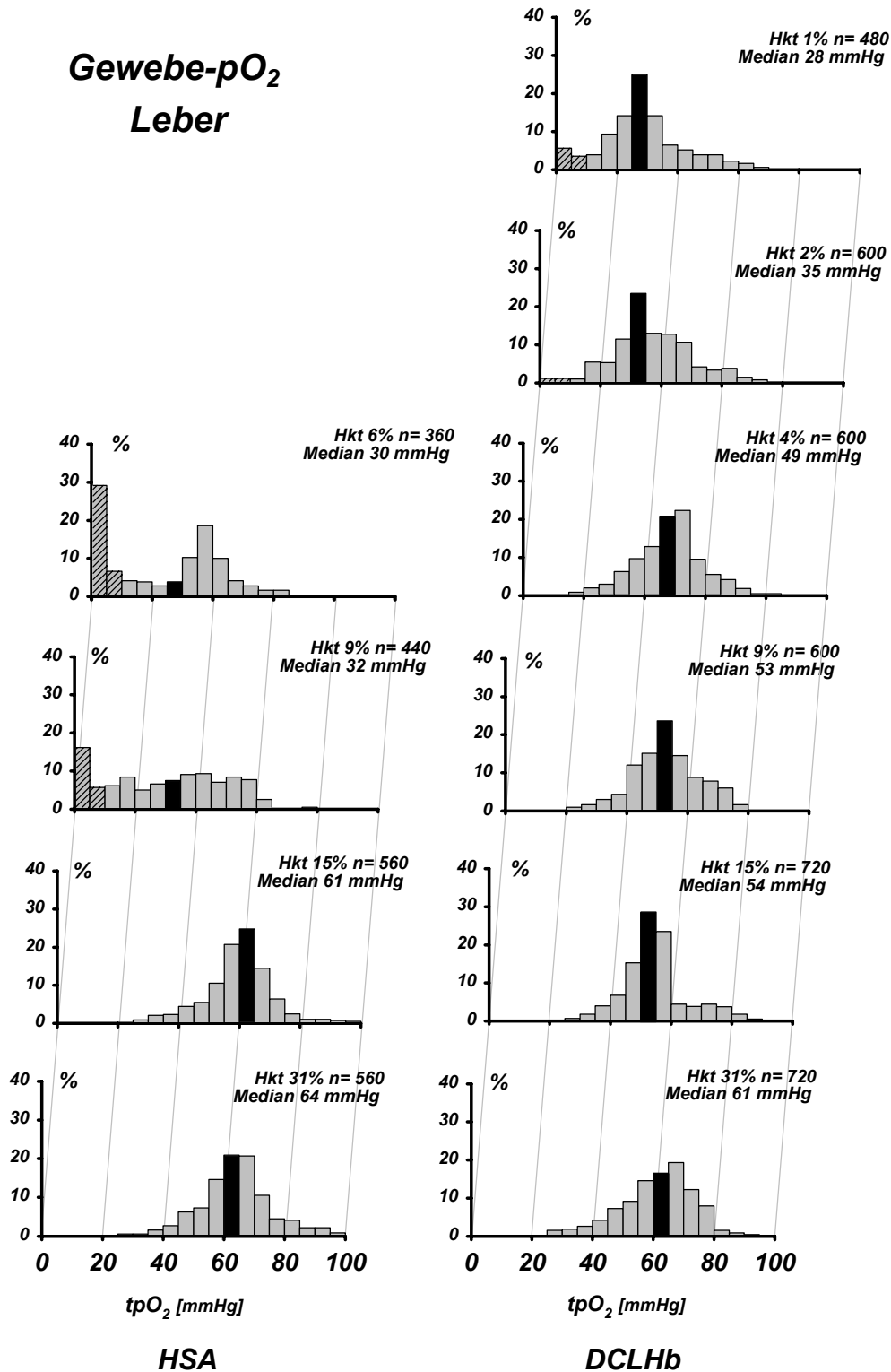


Abb. 3.11: Lokaler Gewebe-pO₂ auf der Leber-Oberfläche.

Summenhistogramme aller Gewebe-pO₂ Einzelwerte (tpO₂) zu jedem Meßzeitpunkt in der HSA-Gruppe (linke Seite) und der DCLHb-Gruppe (rechte Seite); die Meßzeitpunkte sind von unten nach oben angeordnet.

Jedes Histogramm repräsentiert alle gemessenen tpO₂-Werte, eingeteilt in Klassen von 5 mmHg. Jeder Balken auf der Abszisse repräsentiert eine Klasse, seine Höhe die relative Häufigkeit der Werte in dieser Klasse. Der Median ist schwarz markiert, die hypoxischen Werte sind schraffiert.

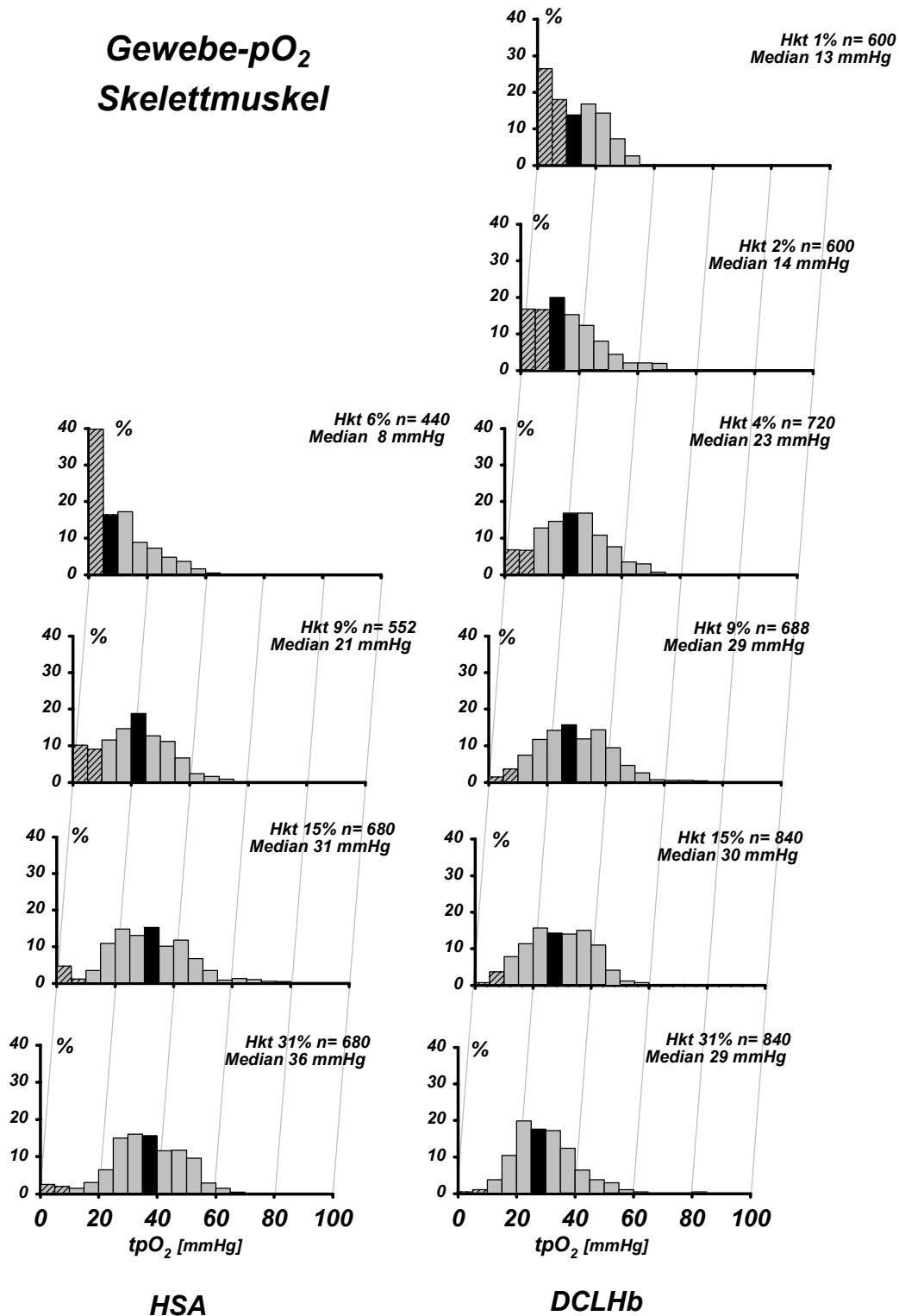


Abb. 3.12: Lokaler Gewebe-pO₂ auf der Skelettmuskel-Oberfläche.

Summenhistogramme aller Gewebe-pO₂ Einzelwerte (tpO₂) zu jedem Meßzeitpunkt in der HSA-Gruppe (linke Seite) und der DCLHb-Gruppe (rechte Seite); die Meßzeitpunkte sind von unten nach oben angeordnet.

Jedes Histogramm repräsentiert alle gemessenen tpO₂-Werte, eingeteilt in Klassen von 5 mmHg. Jeder Balken auf der Abszisse repräsentiert eine Klasse, seine Höhe die relative Häufigkeit der Werte in dieser Klasse. Der Median ist schwarz markiert, die hypoxischen Werte sind schraffiert.

3.7.3 Zusammenfassung der Ergebnisse der Gewebeoxygenierung

- In der HSA-Gruppe war am kritischen Hämatokrit ein massiver Abfall der globalen und gastro-intestinalen Sauerstoffaufnahme zu beobachten. In der DCLHb-Gruppe dagegen verringerten sich im Versuchsverlauf sowohl VO_2I als auch $S-VO_2I$ bis Hämatokrit 1% nur gering.
- Der massive VO_2I -Abfall in der HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit war von einer ausgeprägten Gewebehypoxie mit Laktatazidose, erhöhtem Pufferbasenverbrauch und erniedrigtem pH-Wert der Magenmukosa begleitet; in der DCLHb-Gruppe traten ähnliche Veränderungen erst bei Hämatokritwerten $< 4\%$ und in abgeschwächter Form auf.
- In der HSA-Gruppe ergab die direkte Messung der Gewebesauerstoffpartialdrücke von Leber und Skelettmuskel schon bei Hämatokrit 9% erste Anzeichen für einen Sauerstoffmangel, der sich bis zum kritischen Hämatokrit verstärkte. Bei den DCLHb-Tieren wurden erst unterhalb Hämatokrit 4% niedrigere Gewebe- pO_2 -Werte gemessen, die aber selbst bei Hämatokrit 1% noch besser waren als in der HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit.
- DCLHb gab den transportierten Sauerstoff effektiv an das Gewebe ab; bei Hämatokrit 1% belief sich der Anteil des von DCLHb transportierten Sauerstoffes an der Sauerstoffaufnahme auf $> 90\%$.

4 Diskussion

4.1 Herleitung der Fragestellung

Ziel unserer Studie war es zu klären, ob eine akute normovolämische Hämodilution (ANH) unter Verwendung von DCLHb bis in tiefere Hämatokrit-Bereiche ohne Gewebehypoxie ausgedehnt werden kann, als es mit Hilfe einer Austauschlösung ohne spezifische sauerstofftransportierende Eigenschaften möglich ist. Warum aber ist es von Interesse, die ANH unter Verwendung von DCLHb auszudehnen? Der Grund ist die bessere Toleranz des Patienten gegenüber der Verdünnungsanämie. Je tiefer der erzielte Hämatokrit, desto weniger Erythrozyten pro Einheit werden bei intraoperativen Blutverlusten verloren. In der Folge könnte die intraoperative Transfusion von Fremdblut verzögert oder gänzlich vermieden werden; die Effektivität der ANH bei der Einsparung von Fremdblut wäre verbessert.

4.1.1 Toleranz der Akuten normovolämischen Hämodilution

Die Reduktion der Erythrozytenmasse während ANH ist von kompensatorischen Veränderungen der Makro- und Mikrozirkulation begleitet, die eine limitierte Reduktion des Hämatokrit erlauben, ohne die Sauerstoffversorgung der Organe zu beeinträchtigen. Diese kompensatorischen Vorgänge bestehen in einer Erhöhung des Herzzeitvolumens und der gesteigerten Sauerstoffextraktion im Gewebe (vgl. 1.3.1). Dem Herz kommt während der ANH eine wichtige Stellung zu, da es den Großteil der Kompensation durch Erhöhung des Herzzeitvolumens leistet. Bei der Einsparung von Fremdbluttransfusionen wird die Effektivität der ANH aus diesem Grund maßgeblich durch die myokardiale Funktion bestimmt.

Das Herz weist während ANH aufgrund der vermehrten kompensatorischen Arbeit selbst einen erhöhten Sauerstoffbedarf auf³³. Im Gegensatz zu anderen Organen kann die Sauerstoffextraktionsrate im Herzmuskel kaum gesteigert werden, da das koronarvenöse Blut bereits in Ruhe nur noch zu 30% mit Sauerstoff gesättigt ist⁷¹. Das Herz muß frühzeitig seine Koronarreserve in Anspruch nehmen, um das myokardiale Sauerstoffangebot durch eine erhöhte Perfusion zu verbessern. Der koronare Blutfluß kann aufgrund der Koronarreserve auf bis zu 600% gesteigert werden^{8;161}; Voraussetzung dafür ist allerdings die uneingeschränkte Funktion der Koronararterien: LEVY et al. untersuchten an anästhesierten Hunden den Einfluß einer künstlich

induzierten kritischen Koronarstenose auf die myokardiale Kompensationsfähigkeit während ANH⁹¹. Die Tiere mit eingeschränkter Koronarreserve verstarben bei Hämatokrit 17%, die Tiere der Kontrollgruppe dagegen erst bei Hämatokrit 9% im Herzversagen.

Das Ausmaß der Hämodilution (Hämodilutionsgrad) läßt sich anhand von Hämoglobinkonzentration bzw. Hämatokritwert abschätzen; diese Werte erlauben näherungsweise Rückschlüsse auf das globale Sauerstoffangebot. Während ANH darf eine Myokardischämie auf keinen Fall auftreten; stattdessen muß der gewählte Hämodilutionsgrad stets eine ausreichende Reserve der Sauerstofftransportkapazität beinhalten, um das kritische myokardiale Sauerstoffangebot nicht zu unterschreiten. Dabei müssen auch unerwartete intraoperative Blutverluste oder ein frühzeitiges Versagen der Kompensationsmechanismen einkalkuliert werden. Das im klinischen Einsatz benötigte Mindest-Sauerstoffangebot zur Vermeidung von Sauerstoffmangel variiert von Patient zu Patient.

Eine Literatur-Analyse der Jahre 1970–1993 ergab, daß 21 von 21 anämiebedingt verstorbenen Patienten eine Hämoglobinkonzentration von ≤ 5 g/dl aufwiesen¹⁶⁵. Allerdings tolerierten herzgesunde Probanden und Patienten eine ANH bei einem systemischen Sauerstoffangebot von 7–11 ml/min/kg bis zu einer Hämoglobinkonzentration von 5 g/dl ohne Einschränkung der Gewebesauerstoffversorgung^{93;175}. Kreislaufgesunde Kinder im Alter von 13 Jahren, die sich orthopädischen Operationen unterzogen, wiesen bei einer Hämoglobinkonzentration von 3 g/dl und einem Sauerstoffangebot von 260 ml/min/m² weder Gewebehypoxie noch myokardiale Funktionseinschränkungen auf⁴⁶.

Einen Anhalt für das tatsächliche kritische Sauerstoffangebot des Menschen fanden VAN WOERKENS et al. im Jahr 1992 während einer totalen Gastrektomie, die bei einem Zeugen Jehovah's durchgeführt wurde¹⁶². Massive intraoperative Blutverluste durften auf Anweisung des Patienten nicht mit Fremdblutkonserven ausgeglichen werden; stattdessen mußten hyperonkotische Volumenersatzmittel infundiert werden, die eine extreme Hämodilution zur Folge hatten. Der Patient verstarb wenige Stunden nach der Operation bei einer Hämoglobinkonzentration von 4 g/dl; die Analyse des systemischen Sauerstofftransportes ergab ein kritisches Sauerstoffangebot von 184 ml/min/m² bzw. 4,9 ml/min/kg.

Die heute in der Klinik akzeptierten Grenzwerte für den Hämodilutionsgrad berücksichtigen eine ausreichende Sicherheitsreserve in Hinblick auf das individuelle kritische Sauerstoffangebot. Die empfohlene minimale Hämoglobinkonzentration während einer Anästhesie bei Patienten mit uneingeschränkter kardiovaskulärer Funktion beträgt ~ 7 g/dl, entsprechend einem Hämatokrit von $\sim 21\%$ ^{1;34}; postoperativ sollte aufgrund eines erhöhten Sauerstoffbedarfs ein Hämatokrit von $\geq 27\%$ angestrebt werden. Diese Grenzwerte setzen allerdings Normovolämie voraus: Schon bei Reduktion des Blutvolumens um 25% sind die Kompensationsmechanismen der ANH eingeschränkt und der kritische Hämatokrit wird früher erreicht als bei Normovolämie¹⁵¹.

Da die bei der ANH beobachteten Kompensationsmechanismen eine gute kardiozirkulatorische Funktion voraussetzen, wird die Technik bei Patienten mit instabiler Angina pectoris überhaupt nicht, bei Patienten mit eingeschränkter Ejektionsfraktion oder Zustand nach Myokardinfarkt nur nach sorgfältiger Evaluation und bei geringerem Hämodilutionsgrad angewendet. Zwar wird eine moderate Hämodilution mit Zielhämatokrit um 30% von älteren Patienten und Patienten mit koronarer Herzerkrankung gut toleriert^{141;146;147;163}, sie ist allerdings bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom bzw. mit hochgradigen Koronarstenosen kontraindiziert. Die Fortsetzung der ANH auf Hämatokritwerte $< 28\%$ erhöht das Risiko für myokardiale Ischämien und die Morbidität und Mortalität in diesem Patientenkollektiv deutlich^{73;114}.

4.1.2 Effektivität der Akuten normovolämischen Hämodilution

Das Konzept der ANH sieht vor, frisches Vollblut für die spätere Retransfusion verfügbar zu machen. Unter dieser Bedingung verliert der Patient bei intraoperativen Blutungen verdünntes Blut und damit weniger Erythrozyten pro Einheit als ohne vorangegangene Hämodilution. Das gesammelte Blut kann dem Patienten während oder nach der Operation transfundiert werden, vorzugsweise aber erst nachdem die chirurgischen Blutungen unter Kontrolle gebracht worden sind. Führen intraoperative Blutverluste zur Unterschreitung der vorgegebenen Hämatokritgrenzen, wird in der Regel sofort mit der Retransfusion des autologen ANH-Blutes begonnen. Dadurch können die während der ANH gewonnenen Eigenblut-Konserven allerdings noch vor der Blutstillung aufgebraucht werden, sodaß anschließend Fremdblutkonserven zur Aufrechterhaltung einer adäquaten Gewebeoxygenierung transfundiert werden müssen.

Die Einsparung von Fremdbluttransfusionen während ANH nimmt mit steigendem ausgetauschten Blutvolumen und intraoperativen Blutverlust zu. In der Literatur finden sich Berichte, daß die ANH bei Ziel-Hämatokritwerten $> 25\%$ zwar relativ sicher einsetzbar, aber bei der Reduktion von transfundierten Fremdbluteinheiten ineffektiv ist^{18;20;44}. Dagegen kann die extreme Hämodilution auf Hämatokritwerte $< 20\%$ bei gesunden Patienten mit hohem erwarteten Blutverlust eine signifikante Reduktion der Fremdbluttransfusionen zur Folge haben¹³¹. In einer mathematischen Analyse berechnete WEISKOPF, daß bei Operationen ohne Hämodilution die Gabe von Fremdblut nach intraoperativem Blutverlust von 4,1 l nötig wird, wogegen bei vorangegangener Hämodilution auf Hämatokrit 20% bereits 6,3 l und bei einem Zielhämatokrit von 15% sogar 10 l Blutverlust ohne Fremdblutgabe toleriert werden könnten¹⁷³.

4.1.3 Einsatz von Hämoglobinlösungen während ANH

Durch Spendermangel und Behandlung transfusions-assoziiierter Folgeerkrankungen ist im Transfusionswesen eine Kostenexplosion zu erwarten. Daher kommt der Entwicklung von künstlichen Sauerstoffträgern enorme Bedeutung zu: Bei industrieller Massenproduktion könnten derartige Substanzen kostengünstig und unabhängig vom Spendeverhalten der Bevölkerung vorgehalten und verabreicht werden. Vor allem die kostenträchtigen infektiologischen und immunologischen Voruntersuchungen der Fremdblutkonserven könnten entfallen. Im Ergebnis wäre die Versorgung von Patienten maßgeblich verbessert.

Hämoglobinlösungen beeindrucken bei der Anwendung durch die Fähigkeit, Sauerstoff zu transportieren und an das Gewebe abzugeben. Trotz reduziertem Hämatokrit sollte das Sauerstoffangebot bei Hämodilution mit Hämoglobinlösungen aufgrund der sauerstofftransportierenden Eigenschaften verbessert und eine ANH auch bis auf tiefere Hämatokritwerte fortgesetzt werden können. Dieser Effekt war in Tierexperimenten immer dann nachweisbar, wenn durch normovolämische Hämodilution sehr niedrige Hämatokritwerte erreicht wurden.

SLANETZ et al. konnten bei anästhesierten Schafen mit einer polymerisierten Hämoglobinlösung bovinen Ursprungs eine Hämodilution bis auf Hämatokritwerte von 5–6% durchführen, ohne daß Anzeichen für eine Einschränkung der Sauerstoffaufnahme in das Gewebe zu beobachten waren¹⁴⁴.

STANDL et al. tauschten ebenfalls mit einer polymerisierten Rinder-Hämoglobinlösung fast das gesamte Blut anästhesierter Hunde aus und stellten selbst bei Hämatokritwerten von 2-5% keine Einschränkung der Hämodynamik oder der Gewebeoxygenierung fest¹⁴⁹. In Bezug auf diese Ergebnisse müßte die Ausdehnung der ANH in tiefere Hämatokritbereiche auch mit DCLHb als Volumenersatz möglich sein.

Aus diesem Grund untersuchten wir, ob DCLHb während extremer Hämodilution 1) die Sauerstofftransportkapazität erhöhen kann, 2) das Herz als zentrales Organ der Hämodilution ausreichend mit Sauerstoff versorgt und 3) der transportierte Sauerstoff auch effektiv an das Gewebe abgegeben wird.

4.2 Diskussion von Material und Methodik

4.2.1 Experimentelles Modell

Unsere Untersuchungen wurden an Schweinen durchgeführt, die dem Menschen nach anatomischen und physiologischen Gesichtspunkten sehr ähnlich sind^{39;172}, da uns neben Sauerstofftransport und Gewebeoxygenierung vor allem die Perfusion und Funktion des Herzens interessierte. Stoffwechsel, Blutdruck, Herzfrequenz sowie das Herzzeitvolumen und dessen Verteilung auf die Organe sind dem Menschen ebenso wie die physiologischen Reaktionen auf die Verdünnungsanämie während ANH sehr gut vergleichbar¹⁵⁴. Die von uns verwendeten Hausschweine waren zum Zeitpunkt des Versuchs nur wenige Monate alt, sodaß von einer uneingeschränkten Herz-Kreislauf-Funktion ausgegangen werden kann. Neben Spezies und Herz-Kreislauf-Funktion wird die individuelle Toleranz für eine Verdünnungsanämie vom Alter, dem verwendeten Narkoseverfahren und der inspiratorischen Sauerstoffkonzentration sowie von der Körpertemperatur beeinflusst.

Bei Allgemeinanästhesie sind kreislaufphysiologische Untersuchungen in ihrer Aussagekraft limitiert. Die meisten Anästhetika beeinflussen die zu messenden hämodynamischen Parameter entweder durch ihre direkte Wirkung auf die Herzfunktion oder über die Modulation von zerebrovaskulären Reflexen. Der typische Herzzeitvolumen-Anstieg während ANH ist unter Fentanyl/Enfluran- bzw. Fentanyl/NO₂/Isofluran-Narkose abgeschwächt^{12;75}. Deshalb wählten wir in unserem Experiment eine intravenöse Narkose mit Diazepam und Morphin. Zwar wirken sowohl Benzodiazepine als auch Opioide kreislaufdepressiv, indem sie unter anderem

Herzfrequenz, Herzzeitvolumen und arteriellen Blutdruck senken⁹⁵. Andererseits führt das verwendete Muskelrelaxans Pancuronium zu Vagolyse¹²⁶, sodaß bei unseren Untersuchungen eine Beeinflussung der Hämodynamik minimal gehalten wurde^{9,95}.

Eine Veränderung der hämodynamischen Meßdaten kann auch durch die Beatmungsmodalitäten bewirkt werden. Wir entschieden uns für die Beatmung der Versuchstiere mit Raumluft (FiO_2 0,21), da bei erhöhtem inspiratorischen Sauerstoffanteil eine verminderte Ausprägung der Kompensationsmechanismen während ANH beschrieben wurde²⁷: Eine Untersuchung an anästhesierten Hunden ergab unter Beatmung mit einem inspiratorischen Sauerstoffanteil von 100% eine vollständige Rückkehr des zuvor kompensatorisch erhöhten Herzzeitvolumens auf Ausgangswerte durch einen Anstieg des peripheren Gefäßwiderstandes⁵⁸.

Der kritische Hämatokrit als Grenze der Kompensationsfähigkeit für die während ANH induzierte Verdünnungsanämie kann trotzdem sehr gut reproduziert werden, solange Spezies, Alter, Herz-Kreislauf-Funktion, Narkoseverfahren, FiO_2 und Körpertemperatur vergleichbar bleiben; dies wurde in einer weiteren Studie unserer Arbeitsgruppe bestätigt⁷⁸: Am gleichen Modell des anästhesierten Hausschweins wurde der kritische Hämatokrit nach Hämodilution mit Hydroxyethylstärke (6% HAES) bei einem Hämatokritwert von 7,2% festgestellt (Abb. 4.1); sowohl der kritische Hämatokrit als auch das kritische Sauerstoffangebot zeigten in der zitierten Studie eine hohe Übereinstimmung mit den in unserer Untersuchung gemessenen Werten. Als Zeichen der Sauerstoffmangelversorgung waren eine Zunahme der hypoxischen Gewebe-Sauerstoffpartialdrücke auf dem Skelettmuskel (Abb. 4.2) sowie ein deutlicher Abfall von koronarem Perfusionsdruck und Endo/Epi-Relation zu beobachten (Abb. 4.1)⁷⁸.

4.2.2 Erkennung des kritischen Hämatokrits durch Online-EKG-Analyse

Der kritische Hämatokrit ist physiologisch als der Hämatokritwert definiert, bei dem das systemische Sauerstoffangebot nicht mehr den Bedarf deckt ($DO_{2\text{ krit}}$). Die Bestimmung von $DO_{2\text{ krit}}$ als Zeitpunkt der beginnenden Angebotsabhängigkeit der Sauerstoffaufnahme ist allerdings nicht direkt möglich, sondern muß nachträglich durch Anpassung der gemessenen VO_2 - und DO_2 -Werte an mathematische Modelle erfolgen¹³⁴. Um die pathologische Sauerstoff-Angebotsabhängigkeit und damit den kritischen Hämatokrit schon während der Hämodilution erkennen zu können, muß der Hkt_{krit} an klinischen Verlaufsparemern erkannt und definiert werden.

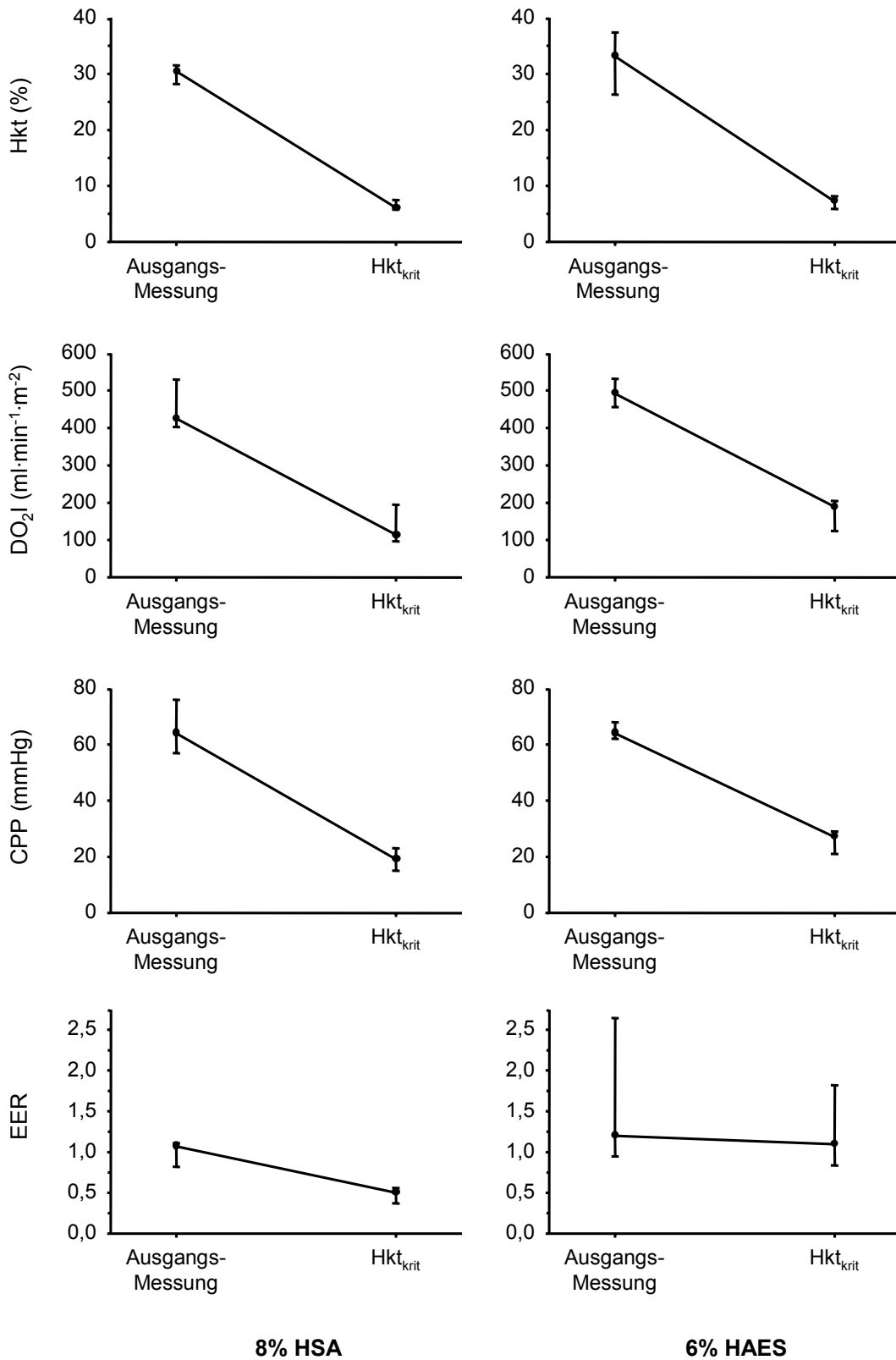


Abb. 4.1: Darstellung von Hämatokrit (Hkt), globalem Sauerstoff-Angebotsindex (DO₂I), koronarem Perfusionsdruck (CPP) und Endo/Epi-Relation (EER) nach extremer Hämodilution bis zum kritischen Hämatokrit mit 8% HSA (unsere Untersuchung; links) bzw. mit 6% HAES⁷⁸ (rechts).

Dargestellt sind jeweils Werte der Ausgangsmessung und der Meßzeitpunkt bei Erreichen des kritischen Hämatokrits.

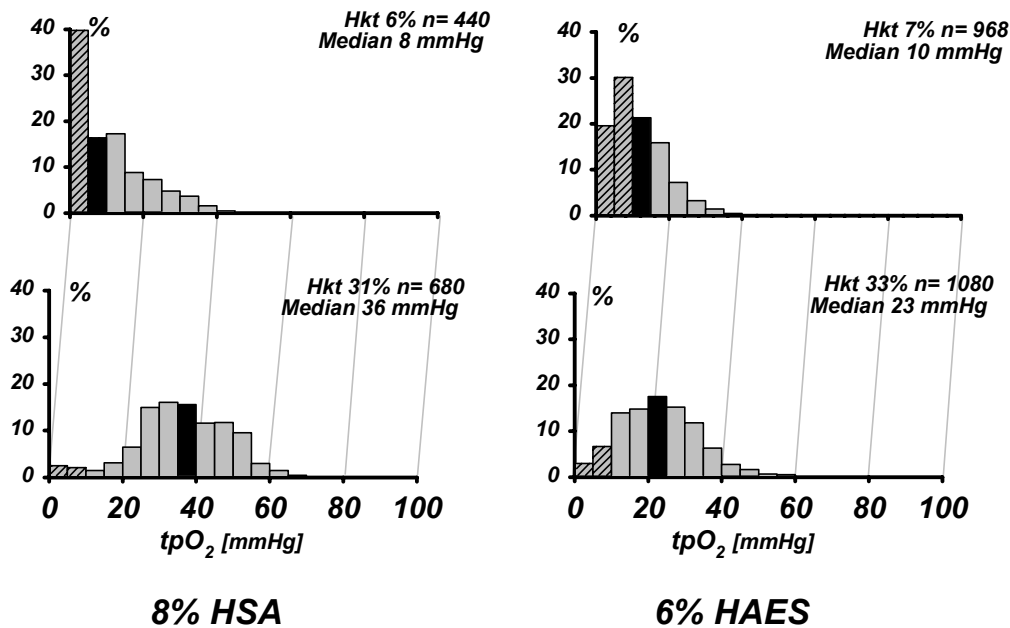


Abb. 4.2: Lokaler Gewebe-pO₂ auf der Skelettmuskel-Oberfläche nach extremer Hämodilution bis zum kritischen Hämatokrit mit 8% HSA (unsere Untersuchung; links) bzw. mit 6% HAES⁷⁸ (rechts).

Dargestellt sind jeweils die Summenhistogramme aller Gewebe-pO₂ Einzelwerte (tpO₂) der Ausgangsmessung (unten) und nach Erreichen des kritischen Hämatokrits (oben). Jedes Histogramm repräsentiert alle gemessenen tpO₂-Werte, eingeteilt in Klassen von 5 mmHg. Jeder Balken auf der Abszisse repräsentiert eine Klasse, seine Höhe die relative Häufigkeit der Werte in dieser Klasse. Der Median ist schwarz markiert, die hypoxischen Werte sind schraffiert.

In unserer Untersuchung definierten wir Hkt_{krit} durch das Auftreten einer Myokardischämie: Übersteigt der myokardiale Sauerstoffbedarf bei erhöhter Koronardurchblutung während ANH das Angebot, entsteht Myokardischämie mit den Folgen einer Verminderung der myokardialen Pumpfunktion und des Herzzeitvolumens¹¹⁸; durch ischämisches Herzversagen tritt der Tod ein¹⁷. Die Sauerstoffmangelversorgung löst im Myokard eine Kaskade aus, die mit der Veränderung metabolischer Parameter und zunehmend anaerobem Stoffwechsel beginnt, sich zunächst in diastolischen Funktionseinschränkungen und einem Anstieg des linksventrikulären end-diastolischen Füllungsdruckes (LVEDP) fortsetzt, bevor zuletzt eine Einschränkung der systolischen Pumpfunktion und EKG-Veränderungen entstehen³⁰. Die EKG-Analyse hat sich tierexperimentell¹⁷¹ und am Menschen⁹⁰ zur Überwachung einer Myokardischämie bewährt. Auf eine Myokardischämie hinweisende EKG-Veränderungen manifestieren sich in Erregungsrückbildungsstörungen und – vorwiegend ventrikulären – Arrhythmien (vgl. 2.6).

Die Online-EKG-Analyse stellt eine schnelle und valide Methode dar, das Erreichen des kritischen Hämatokrits zu Überwachen: Einerseits ist der kritische Hämatokrit – wie beschrieben – in dem verwendeten Modell am anästhesierten Hausschwein gut reproduzierbar. Andererseits konnte der in unserer Untersuchung durch ischämie-typische EKG-Veränderungen definierte kritische Hämatokrit retrospektiv durch eine ausgeprägte Innenschicht-Ischämie, eine vom Angebot abhängige Sauerstoffaufnahme sowie eine deutliche Gewebhypoxie bestätigt werden.

4.2.3 Verwendung von 8% HSA als Kontrollsubstanz

In der Kontrollgruppe wurde eine adaptierte humane Serumalbumin-Lösung (HSA) verwendet, um die physikalisch-chemischen Eigenschaften von DCLHb so weit wie möglich zu imitieren. Allerdings fehlen der HSA-Lösung die für DCLHb charakteristischen sauerstofftransportierenden und vasokonstriktorisches Eigenschaften. Eine Trennbarkeit dieser Eigenschaften wäre wünschenswert gewesen, ist aber nach heutigem Stand der Forschung nicht möglich. Zwar läßt sich die Sauerstoffbindungskapazität im Hämoglobin durch Oxidation zu Methämoglobin stark verringern, allerdings sind damit auch die vasopressorischen Effekte einer auf diese Weise hergestellten Methämoglobinlösung nur noch in sehr geringem Ausmaß vorhanden^{47;129;136}. Auch ist es bisher nicht gelungen, die vasokonstriktorisches Wirkung von DCLHb pharmakologisch zu imitieren: Die Stimulation von α -Adrenozeptoren mit Hilfe von Noradrenalin führte im Vergleich zu DCLHb trotz identischem Blutdruckanstieg zu unterschiedlichen Verteilungsmustern der regionalen Organdurchblutung¹³⁸.

4.2.4 Myokardiale Perfusion und -funktion

Zur Quantifizierung einer regionalen Myokardischämie gilt in der experimentellen Medizin die Mikrosphärenmethode – mit radioisotop-markierten⁶⁸, farbigen⁶² bzw. fluoreszierenden Mikrosphären^{63;84} – als Goldstandard. Die in unseren Experimenten verwendeten Mikrosphären, die zuvor homogen im Blutstrom verteilt worden waren, bewirkten während der Injektion in den linken Ventrikel keine Veränderungen von Blutdruck oder Herzfrequenz. Unter diesen Voraussetzungen ist die Beurteilung des nutritiven myokardialen Blutflusses mit hoher Genauigkeit möglich^{21;62;84}.

Die Auswirkungen von Veränderungen der myokardialen Perfusion während Hämodilution auf die systolische Myokardfunktion beurteilten wir mit Hilfe der

maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit des linksventrikulären Myokards (dp/dt_{max}) und der subendokardialen Segmentverkürzungsfraction (LV-VF).

Die Messung von LV-VF mittels Mikrosonometrie stellt eine exakte und bewährte Methode zur Beurteilung der myokardialen Kontraktilität dar. Bereits die Reduktion des endomyokardialen Blutflusses um 10-20% ist mit einer verringerten subendokardialen Segmentverkürzungsfraction verbunden^{69;164}. Durch die Anordnung der Ultraschallkristalle senkrecht zur langen Herzachse läßt LV-VF Rückschlüsse auf die linksventrikuläre Auswurfraction und somit auf die myokardiale Pumpfunktion zu¹⁴⁸.

Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit des linksventrikulären Myokards ist abhängig von Veränderungen der Vorlast (LVEDP), der Nachlast (SVRI) und der Herzfrequenz¹⁶⁹. Allerdings waren während des gesamten Versuchsablaufs in keiner der beiden Gruppen Veränderungen von linksventrikulärem end-diastolischem Füllungsdruck oder Herzfrequenz zu beobachten, die eine Einschränkung der Aussagekraft von dp/dt_{max} zur Folge hätten. Einflüsse der in der HSA-Gruppe verminderten, in der DCLHb-Gruppe erhöhten Nachlast sind aufgrund der ausgeprägten Veränderungen der Kontraktilitäts-Parameter ebenfalls nicht anzunehmen. Gleiches gilt auch für die linksventrikuläre Segment-Verkürzungsfraction.

4.2.5 Sauerstofftransport in der DCLHb-Gruppe

Die Unterscheidung von nativem porcinen Hämoglobin und DCLHb bei der Berechnung der Sauerstofftransportparameter in der DCLHb-Gruppe machte die separate Analyse der zu den Meßzeitpunkten in der DCLHb-Gruppe gesammelten Blutproben erforderlich. Bei der oxymetrischen Analyse von Hämoglobinlösungen können Interferenzen auftreten, die durch speziesspezifische Unterschiede oder chemische Modifikationen des Hämoglobinmoleküls bedingt sind^{3;77}. Mit dem von uns verwendeten CO-Oxymeter IL 682 läßt sich die Gesamt-DCLHb-Konzentration nach Eichung mit humanem Hämoglobin aber sehr genau messen³, da die Absorptionsspektren von DCLHb und humanem, aus Erythrozyten gewonnenem Hämoglobin gleichartig verlaufen⁷⁷. Dies wird durch die sehr hohe Übereinstimmung zwischen den berechneten Hb_{Porcin} -Konzentrationen in der DCLHb-Gruppe und den zum gleichen Meßzeitpunkt gemessenen Hämoglobinkonzentrationen der HSA-Gruppe bestätigt. Interferenzen aufgrund der in der DCLHb-Gruppe erhöhten plasmatischen Hämoglobin-Konzentration können bei den von uns analysierten Blutgas-Parametern

pH, pO_2 , pCO_2 , Basenüberschuß, Bikarbonat-Konzentration sowie der Serum-Laktatkonzentration ausgeschlossen werden¹⁷⁷.

Hämoglobinlösungen enthalten einen im Vergleich zu Vollblut erhöhten Methämoglobin-Anteil, da ihnen natürliche Anti-Oxidantien fehlen, die Methämoglobin zu Oxy-Hämoglobin reduzieren; in lange gelagerten DCLHb-Einheiten wurde ein Met-DCLHb-Anteil von bis zu 17% beobachtet³. Methämoglobin bindet keinen Sauerstoff und reduziert in dieser Konzentration die Wirksamkeit von Hämoglobinlösungen bezüglich der Gewebeoxygenierung deutlich⁹⁴.

In unserer Untersuchung wurde die Met-DCLHb-Konzentration berechnet; die direkte Messung war nicht möglich, nachdem sich in den Blutproben in der Zeit bis zur nachträglichen Analyse mit dem CO-Oxymeter zusätzliches Met-DCLHb gebildet hatte. Durch die Berücksichtigung von Met-DCLHb bei der Ermittlung der Konzentration von sauerstofftransportierendem DCLHb wurde eine Überschätzung des durch DCLHb erbrachten Beitrags zu Sauerstofftransport und Gewebeoxygenierung vermieden.

4.2.6 Globale und regionale Gewebeoxygenierung

Die direkte Bestimmung der regionalen Gewebesauerstoffversorgung ermöglicht die Beurteilung des Sauerstofftransports von der Atemluft bis in die Zellen des Gewebes. Die in unserer Untersuchung durchgeführte sensitive Messung des Gewebe- pO_2 mit Mehrdraht-Oberflächenelektroden wird von Störgrößen, unter anderem dem Sauerstoff-Eigenverbrauch der Sonden, beeinflusst. Der gemessene Wert kann dadurch erheblich von dem tatsächlichen Sauerstoffpartialdruck des Gewebes abweichen.

Bei den von uns verwendeten Sonden ist der Sauerstoffeigenverbrauch so niedrig, daß er bei der Beurteilung der vorliegenden Ergebnisse vernachlässigt werden kann. Um Störungen der pO_2 -Messung durch fehlerhaft geeichte Elektroden auszuschließen, wurden die Sonden vor jeder Messung nach einem standardisierten Verfahren neu kalibriert. Die den Skelettmuskel umhüllende Muskelfaszie wurde vor den Messungen sorgfältig entfernt und die Sonde mit geringem Druck direkt auf das Muskelgewebe plaziert, um Verfälschungen der Meßdaten durch den niedrigen Sauerstoffverbrauch des Bindegewebes bzw. durch Kompression der Endstrombahn zu vermeiden. Offensichtlich verfälschte Meßwerte, auch durch Lufteinschlüsse oder Plazierung auf einem Gefäß bedingt, wurden durch Online-Überwachung sofort erkannt und verworfen.

Der Sauerstoff ist im Gewebe aufgrund regionaler Perfusions-Änderungen inhomogen verteilt. Der Sauerstoffpartialdruck kann auf kleinem Raum zwischen arteriellem

Maximalwert und Werten < 1 mmHg schwanken. Daher sind weder einzelne tpO_2 -Werte noch Mittelwertberechnungen zur Beurteilung der lokalen Sauerstoffversorgung geeignet. Die von uns verwendeten Mehrdraht-Oberflächenelektroden ermöglichten – im Gegensatz zu polarographischen Stichelektroden – mit acht jeweils $25\ \mu\text{m}$ dünnen Elektroden die Beurteilung der räumlichen Verteilung der Gewebeoxygenierung⁸⁰.

Die Gewebeoxygenierung kann zudem global anhand von Sauerstoffverbrauch, arteriellem Basendefizit und Plasma-Laktatkonzentration beurteilt werden; desweiteren geben gemischt-venöse Sauerstoffsättigungs- und Sauerstoffpartialdruckwerte Aufschluß über die Sauerstoffutilisation im Gewebe. Die gemischt-venöse Sauerstoffsättigung reflektiert die Sauerstoffextraktion im Gewebe und damit einen wichtigen Kompensationsmechanismus des Organismus bei Anämie^{115;155}. Während Hämodilution verändert sich allerdings die Sauerstoffbindungskinetik des Hämoglobins, sodaß Veränderungen von SvO_2 und $O_2\ ER$ nicht direkt auf die Sauerstoffaufnahme im Gewebe schließen lassen. Der gemischtvenöse Sauerstoffpartialdruck ist von dieser Einschränkung nicht betroffen, allerdings läßt er sich wie SvO_2 und $O_2\ ER$ ebenfalls lediglich als Verlaufsparemeter verwenden⁷⁹.

Die Versorgungsqualität des Splanchnikusgebietes beurteilten wir in unseren Versuchen unter Zuhilfenahme von portal-venösem Blutfluß sowie den üblichen Blutgas- und Oxymetrieparametern. In der Pfortader werden bei einem physiologischen Blutdruck von 10-15 mmHg ungefähr zwei Drittel des venösen Rückstroms aus dem Splanchnikusgebiet in die Leber abtransportiert, der Rest fließt über portokavale Anastomosen direkt in die Hohlvenen. Dadurch erlauben die in der Pfortader gemessenen Blutflußwerte und die davon abgeleitete Sauerstoffaufnahme im Splanchnikusgebiet keine direkten Schlüsse auf die quantitative Perfusion und Oxygenierung des gesamten gastro-intestinalen Systems oder einzelner Organe. Allerdings lassen sich Perfusions-Veränderungen sehr gut beobachten und in Verbindung mit den indirekten Parametern der Oxygenierung (Serum-Laktatkonzentration, Sauerstoffextraktionsrate) sowie dem pH-Wert der Magenmukosa (pHi) bewerten. Der pHi-Wert gilt als guter Marker für eine adäquate Gewebeoxygenierung der interstitiellen Magenmukosa⁴⁵. In einer Studie bei abdominalchirurgischen Patienten waren pHi-Werte unterhalb 7,20 auffallend häufig mit gastro-intestinalen Ischämien verbunden¹⁴.

4.3 Diskussion der Ergebnisse

4.3.1 Kritischer Hämatokrit

Nach Hämodilution mit Humanalbumin wurde der kritische Hämatokrit in der HSA-Gruppe bei 6,1% (0,9) erreicht. Die hämodynamische Dekompensation resultierte aus einem ischämiebedingtem myokardialen Funktionsverlust⁸⁹. Bei einem kritischen Sauerstoffangebot ($DO_{2\text{ krit}}$) von 114 ml/min/m² (entsprechend 3,9 ml/min/kg) traten bei allen Tieren ischämietypische ST-Segmentveränderungen und ventrikuläre Arrhythmien auf, die zuletzt nicht mit dem Leben zu vereinbaren waren.

In der DCLHb-Gruppe dagegen wurde Hkt_{krit} bis Hämatokrit 1,2% (0,1) nicht erreicht. Im EKG wurden weder ST-Streckenveränderungen noch Arrhythmien registriert, die mögliche Hinweise auf eine myokardiale Sauerstoffunterversorgung gegeben hätten. Nachträglich konnte eine Myokardischämie bei allen Tieren anhand der im Vergleich zur Ausgangsmessung verbesserten linksventrikulären Perfusions- und Oxygenierungsparameter ausgeschlossen werden.

In der Literatur wurden abhängig von Spezies, Narkoseführung und Austauschlösung unterschiedliche Werte für den kritischen Hämatokrit bzw. das kritische Sauerstoffangebot beschrieben (Tab. 4.1); die in unserer Untersuchung bei den HSA-

Tab. 4.1: Übersicht über Werte für das kritische Sauerstoffangebot ($DO_{2\text{ krit}}$) und den kritischen Hämatokrit (Hkt_{krit}) nach extremer Hämodilution, in Abhängigkeit von Spezies, Anästhesie und Austauschlösung (modifiziert nach HÄBLER u. MESSMER⁵⁷).

Autor	Spezies	Anästhesie	FiO ₂	Austauschlösung	DO _{2 krit} (ml·min ⁻¹ ·kg ⁻¹)	Hkt _{krit} (%)
VAN WOERKENS et al. ¹⁶²	Mensch	Enfluran Fentanyl Pancuronium	0,4	Gelatine	4,9	12
CAIN et al. ²³	Hund	Pentobarbital	0,21	Dextran	9,8	9,8
HAIJACKL et al. ⁶¹	Schwein	Midazolam Suffentanyl Vecuronium	0,3	Hydroxyethylstärke	< 4,34	< 6,5
SCHOU et al. ¹³⁵	Schwein	Fentanyl Ketamin Pancuronium	1,0	Dextran, Ringer-Lösung	10,4	11
RÄSÄNEN et al. ¹²⁵	Schwein	Pentobarbital Pancuronium	0,21	Dextran	12,8	~12
LUBARSKY et al. ⁹⁷	Hase	Fentanyl Pancuronium	0,6	Ringer-Lösung	8,4	-

Tieren festgestellten Werte für $DO_{2\text{krit}}$ und Hkt_{krit} befinden sich innerhalb des dort angegebenen Spektrums.

4.3.2 Kontrolle des Volumenstatus

Das von uns als Ausgangswert gemessene Blutvolumen stimmte sowohl in der HSA- als auch in der DCLHb-Gruppe mit den in der Literatur angegebenen Werten überein¹⁷⁰. In beiden Gruppen wurde während des gesamten Versuchsablaufs zu keinem Zeitpunkt ein im Vergleich zur Ausgangsmessung vermindertes Blutvolumen beobachtet; die kardiozirkulatorischen Kompensationsmechanismen für die Verdünnungsanämie standen damit in beiden Gruppen uneingeschränkt zur Verfügung.

Die wahrscheinlichste Ursache für den leichten Blutvolumen-Anstieg in der HSA-Gruppe ist ein Volumeneffekt der hyperonkotischen HSA-Lösung: Der effektive Filtrationsdruck für eine transkapilläre Volumenpassage hängt größtenteils von den intravasalen und extravasalen hydrostatischen und onkotischen Drücken ab (Starling'sche Gleichung). Kolloide wie HSA verbleiben nach Infusion intravasal und bewirken durch Verringerung des Filtrationsdruckes eine Umverteilung von extravaskulärer Flüssigkeit in den Blutkreislauf, weshalb sie auch als Plasmaexpander bezeichnet werden.

Trotz identischen onkotischen Drücken der verwendeten Volumenersatzlösungen blieb ein Blutvolumenanstieg in der DCLHb-Gruppe aus. Dieser Effekt läßt sich mit der geringen Plasmaverweildauer und der vasokonstriktorischen Eigenschaft von DCLHb erklären: Im Vergleich zu Kolloiden mit vergleichbarem Molekulargewicht extravasiert DCLHb zwei- bis dreimal schneller in umgebendes Gewebe und das Lymphsystem³¹; bei hyperonkotischen Hämoglobinlösungen wirkt zudem die vasopressorische Komponente der intravasalen Volumenzunahme entgegen.

Der nach Austauschtransfusion mit einer Hämoglobinlösung erzielte Volumeneffekt nimmt proportional zu ihrem onkotischen Druck (KOD) zu. In der Literatur sind Blutvolumenveränderungen für modifizierte und unmodifizierte Hämoglobinlösungen von -16% (KOD 23,4 mmHg) bis +27% (KOD 118 mmHg) beschrieben^{24;106;129}. Bei einem onkotischen Druck um 41 mmHg scheinen sich volumenexpandierende und vasopressorische Effekte auszugleichen^{24;129}. Das während des gesamten Versuchsablaufs unveränderte Blutvolumen bei den mit DCLHb (KOD 42 mmHg) hämodiluierten Tiere fügt sich in diese Beobachtungen nahtlos ein. Angesichts der hohen

DCLHb-Konzentration im Blutplasma verwundert es nicht, daß wir während unserer Versuche nach subjektiver Beurteilung nicht zu vernachlässigende Mengen DCLHb vermischt mit Gewebewasser auf Organen und in den Körperhöhlen wiederfanden.

4.3.3 Hämodynamik

Das Ausmaß des bei allen HSA-Tieren beobachteten hämodilutionsbedingten Herzzeitvolumenanstiegs (auf maximal 180%) stimmt mit Ergebnissen früherer Studien überein, die einen deutlichen Anstieg des Herzzeitvolumens während ANH beschreiben¹⁰⁵. Für den beobachteten HZVI-Anstieg war hauptsächlich die Reduktion des systemischen Gefäßwiderstands auf < 50% verantwortlich; auch die myokardiale Kontraktilität zeigte bis einschließlich Hämatokrit 9% keine Verschlechterung. Hinweise auf eine durch das erhöhte Blutvolumen zusätzlich gesteigerte Vorlast sind nicht vorhanden; der linksventrikuläre end-diastolische Füllungsdruck stieg erst bei $H_{k_{krit}}$ signifikant als Ausdruck einer eingeschränkten diastolischen Myokardfunktion an.

In der DCLHb-Gruppe blieben im Gegensatz zur HSA-Gruppe kompensatorische Veränderungen des Herzzeitvolumens aus. Als Ursache für den fehlenden Anstieg des Herzzeitvolumens kommen prinzipiell Veränderungen von Vorlast, Nachlast oder myokardialer Kontraktilität sowie Veränderungen des arteriellen Sauerstoffgehaltes in Frage. Hinweise auf eine reduzierte Vorlast lagen nicht vor: Der linksventrikuläre end-diastolische Füllungsdruck blieb während des gesamten Versuchsablaufs unverändert (vgl. 4.3.6). Auch die myokardiale Kontraktilität war zu keinem Meßzeitpunkt unter den Ausgangswert reduziert. Die Infusion von DCLHb verhinderte allerdings die in der HSA-Gruppe beobachtete Reduktion des peripheren Gefäßwiderstandes; der fehlende Herzzeitvolumen-Anstieg in der DCLHb-Gruppe ist daher am wahrscheinlichsten auf die Nachlasterhöhung zurückzuführen⁶⁷.

Insbesondere durch die vasokonstriktorische Wirkung von DCLHb aber wurde die Hämodynamik bis Hämatokrit 1% stabilisiert, während die HSA-Tiere am kritischen Hämatokrit einen Abfall des mittleren aortalen Blutdruckes auf im Median 56 mmHg hinnehmen mußten. Vasokonstriktorische Eigenschaften verschiedener Hämoglobinlösungen sind aus zahlreichen Untersuchungen bekannt. DCLHb hat in allen bisher untersuchten Spezies eine Vasokonstriktion in pulmonalem und systemischem Kreislauf verursacht^{25;87;128;168}; der hypertensive Effekt (pulmonale und arterielle Hypertonie)

korreliert dabei mit dem Grad der durch die Hämoglobinlösung verursachten Vasokonstriktion^{40;133}.

Eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der Vasokonstriktion spielt die Bindung großer Mengen von Stickstoffmonoxid (NO) an das plasmatische Hämoglobin-Tetramer^{41;136;140}. Stickstoffmonoxid wird normalerweise von den Endothelzellen gebildet, gelangt in die das Gefäß umgebenden Schichten glatter Muskulatur und löst dort eine Relaxierung und damit auch eine Vasodilatation aus. Das plasmatische Hämoglobin extravasiert aufgrund des geringen Molekulargewichtes in die Endothelzellschicht^{43;112} und bindet das dort entstehende NO sehr schnell⁷⁶; die direkte Interaktion des Hämoglobins mit NO bewirkt folglich eine Vasokonstriktion.

Als weitere mögliche Gründe für den vasokonstriktorischen Effekt werden die Stimulation des Endothelinstoffwechsels^{52;87;136} und die Sensibilisierung von α -adrenergen Katecholaminrezeptoren⁵⁰ diskutiert. Durch pharmakologische Blockierung von α_1 - und α_2 -Adrenozeptoren bzw. durch Verabreichung eines Endothelin-Antagonisten konnte der typische, durch DCLHb hervorgerufene vasopressorische Effekt deutlich vermindert werden^{13;139}.

Die normalerweise während Hämodilution auftretende Nachlastreduktion ist Folge der viskositätsbedingten Steigerung von Blutflußrate und Schergrad, die eine vermehrte Freisetzung von vasodilatierend wirkenden Substanzen wie Stickstoffmonoxid aus dem Gefäßendothel nach sich ziehen (vgl. 1.3.1). Die durch Blutverdünnung bedingte Viskositätsreduktion ist dementsprechend auch bei Blutaustausch mit hämoglobinbasierenden Sauerstoffträgern zu beobachten²⁵. Das in unserer Studie beobachtete Fehlen des ANH-typischen Herzzeitvolumenanstieges während Hämodilution läßt sich folglich mit den vasokonstriktorischen Eigenschaften von DCLHb erklären: Die Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstands wirkte den blutflußsteigernden Effekten der Viskositätserniedrigung entgegen^{25;129}. Im Ergebnis hoben sich die Effekte auf, und das Herzzeitvolumen blieb konstant.

4.3.4 Sauerstofftransport

Der kompensatorische Herzzeitvolumen-Anstieg in der HSA-Gruppe konnte der massiven Reduktion des arteriellen Sauerstoffgehaltes während Hämodilution zunächst entgegenwirken; bei Hämatokrit 15% war das globale Sauerstoffangebot ebenso hoch wie in der DCLHb-Gruppe. Der eigentlich zu erwartende DO_2 -Anstieg über

Ausgangswerte war in unserer Untersuchung allerdings nicht zu beobachten, da die Überkompensation des Herzzeitvolumens aufgrund des großen initialen Hämodilutionsschrittes zwischen Hämatokrit 31% und 15% von unserem Meßprotokoll nicht erfaßt wurde. Die Reduktion des Sauerstoffangebotes setzte sich mit zunehmendem Hämodilutionsgrad fort und der kritische Hämatokrit wurde bei einem Sauerstoffangebot von 3,9 ml/min/kg, entsprechend ~25% des Ausgangswertes, erreicht.

In der DCLHb-Gruppe verlief die Reduktion der Hb_{Porcin}-Konzentration ähnlich wie in der HSA-Gruppe, wurde allerdings durch die mit jedem Hämodilutionsschritt ansteigende DCLHb-Konzentration teilweise kompensiert. Trotz des fehlenden Herzzeitvolumenanstiegs der DCLHb-Tiere war DO₂ genauso hoch wie bei den HSA-Tieren. Schon mit dem ersten Hämodilutionsschritt bei Hämatokrit 15% lieferte DCLHb fast die Hälfte des angebotenen Sauerstoffes. Die Sauerstofftransportkapazität des nativen Hämoglobins dagegen verlor mit zunehmendem Hämodilutionsgrad an Bedeutung; Hb_{Porcin} steuerte bei Hämatokrit 1% nur noch 4% zum Sauerstoffangebot bei.

Die Überlegenheit von DCLHb beim Sauerstofftransport gegenüber der HSA-Gruppe läßt sich besonders gut anhand der bereits in Kapitel 1 eingeführten Abbildung von SUNDER-PLASSMANN et al.¹⁵⁰ verdeutlichen (Abb. 4.3). Während das Sauerstoffangebot bei den Tieren der HSA-Gruppe nach Hämodilution auf Hämatokrit 6% mit ~25% des Ausgangswertes den Bedarf nicht mehr decken konnte, war es bei den DCLHb-Tieren nach nahezu komplettem Blutaustausch lediglich auf ~50% vermindert. Nach Hämodilution mit einem Volumenersatz ohne spezifische sauerstofftransportierende Eigenschaften hätte das Sauerstoffangebot bei Hämatokrit 1% nur noch wenige Prozent des Ausgangswertes betragen und den Tod für die Versuchstiere bedeutet. In unserer Untersuchung übernahm DCLHb im Verlauf der Hämodilution bis Hämatokrit 1% immer größere Teile des Sauerstoffangebotes; insgesamt waren CaO₂ und DO₂ bis zum Versuchsende nur auf die Hälfte der Ausgangswerte reduziert, während die entsprechenden Werte in der HSA-Gruppe zum Zeitpunkt des kritischen Hämatokrits bereits auf ein Viertel der Ausgangswerte gesunken waren.

Folgende Faktoren mögen limitierend für das Sauerstoffangebot der DCLHb-Tiere gewesen sein: Bei der Hämodilution mit DCLHb fiel auf, daß trotz Gabe einer 10% igen Hämoglobin-Lösung eine maximale, um Met-DCLHb bereinigte, DCLHb-Konzentration

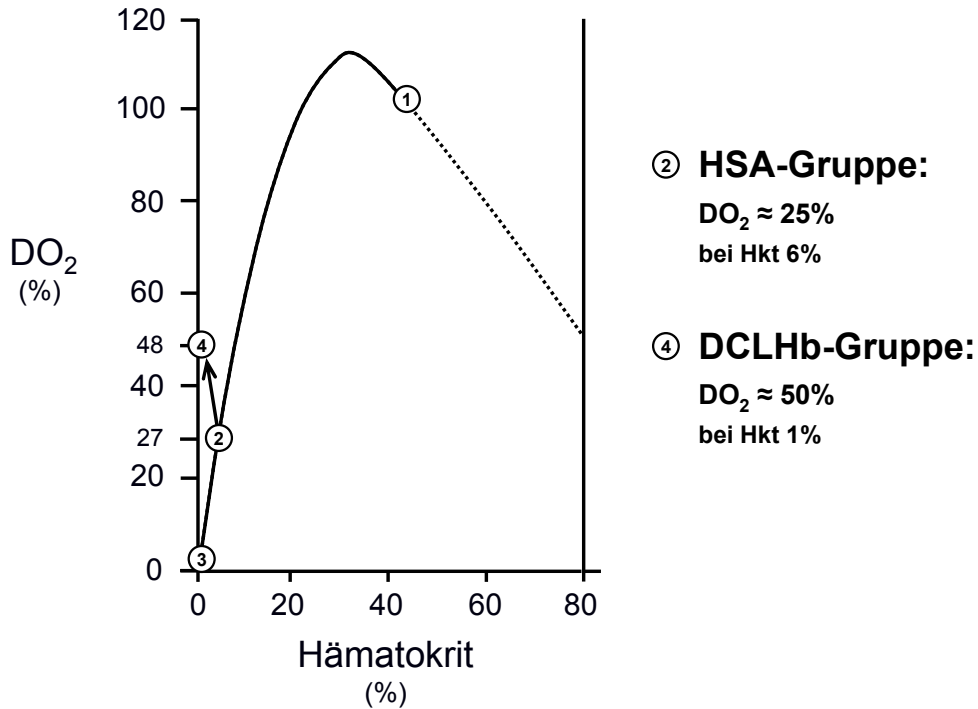


Abb. 4.3: Vergleich des Sauerstoffangebotes (DO₂) in den untersuchten Gruppen zum Zeitpunkt der letzten Messung (modifiziert nach SUNDER-PLASSMANN et al. ¹⁵⁰).

In der HSA-Gruppe war das Sauerstoffangebot am kritischen Hämatokrit im Vergleich zum Ausgangswert (Pos.1) auf ein Viertel reduziert (Pos.2). Nach komplettem Blutaustausch auf Hämatokrit 1% - wie in der DCLHb-Gruppe durchgeführt - wäre DO₂ sogar auf wenige Prozent des Ausgangswertes reduziert gewesen (Pos. 3). DCLHb jedoch steigerte die Sauerstofftransportkapazität des verdünnten Blutes; das Sauerstoffangebot der DCLHb-Tiere war bei Hämatokrit 1% trotz nahezu komplettem Blutaustausch doppelt so hoch wie in der HSA-Gruppe (Pos. 4).

von 4,6 g/dl erreicht wurde. Dies begründet sich unter anderem darin, daß der Austausch von Blut gegen DCLHb zur Aufrechterhaltung der Normovolämie in langsamen Schritten von wenigen Millilitern gleichzeitig erfolgte und somit neben dem nativen erythrozytären Hämoglobin auch DCLHb aus dem Kreislauf entfernt wurde. Eine quantitativ weniger wichtige Rolle für die Verminderung der DCLHb-Konzentration spielten der Abbau des freien Hämoglobins, Ausscheidung im Urin sowie Extravasation in umliegendes Gewebe.

Der erhöhte Methämoglobin-Anteil im Blut der DCLHb-Tiere schränkte die Sauerstofftransportkapazität zusätzlich ein: Der Met-DCLHb-Anteil stieg bis auf 15% am letzten Meßzeitpunkt, wodurch der arterielle Sauerstoffgehalt um bis zu 1 ml O₂/dl reduziert war. Frisch hergestelltes DCLHb besitzt einen Met-DCLHb-Anteil von 3,2% ⁶. Aufgrund der auto-oxidativen Eigenschaften ist DCLHb besonders anfällig für die

Bildung von Methämoglobin^{36;178}. Um die Oxidation zu verzögern, wird DCLHb bei -20° C gelagert. In diesem Zustand ist es stabil und bildet 0,3% Met-DCLHb pro Monat¹⁰⁹. Es verwundert demnach nicht, daß wir in unserer Untersuchung einen erhöhten Met-DCLHb-Anteil gefunden haben. Die im klinischen Einsatz beschriebenen Werte sind allerdings drei- bis viermal niedriger. MÜLLER et al. tauschten bei Kälbern zwei Liter Blut gegen 10% iges DCLHb aus und fanden anschließend einen maximalen Methämoglobin-Anteil von 4,2%¹¹¹. Bei einer Untersuchung an chirurgischen Patienten betrug der Methämoglobin-Anteil nach Gabe von 1 g/kg Körpergewicht DCLHb ebenfalls ~4%¹¹⁹. ALI et al. fanden bei oxymetrischer Analyse der untersuchten DCLHb-Lösung einen Methämoglobin-Anteil von 17%, den sie einer verlängerten Lagerungszeit zuschrieben. Es ist zu vermuten, daß auch in unserem Fall eine lagerungsbedingte Met-DCLHb-Erhöhung vorlag. Insgesamt schränkte der im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhte Met-DCLHb-Anteil die sauerstofftransportierende Wirkung von DCLHb aber nur wenig ein; DCLHb verbesserte die Sauerstofftransportkapazität des Blutes selbst nach komplettem Blutaustausch deutlich.

4.3.5 Myokardiale Perfusion und Oxygenierung

Die Oxygenierung des Myokards war in der DCLHb-Gruppe wesentlich besser als in der HSA-Gruppe. Die Überlegenheit der DCLHb-Tiere wurde allerdings nicht nur durch die verbesserte Sauerstofftransportkapazität, sondern insbesondere auch durch eine Erhöhung des koronaren Perfusionsdrucks hervorgerufen.

Die Herzarbeit als Produkt aus aortalem Druck und Schlagvolumen stieg in beiden Untersuchungsgruppen während der Hämodilution an. Die HSA-Tiere mußten ein erhöhtes Schlagvolumen bei reduzierter Nachlast, die DCLHb-Tiere ein unverändertes Schlagvolumen gegen eine stark angestiegene Nachlast auswerfen. Dies bedeutete für beide Gruppen einen vermehrten myokardialen Sauerstoffbedarf. Die myokardiale Sauerstoffextraktionsrate ist mit ~65% in Ruhe sehr hoch und kann bei Belastung nur um weitere 15% gesteigert werden. Der erhöhte Sauerstoffbedarf wurde deshalb in beiden Gruppen durch Inanspruchnahme der Koronarreserve kompensiert¹⁷: Die aufgrund der Verdünnung verbesserten rheologischen Eigenschaften des Blutes sowie die Koronardilatation bewirkten bei den HSA-Tieren eine Steigerung des koronaren Blutflusses in der LAD auf maximal ~500%, in der DCLHb-Gruppe auf maximal ~300% des Ausgangswertes.

Unter moderater Hämodilution steigt der Blutfluß bei uneingeschränkter koronarer Endothelfunktion in allen Myokardschichten gleichmäßig an^{19;91}; dies war in der HSA-Gruppe bei Hämatokrit 15% an der unveränderten Endo/Epi-Relation zu beobachten. Während extremer Hämodilution erfolgte eine Umverteilung des Blutflusses vom Endomyo- zum Epimyokard: Die EER fiel auf 0,5 ab und bewirkte zusammen mit der Verdünnungsanämie das um 84% verminderte endomyokardiale Sauerstoffangebot am kritischen Hämatokrit.

Die Hypothese, daß reduzierter endomyokardialer Blutfluß die Hauptursache für eine Myokardischämie darstellt, wurde in experimentellen Studien anhand von Änderungen der Erregungsrückbildung und der systolischen Funktion, gemessen als EKG-ST-Segmentveränderungen¹⁰⁸ bzw. einer Verminderung der subendokardialen systolischen Segmentlängen-Verkürzungsfraction⁶⁹ belegt. Dementsprechend traten bei den Tieren der HSA-Gruppe am kritischen Hämatokrit ischämietypische EKG-Veränderungen und Störungen der myokardialen Kontraktilität auf, die dem terminalen linksventrikulären Pumpversagen vorausgingen.

Verantwortlich für den drastischen Abfall der Endo/Epi-Relation während Hämodilution in der HSA-Gruppe ist - neben einer Erhöhung der endomyokardialen Wandspannung und erhöhtem LVEDP (13 mmHg) - in erster Linie die signifikante Reduktion des koronaren Perfusionsdrucks. Die Veränderungen der transmuralen Perfusion lassen sich gut durch den Aufbau der Blutversorgung des Myokards erklären: Da die Koronararterien auf der Außenseite des Myokards entlangführen, erhalten zunächst die epimyokardialen Muskelschichten, anschließend die mittleren und zuletzt die endomyokardialen Muskelschichten das oxygenierte Blut. Bei Reduktion des koronaren Perfusionsdruckes ist daher der Abfall des myokardialen Blutflusses im Endomyokard deutlicher ausgeprägt als im Epimyokard¹²¹.

Wie in Abb. 4.4 dargestellt, verändert sich bei maximaler Dilatation der Koronargefäße die unter Ruhebedingungen ausgeglichene EER linear mit dem koronaren Perfusionsdruck. Je weiter der koronare Perfusionsdruck abnimmt, desto niedriger wird die Endo/Epi-Relation⁷. Im Gegensatz dazu beobachtet man in vivo die physiologisch vorhandene Autoregulation der Koronargefäße. Sie bewirkt durch Vasokonstriktion und -dilatation ein konstantes Verhältnis von endo- zu epimyokardialem Blutfluss, indem der koronar-vaskuläre Widerstand in Abhängigkeit von myokardialem Sauerstoffbedarf

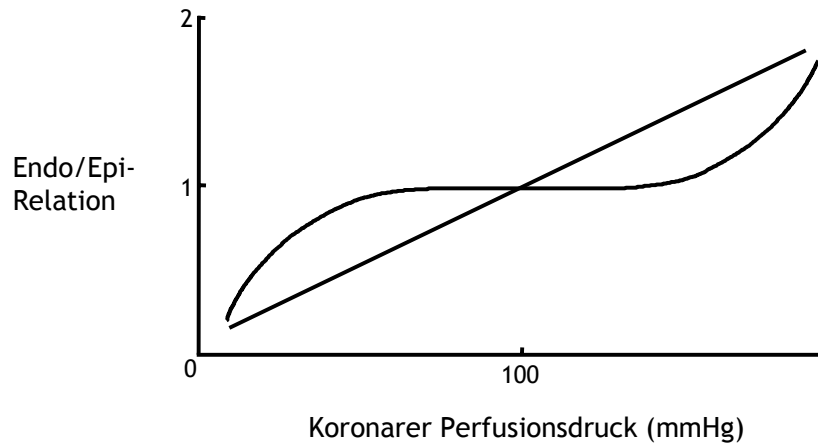


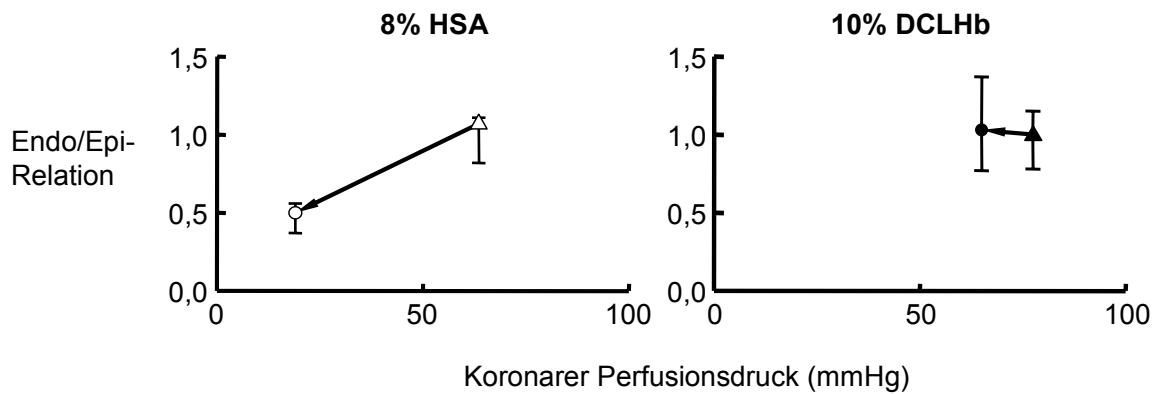
Abb. 4.4: Darstellung von koronarem Perfusionsdruck und dem Verhältnis von endomyo- zu epimyokardialen Blutfluss (Endo/Epi-Relation) während Autoregulation (geschwungene Linie) und maximaler Vasodilatation (durchgezogene Linie) der Koronargefäße (nach HOFFMAN ⁷²).

und koronarem Perfusionsdruck verändert wird ⁴²; jedoch ist diese Kompensation nur in Grenzen (50-120 mmHg) möglich, nach deren Überschreitung die EER wiederum vom koronaren Perfusionsdruck abhängig wird. Sobald während Hämodilution der endomyokardiale Blutfluß maximal gesteigert und der Kompensationsmechanismus der Sauerstoffextraktion ausgeschöpft ist, führt ein weiterer Abfall des Sauerstoffangebotes unweigerlich zur Myokardischämie, und das Herz kann das Herzzeitvolumen nicht aufrechterhalten.

In Abb. 4.5 A sind die Werte des CPP und der EER in der HSA-Gruppe bei der Ausgangsmessung und am kritischen Hämatokrit dargestellt. Man erkennt den soeben beschriebenen Zusammenhang zwischen koronarem Perfusionsdruck und Endo/Epi-Relation. Der koronare Perfusionsdruck fiel in der HSA-Gruppe bei signifikanter Reduktion des peripheren Gefäßwiderstandes auf 19 mmHg am kritischen Hämatokrit ab. Die Abnahme des koronaren Perfusionsdrucks verhinderte die Verteilung des Blutflusses in das Endomyokard; eine ausreichende Versorgung des Endomyokards war damit nicht mehr gewährleistet. Dies erklärt, warum bei den HSA-Tieren trotz des immer noch auf ~150% erhöhten gesamt-myokardialen Blutflusses am kritischen Hämatokrit nur noch eine EER von 0,5 zu beobachten war. Das ohnehin auf 30% reduzierte myokardiale Sauerstoffangebot verteilte sich der EER entsprechend nur ungenügend in die Innenschicht; das endomyokardiale Sauerstoffangebot betrug am

A

Extreme Hämodilution



B

Hämorrhagischer Schock

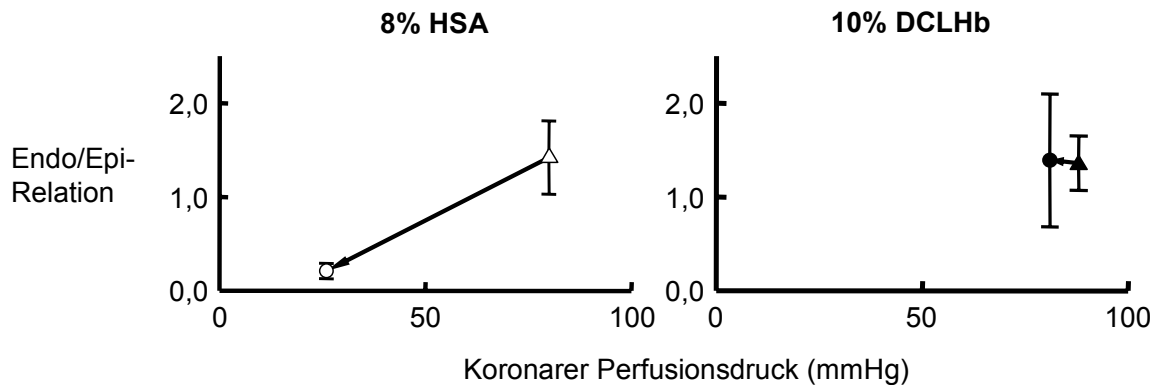


Abb. 4.5: Darstellung von koronarem Perfusionsdruck im Verhältnis zur Endo/Epi-Relation in unserer Untersuchung (A) und nach hämorrhagischem Schock mit kritischer Koronarstenose⁵⁵ (B). Therapiert wurde in beiden Studien mit 8% HSA bzw. 10% DCLHb.

Dargestellt sind jeweils Werte der Ausgangsmessung (Dreieck) und der letzte Meßzeitpunkt nach Infusion (Kreis).

kritischen Hämatokrit nur noch 16% des Ausgangswertes, infolgedessen sich die bei allen HSA-Tieren beobachtete Myokardischämie manifestierte.

Das im Gegensatz zur HSA-Gruppe bei den mit DCLHb behandelten Tieren verbesserte myokardiale Sauerstoffangebot war nicht zuletzt dem Anstieg des koronaren Blutflusses zu verdanken; im Gegensatz zum unveränderten Herzzeitvolumen war LV-DO₂ während Hämodilution mehr als verdreifacht. Ähnlich wie die HSA-Gruppe nahmen die Tiere der DCLHb-Gruppe die Koronarreserve in Anspruch, was sich in einer Reduktion des koronar-vaskulären Widerstands mit sinkenden Hämatokritwerten zeigte. Die CVRI-Reduktion um maximal 63% war in der DCLHb-Gruppe zwar nicht so ausgeprägt wie in

der HSA-Gruppe; im Vergleich zum systemischen Gefäßwiderstand, der bis Hämatokrit 1% nicht unter den Ausgangswert abfiel, offenbarte sich jedoch ein deutlicher Unterschied der vasokonstriktorisches Wirkung von DCLHb auf die Koronarzirkulation einerseits sowie auf den systemischen und pulmonalen Kreislauf andererseits. Dies läßt vermuten, daß der vasokonstriktorisches Effekt von DCLHb nicht gleichmäßig über die gesamten Kreislaufregionen verteilt ist. Verschiedene Untersuchungen zeigten nach Infusion von DCLHb eine Umverteilung des Blutflusses weg vom muskuloskelettalen System hin zu Herz, Gehirn, Gastrointestinaltrakt, Portalkreislauf, Niere und Haut^{51;53;138}.

DIETZ et al. beschrieben nach Hämodilution von anästhesierten Hunden mit $\alpha\alpha$ -verbundenem Hämoglobin ($\alpha\alpha$ -Hb) eine starke Vasokonstriktion in der Femoral-Arterie; in der Mesenterial-Arterie dagegen war keine Veränderung und in den Koronararterien sogar ein leichter vasodilatatorischer Effekt zu beobachten³⁸. Entsprechend unserer eigenen Ergebnisse verursachte die Hämodilution mit Albumin in dieser Studie einen wesentlich ausgeprägteren vasodilatatorischen Effekt als von $\alpha\alpha$ -Hb bekannt³⁸. MACDONALD et al. perfundierten isolierte Herzen von Kaninchen mit $\alpha\alpha$ -Hb im Langendorff-Modell¹⁰⁰ und beobachteten bei konstantem koronaren Perfusionsdruck einen leichten Abfall des Koronarblutflusses infolge einer Reduktion des Gefäßdurchmessers. In Bezug auf unsere Ergebnisse liesse sich daraus folgern, daß die Autoregulation der koronaren Durchblutung aufgrund der im Vergleich zum Gesamtkreislauf geringen vasokonstriktorisches Wirkung von DCLHb auf die Koronargefäße nicht aufgehoben war; demzufolge war die Myokardperfusion in unseren Experimenten nach Verabreichung von DCLHb verbessert.

Das Weiterbestehen der Autoregulation wurde erst durch den dauerhaft erhöhten koronaren Perfusionsdruck ermöglicht. Da die Durchblutung des Myokards aufgrund der systolischen Kontraktion größtenteils in der Diastole erfolgt, ist CPP direkt vom diastolischen aortalen Blutdruck abhängig, der wiederum in Folge des durch DCLHb erhöhten peripheren Gefäßwiderstands während des gesamten Versuchsablaufs nahezu unverändert blieb. Wie Abb. 4.5 A zeigt, lag die Endo/Epi-Relation der DCLHb-Tiere auch noch bei Hämatokrit 1% über 1,0.

Eine Verbesserung der Myokardoxygenierung nach Infusion von DCLHb durch Erhöhung des koronaren Perfusionsdruckes ergab eine Untersuchung zur Therapie des hämorrhagischen Schocks mit kritischer Stenose der LAD⁵⁵. Im durch Blutentzug

induzierten Schock wurde eine Reduktion der post-stenotischen Endo/Epi-Relation auf 0,7 beobachtet. Wie auch in unserer Untersuchung ermöglichte der nach Therapie mit DCLHb im Vergleich zum Ausgangswert unveränderte koronare Perfusionsdruck eine ausgeglichene EER (Abb. 4.5 B). Bei den mit 8% HSA therapierten Tieren dagegen fielen CPP und Endo/Epi-Relation - vergleichbar mit den HSA-Tieren in unserer Versuchsreihe - signifikant ab.

In unserer Studie führte die Summe aus verbessertem myokardialen Blutfluß, ausgeglichener Endo/Epi-Relation und erhöhtem arteriellen Sauerstoffgehalt zu der Verbesserung des Sauerstoffangebotes an die für eine Myokardischämie besonders anfällige Innenschicht: Nach Infusion von DCLHb war das endomyokardiale Sauerstoffangebot bis Hämatokrit 1% auf mindestens ~120% im Vergleich zur Ausgangsmessung erhöht. Zusammenfassend ist die ausreichende Oxygenierung des linksventrikulären Myokards auf 1) den erhöhten koronaren Perfusionsdruck, 2) eine Umverteilung des Blutflusses zugunsten des Myokards und 3) auf die im Vergleich zur HSA-Gruppe erhöhte Sauerstofftransportkapazität durch DCLHb zurückzuführen.

4.3.6 Myokardfunktion

Als Folge eines Mißverhältnisses von Sauerstoffangebot und -bedarf beginnt die Myokardzelle mit der anaeroben Gewinnung energiereicher Phosphate (ATP) unter erhöhter Laktat-Produktion. Kurz danach treten erst diastolische, dann systolische regionale Wandbewegungsstörungen auf, die als Ausdruck der frühischämischen Funktionsreduktion den linksventrikulären end-diastolischen Füllungsdruck (LVEDP) erhöhen. Ein Mißverhältnis von Sauerstoffangebot und -bedarf tritt in der Regel zuerst in der endomyokardialen Innenschicht auf (vgl. 4.3.5). Betrachtet man den Verlauf des endomyokardialen Sauerstoffangebotes in beiden untersuchten Gruppen, so erkennt man eine hohe Korrelation zwischen endomyokardialem Sauerstoffangebot und - insbesondere der systolischen - Myokardfunktion.

Auffallend in der HSA-Gruppe ist zunächst der starke Anstieg von $LV-DO_2I_{endo}$, $LV-VF$ und dP/dt_{max} bei Hämatokrit 15%. Die Steigerung der myokardialen Kontraktilität ist ein Kompensationsmechanismus der ANH⁵⁹; die Verbesserung der myokardialen Pumpfunktion in der HSA-Gruppe nach dem ersten Hämodilutionsschritt kann in diesem Zusammenhang als zusätzlicher Beweis für die ausreichende Kompensationsfähigkeit der HSA-Tiere angesehen werden. Bei Hämatokrit 9% waren in

der HSA-Gruppe $LV-DO_2I_{endo}$, $LV-VF$ und dP/dt_{max} wieder auf Ausgangswerte reduziert; die Tiere befanden sich zu diesem Zeitpunkt wahrscheinlich an der Grenze ihrer myokardialen Kompensationsfähigkeit. Am kritischen Hämatokrit schließlich fiel das zuvor erhöhte endomyokardiale Sauerstoffangebot ab, mit der Folge ausgeprägter Störungen der diastolischen und systolischen Myokardfunktion, die bis zum Tod der Tiere im Herzversagen führten.

Im Gegensatz dazu nahmen in der DCLHb-Gruppe $LV-DO_2I_{endo}$, $LV-VF$ und dP/dt_{max} langsam und kontinuierlich zu. Die Austauschtransfusion mit DCLHb sicherte bis Hämatokrit 1% nicht nur die endomyokardiale Perfusion, sondern auch die myokardiale Pumpfunktion und damit das Überleben aller Tiere der untersuchten Gruppe; dies steht in Übereinstimmung mit früheren tierexperimentellen Studien: KIM et al. konnten ebenso wie MACDONALD u. WINSLOW bei Perfusion von Kaninchenherzen mit verschiedenen Hämoglobinlösungen keinen myokardialen Funktionsverlust nachweisen^{81,99}. SERNA et al. beobachteten nach Perfusion von isolierten Kaninchenherzen mit einer Polyethylenglykol-Hämoglobinlösung (PEG-Hb) bovinen Ursprungs eine bessere systolische Myokardfunktion als in den ohne PEG-Hb perfundierten Herzen der Kontrollgruppe¹³⁷.

Überraschend sind allerdings die deutlichen diastolischen Wandbewegungsstörungen bei den DCLHb-Tieren: Der deutliche Anstieg der Relaxations-Zeitkonstanten τ in der DCLHb-Gruppe läßt auf einen Funktionsverlust des linksventrikulären Myokards in der Diastole schließen. Eine fehlerhafte Bestimmung der Relaxations-Zeitkonstanten τ ist nahezu ausgeschlossen: Die theoretisch mögliche Erhöhung von τ durch die im Versuchsverlauf erhöhte Nachlast scheint nicht vorzuliegen⁸⁸: Zum einen war der periphere Gefäßwiderstand bei Hämatokrit 1% fast wieder auf den Ausgangswert abgesunken, während die Relaxations-Zeitkonstante τ zu diesem Zeitpunkt das Maximum erreichte. Zum anderen wird der diastolische Funktionsverlust durch die Reduktion der Druckabfallsgeschwindigkeit des linksventrikulären Myokards untermauert; eine Reduktion von dP/dt_{min} selbst durch die erhöhte Nachlast kann ebenfalls ausgeschlossen werden, denn diese würde eine Beschleunigung der Druckabfallsgeschwindigkeit bewirken⁹².

Bislang sind keine sicheren Daten bezüglich einer Einschränkung der diastolischen Myokardfunktion nach Gabe von DCLHb vorhanden. Erste Hinweise lieferte allerdings die bereits erwähnte Untersuchung von DCLHb bei der Therapie des hämorrhagischen

Schocks: Nach Infusion von DCLHb war die diastolische Relaxations-Zeitkonstante τ im Vergleich zur Ausgangsmessung und auch zur Kontrollgruppe signifikant erhöht ¹²².

Obwohl nach Infusion von DCLHb positive Effekte auf Myokardoxygenierung und systolische Myokardfunktion zu beobachten waren, müssen die diastolischen Wandbewegungsstörungen der DCLHb-Tiere – begründet durch das frühere zeitliche Auftreten der Diastolenstörung während Ischämie – als Anzeichen eines frühischämischen Sauerstoffmangels betrachtet werden.

4.3.7 Gewebeoxygenierung

Der Transport von Sauerstoff aus der Atemluft in das periphere Gewebe erfolgt in drei Stufen: Zunächst diffundiert Sauerstoff aus der Lunge entlang dem Sauerstoffpartialdruck-Gefälle zwischen Alveole und Lungenkapillare in das Blut. An Hämoglobin gebunden und im Plasma physikalisch gelöst wird der Sauerstoff konvektiv mit dem Blutstrom in die Organe transportiert. Von den Kapillaren der Endstrombahn erfolgt der Sauerstofftransport wiederum durch Diffusion vom Blut in die Zellen der Gewebe.

Die ANH beeinflusst den Sauerstofftransport in erster Linie durch Reduktion der Erythrozytenmasse, die den Großteil des Sauerstoffes im Blut transportiert. Der reduzierte arterielle Sauerstoffgehalt wird hauptsächlich durch den erhöhten Organ-Blutfluss kompensiert. In der Mikrozirkulation der Organe ergeben sich gleichzeitig charakteristische Veränderungen: Aufgrund der reduzierten Blutviskosität sind Blutflußgeschwindigkeit und Scherrate während Hämodilution erhöht, der Anteil durchbluteter Kapillaren pro Gewebeeinheit (funktionelle Kapillardichte) vermehrt und die Fließeigenschaften der Erythrozyten verbessert ¹⁰⁷. In der Folge ist die Gewebeoxygenierung während Hämodilution trotz reduziertem globalen Sauerstoffangebot aufrechterhalten oder sogar verbessert (vgl. 1.3.1).

Das Herzzeitvolumen kann während ANH jedoch nicht unbegrenzt gesteigert werden. Somit sind die vom Blutfluß abhängige Freisetzung vasodilatierender Substanzen und die Zunahme von funktioneller Kapillardichte und Erythrozytenflux limitiert. FREITAG et al. fanden nach Hämodilution von anästhesierten Hunden mit einer kristalloiden Lösung unterhalb Hämatokrit 20% signifikant reduzierte Gewebe- pO_2 -Werte auf dem Skelettmuskel (polarographische Stichelektrode) ⁴⁸.

Die Sauerstoffaufnahme der HSA-Tiere begann in unserer Untersuchung in Einklang mit der Beobachtung von FREITAG et al. bei Hämatokritwerten $< 15\%$ zu sinken; das maximal gesteigerte Herzzeitvolumen und die maximal angestiegene Sauerstoffextraktionsrate konnten die ausgeprägte Gewebhypoxie am kritischen Hämatokrit nicht verhindern.

Die gemessene Sauerstoffaufnahme der DCLHb-Tiere dagegen wurde zu keinem Zeitpunkt vom Sauerstoffangebot abhängig. Das plasmatisch gelöste DCLHb erhöhte nicht nur das Sauerstoffangebot, sondern gab den Sauerstoff auch effektiv an das Gewebe ab. Der Anstieg der Sauerstoffextraktionsrate bis auf 67% ist im Gegensatz zur HSA-Gruppe nicht als Endpunkt der Kompensationsfähigkeit zu verstehen, sondern vielmehr der erleichterten Sauerstoffabgabe aufgrund der nach rechts verschobenen Sauerstoffbindungskurve von DCLHb zuzuschreiben. Die Gewebeoxygenierung wurde dadurch bis in deutlich niedrigere Hämatokritbereiche aufrechterhalten als in der HSA-Gruppe. Die geringe Molekülgröße und die niedrige Viskosität der DCLHb-Lösung ermöglichten die Perfusion von kleinen Gefäßen in normalerweise nur schlecht versorgten Gewebearealen und sicherten zumindest bis Hämatokrit 4% eine adäquate Sauerstoffversorgung der Gewebe. SIELENKÄMPER et al. berichteten ebenfalls über eine erleichterte Sauerstoffabgabe durch DCLHb ¹⁴². In der Untersuchung wurden Ratten mit autologem Plasma bis zum Erreichen des kritischen Sauerstoffangebotes (VO_2 -Reduktion $> 30\%$) hämodiluiert. Nach anschließender Infusion von 10% DCLHb stieg VO_2 signifikant an, vor allem aufgrund einer erhöhten Sauerstoffextraktionsrate. STANDL et al. demonstrierten in einem Modell der extremen Hämodilution an anästhesierten Hunden die erfolgreiche Verteilung des von einer polymerisierten bovinen Hämoglobinlösung transportierten Sauerstoffes bis in die Zellen der Endorgane ¹⁴⁹. Nach Austauschtransfusion auf Hämatokritwerte zwischen $2-5\%$ fanden die Autoren auf dem Skelettmuskel signifikant höhere Gewebe- pO_2 -Werte als bei den mit Hydroxyethylstärke behandelten Tieren der Kontrollgruppe ¹⁴⁹.

Allerdings waren in unserer Untersuchung - anders als in der Studie von STANDL et al. ¹⁴⁹ - bei Hämatokritwerten $< 4\%$ Anzeichen einer beginnenden Gewebhypoxie zu erkennen. Die nach links verschobenen Gewebe- pO_2 -Histogramme von Leber und Skelettmuskel weisen auf ein Mißverhältnis zwischen lokalem Sauerstoffangebot und -bedarf hin.

Negative Effekte von DCLHb auf die lokale Sauerstoffabgabe im Gewebe sind in der Literatur mehrfach beschrieben worden. NOLTE et al. verglichen die lokale Gewebeoxygenierung von wachen Hamstern nach Hämodilution auf Hämatokrit 30% mit 10% DCLHb oder 6% Dextran-60. Nach Abschluß der Austauschtransfusion war der mediane Gewebe-pO₂ in der DCLHb-Gruppe um 20%, in der Dextran-behandelten Gruppe jedoch nur um 9% reduziert¹¹⁷. Die Autoren konnten in einer separaten Untersuchung unter identischen Bedingungen in der Mikrozirkulation Veränderungen nachweisen, die sie neben dem vasokonstriktorisches Effekt von DCLHb für die verschlechterte Gewebeoxygenierung verantwortlich machten: Nach dem Blutaustausch mit 10% DCLHb waren eine Reduktion von funktioneller Kapillardichte, arteriolärem Durchmesser sowie eine veränderte Frequenz der arteriellen Vasomotion zu beobachten¹¹⁶. Die Beobachtungen von NOLTE et al. werden durch die in einem ähnlichen tierexperimentellen Modell gefundenen Ergebnisse von TSAI et al. unterstützt. Nach Reduktion des Hämatokrit um 70% mit $\alpha\alpha$ -Hb oder Dextran-70 wurden sowohl in der Dextran-, aber auch in der $\alpha\alpha$ -Hb-Gruppe signifikant reduzierte tpO₂-Werte gemessen¹⁵⁸. In einer weiteren Studie am Hamster untersuchten TSAI et al. die Effekte einer polymerisierten bovinen Hämoglobinlösung (PBH) auf die Mikrozirkulation nach Hämodilution auf einen Hämatokrit von 11%. Die Infusion von PBH bedingte eine Reduktion der funktionellen Kapillardichte und Verschlechterung der lokalen Gewebeoxygenierung¹⁵⁶. Als Mechanismus für diese Veränderungen vermuten die Autoren neben einer durch DCLHb induzierten Vasokonstriktion die Konstriktion größerer Arteriolen durch sehr hohe pO₂-Werte (hyperoxische Vasokonstriktion).

Abschließend kann ein grundsätzlich positiver Effekt von DCLHb auf die Gewebeoxygenierung festgestellt werden. Die Infusion von DCLHb ermöglichte eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Gewebe bis in tiefere Hämatokritbereiche als es durch Hämodilution mit HSA möglich war. Die Ursache der verschlechterten Gewebeoxygenierung unterhalb Hämatokrit 4% ist wahrscheinlich auf spezifische, vor allem vasokonstriktorisches Veränderungen der Mikrozirkulation zurückzuführen, die der hämodilutionsbedingten Vasodilatation entgegenwirkten.

4.4 Hauptergebnis

Zusammenfassend ist festzuhalten, daß wir in unserer Studie die Effektivität von DCLHb als Volumenersatz während der akuten normovolämischen Hämodilution beweisen konnten. Bei vollständigem Blutaustausch unterstützte DCLHb die systemische Sauerstoffversorgung und Gewebeoxygenierung maßgeblich. Die positive Wirkung von DCLHb beruhte nicht alleine auf dem verbesserten arteriellen Sauerstoffgehalt im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Insbesondere die Aufrechthaltung des koronaren Perfusionsdruckes aufgrund der vasokonstriktorisches Potenz von DCLHb sorgte für eine Umverteilung des Blutflusses zum Herzen und optimierte die myokardiale Perfusion und Oxygenierung bis in die Innenschicht. DCLHb unterstützte das Herz als kritisches Organ der ANH besonders effektiv: Das endomyokardiale Sauerstoffangebot blieb bis zum letzten Meßzeitpunkt deutlich verbessert, wodurch in der DCLHb-Gruppe alle Tiere überlebten. Die Tiere der Kontrollgruppe dagegen verstarben alle im ischämischen Herzversagen.

Bei sehr niedrigen Hämatokritwerten wurden allerdings die Nachteile der vasokonstriktorisches Eigenschaft von DCLHb deutlich: Trotz verbesserter systemischer Sauerstoffversorgung waren im Herz frühischämische Wandbewegungsstörungen und eine beginnende periphere Gewebhypoxie zu erkennen, die am ehesten auf DCLHb-spezifische vasokonstriktorisches Effekte in der Mikrozirkulation zurückzuführen sind.

4.5 Schlußfolgerung

Das Konzept der akuten normovolämischen Hämodilution beunruhigt im ersten Moment aufgrund der mit erniedrigter Hämoglobinkonzentration assoziierten Morbidität und Mortalität^{26,66}. Tatsächlich aber können die mit Beginn der ANH ausgelösten Kompensationsmechanismen den Patienten bis zu niedrigen Hämatokritwerten um 20% vor einer Sauerstoffunterversorgung schützen. Eine Kombination aus Skepsis, Mehrarbeit bei der Anwendung und teilweise fraglicher Effektivität machen die ANH zu einer der am unzureichendsten genutzten Alternativen der Fremdbluttransfusion.

Die vorliegende tierexperimentelle Untersuchung verdeutlicht, daß die ANH unter Verwendung von künstlichen Sauerstoffträgern auf Hämoglobinbasis - wie beispielsweise DCLHb - wesentlich sicherer durchgeführt und damit häufiger

angewendet werden kann, als es bisher der Fall ist. Eine in der Zwischenzeit abgeschlossene und publizierte klinische Studie bekräftigt diese Schlußfolgerung:

LAMY et al. wiesen in einer randomisierten, multizentrischen Studie an 209 kardi-chirurgischen Patienten für den von uns untersuchten künstlichen Sauerstoffträger DCLHb die Effektivität bei der Einsparung von Fremdblutkonserven nach⁸⁶. Bei einer vorgegebenen minimalen Hämoglobinkonzentration von 7 g/dl konnte durch Gabe von 250 bis maximal 750 ml DCLHb die Transfusion von Fremdblut im Vergleich zur Kontrollgruppe um ein bis zwei Tage verzögert und bei 19% der Patienten sogar ganz vermieden werden. Im Gegensatz dazu erhielten alle Patienten der Kontrollgruppe eine oder mehrere Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten.

Trotz der in tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen festgestellten positiven Effekte von DCLHb wurde die Entwicklung im September 1998 vom Hersteller BAXTER HEALTHCARE, USA eingestellt. Die Zwischenauswertung einer randomisierten, multi-zentrischen Studie zur Bewertung der Effektivität von DCLHb bei der Behandlung von schwerverletzten Patienten mit hämorrhagischem Schock hatte zuvor eine im Vergleich zum Kontroll-Kollektiv signifikant höhere Mortalität nach Behandlung mit DCLHb ergeben¹⁴⁵. Nachdem die eingehende Analyse der Daten keine plausible pathophysiologische Erklärung für diesen Unterschied lieferte, gilt eine durch falsche Untersuchungsmethoden verursachte Verzerrung des Ergebnisses als wahrscheinlich.

5 Zusammenfassung

Die Transfusion von Fremdblut war, ist und wird in Zukunft immer mit Risiken verbunden sein. Aktuell werden vor allem die Übertragung von Erregern der Jakob-Creutzfeldt-Krankheit, Immunmodulation und Infektionen mit Hepatitis C oder HIV befürchtet. Das Transfusionswesen ist zudem von akuter Ressourcenverknappung bedroht.

Die akute normovolämische Hämodilution (ANH) ist ein etabliertes und effektives Verfahren zur Vermeidung von intraoperativen Fremdbluttransfusionen. Durch isovolämischen Austausch von Blut mit einer kolloidalen Flüssigkeit wird der Hämatokrit gesenkt, ohne die Sauerstoffversorgung des Organismus zu beeinträchtigen. Bei intraoperativen Blutverlusten verliert der Patient verdünntes Blut und damit weniger Erythrozyten pro Einheit als ohne vorangegangene Hämodilution. Sinkt der Hämatokrit intraoperativ unter eine kritische Schwelle (kritischer Hämatokrit), drohen Myokardischämie und Gewebhypoxie. Zur Vermeidung eines Sauerstoffmangels muss in diesem Fall mit der Retransfusion des ANH-Blutes begonnen werden.

Diaspirin crosslinked Hemoglobin (DCLHb) ist ein künstlicher Sauerstoffträger auf Basis von modifiziertem humanem Hämoglobin. Neben der Sauerstofftransportfähigkeit besitzt DCLHb eine charakteristische vasokonstriktorische Wirkung und stellt eine alternative Möglichkeit dar, den arteriellen Sauerstoffgehalt des verdünnten Blutes zu erhöhen. Bei Verwendung von DCLHb als Volumenersatzlösung während Hämodilution müssten deshalb wesentlich niedrigere Hämatokritwerte toleriert und der kritische Hämatokrit gesenkt werden können.

Zur Untersuchung dieser Hypothese wurden die Auswirkungen der ANH mit DCLHb auf die Zielgrößen Myokardperfusion und -funktion, Sauerstofftransport und Gewebeoxygenierung in einem tierexperimentellen Modell untersucht. Die Quantifizierung der Zielgrößen erfolgte an zwölf anästhesierten juvenilen Hausschweinen während Hämodilution mit 10% DCLHb (n=6) oder einer zu DCLHb isoonkotischen 8% Humanalbumin-Lösung (HSA, n=6). Die regionale Myokardperfusion bestimmten wir mit fluoreszierenden Mikrosphären, die Gewebeoxygenierung

durch Messung von Gewebesauerstoffpartialdrücken auf der Oberfläche von Leber und Skelettmuskel (Mehrdraht-Oberflächenelektroden nach Kessler und Lübbers).

Im Verlauf der Hämodilution erreichten alle Tiere der HSA-Gruppe den kritischen Hämatokrit bei 6,1% und verstarben kurze Zeit später. In der DCLHb-Gruppe dagegen überlebten alle Tiere selbst bei Hämatokrit 1%, ohne den kritischen Hämatokrit erreicht zu haben. Die Überlegenheit von DCLHb läßt sich durch seine spezifischen Effekte auf Sauerstofftransport, Myokardperfusion und Gewebeoxygenierung erklären.

1. Es konnte nachgewiesen werden, daß DCLHb den arteriellen Sauerstoffgehalt des Blutes nachhaltig steigert. DCLHb transportierte bei Hämatokrit 1% mehr als 90% des Sauerstoffes und stellte damit ein ausreichendes Sauerstoffangebot an das Herz und das Gewebe sicher. In der HSA-Gruppe dagegen schränkte die Hämatokritreduktion den Sauerstofftransport massiv ein.
2. Es konnte weiterhin nachgewiesen werden, daß DCLHb die myokardiale Perfusion und Oxygenierung verbessert. Die durch DCLHb induzierte Vasokonstriktion ermöglichte einen hohen koronaren Perfusionsdruck und die Verteilung des transportierten Sauerstoffes bis in die myokardiale Innenschicht. Das Verhältnis von endomyo- zu epimyokardialen Blutfluss (EER) war als Anzeichen der ausreichenden subendokardialen Sauerstoffversorgung bis Hämatokrit 1% ausgeglichen, die myokardiale Pumpfunktion blieb erhalten.

In der HSA-Gruppe dagegen führte bei Hämatokrit 6,1% die Reduktion von koronarem Perfusionsdruck und koronarem Blutfluss zu einer Umverteilung des nutritiven myokardialen Blutflusses zu Lasten der Innenschicht. Die ausgeprägte Myokardischämie äußerte sich in einem Verlust der myokardialen Funktion, in deren Folge alle Tiere der HSA-Gruppe verstarben.

3. Die Gewebeoxygenierung wurde durch DCLHb bis in tiefe Hämatokritbereiche sichergestellt. Erst unterhalb eines Hämatokritwertes von 4% gaben verminderte Sauerstoffaufnahme, erhöhte Serum-Laktatkonzentration und reduzierter Gewebe-pO₂ auf Leber und Skelettmuskel Hinweise für eine beginnende Gewebehypoxie.

In der HSA-Gruppe dagegen waren schon bei Hämatokrit 9% Anzeichen für eine Sauerstoffmangelversorgung der Gewebe zu beobachten, die sich bis Hämatokrit 6% zu einer ausgeprägten Gewebhypoxie steigerten.

Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die Effektivität von DCLHb in dem von uns gewählten Modell 1) durch seine vasokonstriktorische Potenz und 2) durch seine Sauerstofftransportkapazität vermittelt wurde. Die im Vergleich zur HSA-Gruppe wesentlich bessere myokardiale Oxygenierung, vor allem der Innenschicht, war verantwortlich für das Überleben aller DCLHb-Tiere, während alle Tiere der HSA-Gruppe im ischämischen Herzversagen verstarben.

Die Anwendung der ANH kann in Zukunft durch Verwendung von modifizierten Hämoglobinlösungen sicherer und dadurch häufiger angewendet werden, um die Transfusion von allogenen Blutkonserven zu vermeiden.

6 Literaturverzeichnis

1. Consensus conference. Perioperative red blood cell transfusion. *JAMA* 1988;260:2700-2703.
2. *Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten; 2. überarbeitete Auflage*. Köln: Bundesärztekammer, 2001.
3. Ali AA, Ali GS, Steinke JM, Shepherd AP. Co-oximetry interference by hemoglobin-based blood substitutes. *Anesth Analg* 2001;92:863-869.
4. Amberson WR, Jennings JJ, Rhode CM. Clinical experience with hemoglobin-saline solutions. *J Appl Physiol* 1949;1:469-489.
5. Azari M, Ebeling A, Baker R, Burhop K, Camacho T, Estep T, Guzder S, Marshall T, Rohn K, Sarajari R. Validation of the heat treatment step used in the production of diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb) for viral inactivation. *Artif Cells Blood Subst Immob Biotechnol* 1998;26:577-582.
6. Azari M, Rohn K, Picken J. Diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb): Characterization of the process and the product manufactured under GMP requirements for clinical studies. *Artif Cells Blood Subst Immob Biotechnol* 1994;22:701-708.
7. Bache RJ, Schwartz JS. Effect of perfusion pressure distal to a coronary stenosis on transmural myocardial blood flow. *Circulation* 1982;65:928-935.
8. Bagger H. Distribution of maximum coronary blood flow in the left ventricular wall of anesthetized dogs. *Acta Physiol Scand* 1978;104:48-60.
9. Baraka A, Chaya L, Yared JP, Baroody M, Haroun S, Mansour R. Hemodynamic effects of diazepam-vecuronium-fentanyl sequence for induction of anesthesia for coronary artery surgery. *Middle East J Anesthesiol* 1984;7:337-346.
10. Beldi G, Bosshard A, Hess OM, Althaus U, Walpoth BH. Transit time flow measurement: experimental validation and comparison of three different systems. *Ann Thorac Surg* 2000;70:212-217.
11. Bellamy RF. Calculation of coronary vascular resistance. *Cardiovasc Res* 1980;14:261-269.
12. Biboulet P, Capdevila X, Benetreau D, Aubas P, d'Athis F, du Cailar J. Haemodynamic effects of moderate normovolaemic haemodilution in conscious and anaesthetized patients. *Br J Anaesth* 1996;76:81-84.
13. Bilello K, Schultz S, Powell C, Jaffin J, Cole F, Malcolm D. Diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb): control of pressor effect with anti-hypertensive agents. *Artif Cells Blood Subst Immob Biotechnol* 1994;22:819-825.

14. Bjorck M, Hedberg B. Early detection of major complications after abdominal aortic surgery: predictive value of sigmoid colon and gastric intramucosal pH monitoring. *Br J Surg* 1994;81:25-30.
15. Bourke DL, Smith TC. Estimating allowable hemodilution. *Anesthesiology* 1974;41:609-612.
16. Bradley EC, Barr JW. Determination of blood volume using indocyanine green (cardio-green) dye. *Life Sci* 1968;7:1001-1007.
17. Brazier J, Cooper N, Buckberg G. The adequacy of subendocardial oxygen delivery: the interaction of determinants of flow, arterial oxygen content and myocardial oxygen need. *Circulation* 1974;49:968-977.
18. Brecher ME, Rosenfeld M. Mathematical and computer modeling of acute normovolemic hemodilution. *Transfusion* 1994;34:176-179.
19. Briden KL, Teltser M, Weiss HR. The effects of mild normovolemic hemodilution on regional flow, oxygenation, and small vessel blood content in the rabbit heart subjected to acute coronary occlusion. *Circ Shock* 1979;6:223-233.
20. Bryson GL, Laupacis A, Wells GA. Does acute normovolemic hemodilution reduce perioperative allogeneic transfusion? A meta-analysis. The International Study of Perioperative Transfusion. *Anesth Analg* 1998;86:9-15.
21. Buckberg GD, Luck JC, Payne DB, Hoffman JI, Archie JP, Fixler DE. Some sources of error in measuring regional blood flow with radioactive microspheres. *J Appl Physiol* 1971;31:598-604.
22. Buga GM, Gold ME, Fukuto JM, Ignarro LJ. Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 1991;17:187-193.
23. Cain SM. Oxygen delivery and uptake in dogs during anemic and hypoxic hypoxia. *J Appl Physiol* 1977;42:228-234.
24. Caron A, Mayer JC, Menu P, Alayash A, Marie PY, Vigneron C. Measurement of blood volume after haemodilution with haemoglobin-based oxygen carriers by a radiolabelled-albumin method. *Transfus Med* 2001;11:433-442.
25. Caron A, Menu P, Faivre-Fiorina B, Labrude P, Alayash AI, Vigneron C. Cardiovascular and hemorheological effects of three modified human hemoglobin solutions in hemodiluted rabbits. *J Appl Physiol* 1999;86:541-548.
26. Carson JL, Terrin ML, Barton FB, Aaron R, Greenburg AG, Heck DA, Magaziner J, Merlino FE, Bunce G, McClelland B, Duff A, Noveck H. A pilot randomized trial comparing symptomatic vs. hemoglobin-level-driven red blood cell transfusions following hip fracture. *Transfusion* 1998;38:522-529.
27. Chapler CK, Cain SM, Stainsby WN. The effects of hyperoxia on oxygen uptake during acute anemia. *Can J Physiol Pharmacol* 1984;62:809-814.

28. Chatterjee R, Welty EV, Walder RY, Pruitt SL, Rogers PH, Arnone A, Walder JA. Isolation and characterization of a new hemoglobin derivative crosslinked between the alpha chains (lysine 99 a₁-lysine 99 a₂). *J Biol Chem* 1986;261:9929-9937.
29. Clark LC. Monitor and control of blood and tissue oxygenation. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1956;2:41-46.
30. Clements FM, De Bruijn NP. Electrocardiography: monitoring for ischemia. In: Lake CL, ed. *Clinical monitoring*. Philadelphia London Toronto: Saunders, 1990.
31. Conhaim RL, Cooler SD, McGrath AM, DeAngeles DA, Myers GA, Harms BA. Filtration of diaspirin crosslinked hemoglobin into lung and soft tissue lymph. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1204-1212.
32. Conover CD, Linberg R, Shum KL, Shorr RG. The ability of polyethylene glycol conjugated bovine hemoglobin (PEG- Hb) to adequately deliver oxygen in both exchange transfusion and top-loaded rat models. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1999;27:93-107.
33. Crystal GJ. Myocardial oxygen supply-demand relations during isovolemic hemodilution. *Adv Pharmacol* 1994;31:285-312.
34. Crystal GJ, Rooney MW, Salem MR. Regional hemodynamics and oxygen supply during isovolemic hemodilution alone and in combination with adenosine-induced controlled hypotension. *Anesth Analg* 1988;67:211-218.
35. Crystal GJ, Ruiz JR, Rooney MW. Regional hemodynamics and oxygen supply during isovolemic hemodilution in the absence and presence of highgrade beta adrenergic blockade. *J Cardiothor Anesth* 1988;2:772-779.
36. D'Agnillo F, Alayash AI. Site-specific modifications and toxicity of blood substitutes. The case of diaspirin crosslinked hemoglobin. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;40:199-212.
37. Deby-Dupont G, Lamy ML. Oxygen carriers - hemoglobin-based solutions. *Transfusion medicine and alternatives to blood transfusions (TAB)*. 2000:298-311.
38. Dietz NM, Martin CM, Beltran-del-Rio AG, Joyner MJ. The effects of crosslinked hemoglobin on regional vascular conductance in dogs. *Anesth Analg* 1997;85:265-273.
39. Dodds WJ. The Pig Model for Biomedical Research. *Fed Proc* 1982;41:247-256.
40. Doherty DH, Doyle MP, Curry SR, Vali RJ, Fattor TJ, Olson JS, Lemon DD. Rate of reaction with nitric oxide determines the hypertensive effect of cell-free hemoglobin. *Nat Biotechnol* 1998;16:672-676.
41. Doss DN, Estafanous FG, Ferrario CM, Brum JM, Murray PA. Mechanism of systemic vasodilation during normovolemic hemodilution. *Anesth Analg* 1995;81:30-34.

42. Drake-Holland AJ, Laird JD, Noble MI, Spaan JA, Vergroesen I. Oxygen and coronary vascular resistance during autoregulation and metabolic vasodilation in the dog. *J Physiol* 1984;348:285-299.
43. Faivre-Fiorina B, Caron A, Fassot C, Fries I, Menu P, Labrude P, Vigneron C. Presence of hemoglobin inside aortic endothelial cells after cell-free hemoglobin administration in guinea pigs. *Am J Physiol* 1999;276:H766-H770.
44. Feldman JM, Roth JV, Bjoraker DG. Maximum blood savings by acute normovolemic hemodilution. *Anesth Analg* 1995;80:108-113.
45. Fiddian-Green RG. Associations between intramucosal acidosis in the gut and organ failure. *Crit Care Med* 1993;21:S103-S107.
46. Fontana JL, Welborn L, Mongan PD, Sturm P, Martin G, Bunger R. Oxygen consumption and cardiovascular function in children during profound intraoperative normovolemic hemodilution. *Anesth Analg* 1995;80:219-225.
47. Freas W, Llave R, Jing M, Hart J, McQuillan P, Muldoon S. Contractile effects of diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb) on isolated porcine blood vessels. *J Lab Clin Med* 1995;125:762-767.
48. Freitag M, Standl T, Horn EP, Wilhelm S, Schulte am Esch J. Acute normovolaemic haemodilution beyond a haematocrit of 25%: ratio of skeletal muscle tissue oxygen tension and cardiac index is not maintained in the healthy dog. *Eur J Anaesthesiol* 2002;19:487-494.
49. Gleichmann U, Lübbers DW. Die Messung des Sauerstoffdruckes in Gasen und Flüssigkeiten mit der Pt-Elektrode unter Berücksichtigung des Messung im Blut. *Pflugers Arch* 1960;271:431-442.
50. Gulati A, Rebello S. Diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb): Involvement of adrenergic mechanisms in the pressor effect. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 1994;22:603-612.
51. Gulati A, Sen AP. Dose-dependent effect of diaspirin crosslinked hemoglobin on regional blood circulation of severely hemorrhaged rats. *Shock* 1998;9:65-73.
52. Gulati A, Sen AP, Sharma AC, Singh G. Role of ET and NO in resuscitative effect of diaspirin crosslinked hemoglobin after hemorrhage in rat. *Am J Physiol* 1997;273:H827-H836.
53. Gulati A, Sharma AC, Burhop KE. Effect of stroma-free hemoglobin and diaspirin crosslinked hemoglobin on the regional circulation and systemic hemodynamics. *Life Sci* 1994;55:827-837.
54. Guyton AC, Richardson TQ. Effect of hematocrit on venous return. *Circ Res* 1961;9:157-164.
55. Habler O, Kleen M, Pape A, Meisner F, Kemming G, Messmer K. Diaspirin crosslinked hemoglobin reduces mortality of severe hemorrhagic shock in pigs with critical coronary stenosis. *Crit Care Med* 2000;28:1889-1898.

56. Habler O, Messmer K. Verfahren zur Reduktion von Fremdbluttransfusionen in der operativen Medizin. *Anaesthesist* 1997;46:915-926.
57. Habler O, Messmer K. Acute normovolemic hemodilution - pathophysiology of ANH. *Transfusion medicine and alternatives to blood transfusions (TAB)*. 2000;351-357.
58. Habler OP, Kleen MS, Hutter JW, Podtschaske AH, Tiede M, Kemming GI, Welte MV, Corso CO, Batra S, Keipert PE, Faithfull NS, Messmer KF. Effects of hyperoxic ventilation on hemodilution-induced changes in anesthetized dogs. *Transfusion* 1998;38:135-144.
59. Habler OP, Kleen MS, Podtschaske AH, Hutter JW, Tiede M, Kemming GI, Welte MV, Corso CO, Messmer KF. The effect of acute normovolemic hemodilution (ANH) on myocardial contractility in anesthetized dogs. *Anesth Analg* 1996;83:451-458.
60. Habler OP, Messmer KF. The physiology of oxygen transport. *Transfus Sci* 1997;18:425-435.
61. Haisjackl M, Luz G, Sparr H, Germann R, Salak N, Friesenecker B, Deusch E, Meusburger S, Hasibeder W. The effects of progressive anemia on jejunal mucosal and serosal tissue oxygenation in pigs. *Anesth Analg* 1997;84:538-544.
62. Hakkinen JP, Miller MW, Smith AH, Knight DR. Measurement of organ blood flow with coloured microspheres in the rat. *Cardiovasc Res* 1995;29:74-79.
63. Hale SL, Alker KJ, Kloner RA. Evaluation of nonradioactive, colored microspheres for measurement of regional myocardial blood flow in dogs. *Circulation* 1988;78:428-434.
64. Haller M, Akbulut C, Brechtelsbauer H, Fett W, Briegel J, Finsterer U, Peter K. Determination of plasma volume with indocyanine green in man. *Life Sci* 1993;53:1597-1604.
65. Haller M, Brechtelsbauer H, Akbulut C, Fett W, Briegel J, Finsterer U. Isovolemic hemodilution alters the ratio of whole-body to large-vessel hematocrit (F-cell ratio). A prospective, randomized study comparing the volume effects of hydroxyethyl starch 200,000/0.62 and albumin. *Infusionsther Transfusionsmed* 1995;22:74-80.
66. Hébert PC, Wells G, Tweeddale M, Martin C, Marshall J, Pham B, Blajchman M, Schweitzer I, Pagliarello G. Does transfusion practice affect mortality in critically ill patients? *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1618-1623.
67. Hess JR, Macdonald VW, Brinkley WW. Systemic and pulmonary hypertension after resuscitation with cell-free hemoglobin. *J Appl Physiol* 1993;74:1769-1778.
68. Heymann MA, Payne BD, Hoffman JI, Rudolph AM. Blood flow measurements with radionuclide-labeled particles. *Prog Cardiovasc Dis* 1977;20:55-79.

69. Hill RC, Kleinman LH, Tiller WH, Jr., Chitwood WR, Jr., Rembert JC, Greenfield JC, Jr., Wechsler AS. Myocardial blood flow and function during gradual coronary occlusion in awake dog. *Am J Physiol* 1983;244:H60-H67.
70. Hint H. The pharmacology of dextran and the physiological background for the clinical use of rheomacrodex and macrodex. *Acta Anaesthesiol Belg* 1968;19:119-138.
71. Hoffman JI. Determinants and prediction of transmural myocardial perfusion. *Circulation* 1978;58:381-391.
72. Hoffman JI. Transmural myocardial perfusion. *Prog Cardiovasc Dis* 1987;29:429-464.
73. Hogue CWJ, Goodnough LT, Monk TG. Perioperative myocardial ischemic episodes are related to hematocrit level in patients undergoing radical prostatectomy. *Transfusion* 1998;38:924-931.
74. Holt JP, Rhode EA, Kines H. Ventricular volumes and body weight in mammals. *Am J Physiol* 1968;215:704-715.
75. Ickx BE, Rigolet M, Van Der Linden PJ. Cardiovascular and metabolic response to acute normovolemic anemia. Effects of anesthesia. *Anesthesiology* 2000;93:1011-1016.
76. Jia L, Bonaventura C, Bonaventura J, Stamler JS. S-Nitrosohaemoglobin: A dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature* 1996;380:221-226.
77. Kazmierczak SC, Catrou PG, Best AE, Sullivan SW, Briley KP. Multiple regression analysis of interference effects from a hemoglobin- based oxygen carrier solution. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:453-464.
78. Kemming GI, Meisner FG, Kleen MS, Meier JM, Tillmanns JH, Hutter JW, Wojtczyk CJ, Packert KB, Bottino DA, Habler OP. Hyperoxic ventilation at the critical hematocrit. *Resuscitation* 2003;56:285-293.
79. Kerger H, Saltzman DJ, Menger MD, Messmer K, Intaglietta M. Systemic and subcutaneous microvascular pO₂ dissociation during 4-h hemorrhagic shock in conscious hamsters. *Am J Physiol* 1996;270:H827-H836.
80. Kessler M, Höper J, Krumme BA. Monitoring of tissue perfusion and cellular function. *Anesthesiology* 1976;45:184-197.
81. Kim HW, Feola M, Rowley BA, Roberts LA. Effects of hemoglobin perfusion on contractile function of the isolated ventricular septa. *Biomater Artif Cells Artif Organs* 1988;16:331-345.
82. Klein HG. Allogeneic transfusion risks in the surgical patient. *Am J Surg* 1995;170:21S-26S.
83. Kopko PM, Holland PV. Transfusion-related acute lung injury. *Br J Haematol* 1999;105:322-329.

84. Kowallik P, Schulz R, Guth BD, Schade A, Paffhausen W, Gross R, Heusch G. Measurement of regional myocardial blood flow with multiple colored microspheres. *Circulation* 1991;83:974-982.
85. Kreimeier U, Messmer K. Hemodilution in clinical surgery: State of the art 1996. *World J Surg* 1996;20:1208-1217.
86. Lamy ML, Daily EK, Brichant JF, Larbuisson RP, Demeyere RH, Vandermeersch EA, Lehot JJ, Parsloe MR, Berridge JC, Sinclair CJ, Baron JF, Przybelski RJ. Randomized trial of diaspirin crosslinked hemoglobin solution as an alternative to blood transfusion after cardiac surgery. The DCLHb Cardiac Surgery Trial Collaborative Group. *Anesthesiology* 2000;92:646-656.
87. Ledvina MA, Hart J, Bina S, Jing M, Muldoon S. Endothelin plays a role in contractions of isolated pig pulmonary vessels induced by diaspirin crosslinked hemoglobin. *J Lab Clin Med* 1999;133:478-487.
88. Leite-Moreira AF, Correia-Pinto J, Gillebert TC. Afterload induced changes in myocardial relaxation: a mechanism for diastolic dysfunction. *Cardiovasc Res* 1999;43:344-353.
89. Leone BJ, Spahn DR. Anemia, hemodilution, and oxygen delivery. *Anesth Analg* 1992;75:651-653.
90. Leung JM, Weiskopf RB, Feiner J, Hopf HW, Kelley S, Viele M, Lieberman J, Watson J, Noorani M, Pastor D, Yeap H, Ho R, Toy P. Electrocardiographic ST-segment changes during acute, severe isovolemic hemodilution in humans. *Anesthesiology* 2000;93:1004-1010.
91. Levy PS, Kim SJ, Eckel PK, Chavez R, Ismail EF, Gould SA, Ramez SM, Crystal GJ. Limit to cardiac compensation during acute isovolemic hemodilution: influence of coronary stenosis. *Am J Physiol* 1993;265:H340-H349.
92. Lew WY. Evaluation of left ventricular diastolic function. *Circulation* 1989;79:1393-1397.
93. Lieberman JA, Weiskopf RB, Kelley SD, Feiner J, Noorani M, Leung J, Toy P, Viele M. Critical oxygen delivery in conscious humans is less than 7.3 ml O₂ x kg⁻¹ x min⁻¹. *Anesthesiology* 2000;92:407-413.
94. Linberg R, Conover CD, Shum KL, Shorr RG. Hemoglobin based oxygen carriers: How much methemoglobin is too much? *Artif Cells Blood Subst Immob Biotechnol* 1998;26:133-148.
95. Liu WS, Bidwai AV, Stanley TH, Loeser EA, Bidwai V. The cardiovascular effects of diazepam and of diazepam and pancuronium during fentanyl and oxygen anaesthesia. *Can Anaesth Soc J* 1976;23:395-403.
96. London MJ, Hollenberg M, Wong MG, Levenson L, Tubau JF, Browner W, Mangano DT. Intraoperative myocardial ischemia: Localization by continuous 12-lead electrocardiography. *Anesthesiology* 1988;69:232-241.

97. Lubarsky DA, Smith LR, Sladen RN, Mault JR, Reed RL. Defining the relationship of oxygen delivery and consumption: use of biologic system models. *J Surg Res* 1995;58:503-508.
98. Lübbers DW, Baumgärtl H, Fabel H, Huch A, Kessler M, Kunze K, Riemann H, Seiler D, Schuchhardt S. Principle of construction and application of various platinum electrodes. *Progr Resp Res* 1969;3:136-146.
99. Macdonald VW, Winslow RM. Oxygen delivery and myocardial function in rabbit hearts perfused with cell-free hemoglobin. *J Appl Physiol* 1992;72:476-483.
100. Macdonald VW, Winslow RM, Marini MA, Klinker MT. Coronary vasoconstrictor activity of purified and modified human hemoglobin. *Biomater Artif Cells Artif Organs* 1990;18:263-282.
101. Manohar M, Parks C. Regional distribution of brain and myocardial perfusion in swine while awake and during 1.0 and 1.5 MAC isoflurane anaesthesia produced without or with 50% nitrous oxide. *Cardiovasc Res* 1984;18:344-353.
102. Messmer K. Hemodilution. *Surg Clin North Am* 1975;55:659-678.
103. Messmer K. Compensatory mechanisms for acute dilutional anemia. *Bibl Haematol* 1981;31-42.
104. Messmer K, Sunder-Plassmann L, Jesch F, Görnandt L, Sinagowitz E, Kessler M. Oxygen supply to the tissues during limited normovolemic hemodilution. *Res Exp Med (Berl)* 1973;159:152-166.
105. Messmer K, Sunder-Plassmann L, Kloevekorn WP, Holper K. Circulatory significance of hemodilution: Rheological changes and limitations. *Adv Microcirculation* 1972;4:1-77.
106. Migita R, Gonzales A, Gonzales ML, Vandegriff KD, Winslow RM. Blood volume and cardiac index in rats after exchange transfusion with hemoglobin-based oxygen carriers. *J Appl Physiol* 1997;82:1995-2002.
107. Mirhashemi S, Messmer K, Arfors KE, Intaglietta M. Microcirculatory effects of normovolemic hemodilution in skeletal muscle. *Int J Microcirc Clin Exp* 1987;6:359-369.
108. Mirvis DM, Ramanathan KB, Wilson JL. Regional blood flow correlates of ST segment depression in tachycardia-induced myocardial ischemia. *Circulation* 1986;73:365-373.
109. Moore GL, Zegna A, Ledford ME, Huling JP, Fishman RM. Evaluation of methemoglobin formation during the storage of various hemoglobin solutions. *Artif Organs* 1992;16:513-518.
110. Moss GS, Gould SA, Sehgal LR, Sehgal HL, Rosen AL. Hemoglobin solution - from tetramer to polymer. *Surgery* 1984;95:249-255.

111. Mueller XM, Tevæearai HT, Gardaz JP, Jegger D, von Segesser LK. Blood profile during and after hemoglobin substitute administration. *Int J Artif Organs* 2000;23:119-124.
112. Nakai K, Sakuma I, Ohta T, Ando J, Kitabatake A, Nakazato Y, Takahashi TA. Permeability characteristics of hemoglobin derivatives across cultured endothelial cell monolayers. *J Lab Clin Med* 1998;132:313-319.
113. National Institutes of Health. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (NIH publication No. 85-23). Washington D.C.: NIH, 1985.
114. Nelson AH, Fleisher LA, Rosenbaum SH. Relationship between postoperative anemia and cardiac morbidity in high-risk vascular patients in the intensive care unit. *Crit Care Med* 1993;21:860-866.
115. Nelson LD. Continuous venous oximetry in surgical patients. *Ann Surg* 1986;203:329-333.
116. Nolte D, Botzlar A, Pickelmann S, Bouskela E, Messmer K. Effects of diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb) on the microcirculation of striated skin muscle in the hamster: a study on safety and toxicity. *J Lab Clin Med* 1997;130:314-327.
117. Nolte D, Steinhauser P, Pickelmann S, Berger S, Hartl R, Messmer K. Effects of diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb) on local tissue oxygen tension in striated skin muscle: an efficacy study in the hamster. *J Lab Clin Med* 1997;130:328-338.
118. Nyhan D, Schulthesis L. The role of oxygen-carrying capacity in myocardial ischemia. *Int Anesthesiol Clin* 1992;30:101-113.
119. O'Hara JF, Jr., Colburn WA, Tetzlaff JE, Novick AC, Angermeier KW, Schubert A. Hemoglobin and methemoglobin concentrations after large-dose infusions of diaspirin crosslinked hemoglobin. *Anesth Analg* 2001;92:44-48.
120. Palaparthi R, Wang H, Gulati A. Current aspects in pharmacology of modified hemoglobins. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;40:185-198.
121. Pantely GA, Bristow JD, Swenson LJ, Ladley HD, Johnson WB, Anselone CG. Incomplete coronary vasodilation during myocardial ischemia in swine. *Am J Physiol* 1985;249:H638-H647.
122. Pape A, Kemming G, Meisner F, Kleen M, Habler O. Diaspirin crosslinked hemoglobin fails to improve left ventricular diastolic function after fluid resuscitation from hemorrhagic shock. *Eur Surg Res* 2001;33:318-326.
123. Raab S, Thein E, Harris AG, Messmer K. A new sample-processing unit for the fluorescent microsphere method. *Am J Physiol* 1999;276:H1801-H1806.
124. Raff GL, Glantz SA. Volume loading slows left ventricular isovolumic relaxation rate. Evidence of load-dependent relaxation in the intact dog heart. *Circ Res* 1981;48:813-824.

125. Räsänen J. Supply-dependent oxygen consumption and mixed venous oxyhemoglobin saturation during isovolemic hemodilution in pigs. *Chest* 1992;101:1121-1124.
126. Reitan JA, Warpinski MA. Cardiovascular effects of pancuronium bromide in mongrel dogs. *Am J Vet Res* 1975;36:1309-1311.
127. Resta TC, Walker BR, Eichinger MR, Doyle MP. Rate of NO scavenging alters effects of recombinant hemoglobin solutions on pulmonary vasoreactivity. *J Appl Physiol* 2002;93:1327-1336.
128. Ritchie AJ, Hartshorn S, Crosbie AE, Callingham BA, Latimer RD, Vuylsteke A. The action of diaspirin crosslinked haemoglobin blood substitute on human arterial bypass conduits. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;18:241-245.
129. Rooney MW, Hirsch LJ, Mathru M. Hemodilution with oxyhemoglobin. Mechanism of oxygen delivery and its supraaugmentation with a nitric oxide donor (sodium nitroprusside). *Anesthesiology* 1993;79:60-72.
130. Rose D, Coutsoftides T. Intraoperative normovolemic hemodilution. *J Surg Res* 1981;31:375-381.
131. Rottman G, Ness PM. Acute normovolemic hemodilution is a legitimate alternative to allogeneic blood transfusion. *Transfusion* 1998;38:477-480.
132. Rushmer R, Franklin DL, Ellis BS. Left ventricular dimensions recorded by sonocardiometry. *Circ Res* 1956;4:684-688.
133. Sakai H, Hara H, Yuasa M, Tsai AG, Takeoka S, Tsuchida E, Intaglietta M. Molecular dimensions of Hb-based O₂ carriers determine constriction of resistance arteries and hypertension. *Am J Physiol* 2000;279:H908-H915.
134. Samsel RW, Schumacker PT. Determination of the critical O₂ delivery from experimental data: Sensitivity to error. *J Appl Physiol* 1988;64:2074-2082.
135. Schou H, Perez de Sa V, Sigurdardottir M, Roscher R, Jonmarker C, Werner O. Circulatory effects of hypoxia, acute normovolemic hemodilution, and their combination in anesthetized pigs. *Anesthesiology* 1996;84:1443-1454.
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 crosslinked hemoglobin. *J Lab Clin Med* 1993;122:301-308.
137. Serna DL, Powell LL, Kahwaji C, Wallace WC, West J, Cogert G, Smulowitz P, Steward E, Purdy RE, Milliken JC. Cardiac function after eight hour storage by using polyethylene glycol hemoglobin versus crystalloid perfusion. *ASAIO J* 2000;46:547-552.
138. Sharma AC, Gulati A. Effect of diaspirin crosslinked hemoglobin and norepinephrine on systemic hemodynamics and regional circulation in rats. *J Lab Clin Med* 1994;123:299-308.

139. Sharma AC, Gulati A. Yohimbine modulates diaspirin crosslinked hemoglobin-induced systemic hemodynamics and regional circulatory effects. *Crit Care Med* 1995;23:874-884.
140. Sharma AC, Singh G, Gulati A. Role of NO mechanism in cardiovascular effects of diaspirin crosslinked hemoglobin in anesthetized rats. *Am J Physiol* 1995;269:H1379-H1388.
141. Sherman LA, Lippmann MB, Ahmed P, Buchholz DH. Effect on cardiovascular function and iron metabolism of the acute removal of 2 units of red cells. *Transfusion* 1994;34:573-577.
142. Sielenkämper AW, Chin-Yee IH, Martin CM, Sibbald WJ. Diaspirin crosslinked hemoglobin improves systemic oxygen uptake in oxygen supply-dependent septic rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1066-1072.
143. Sillerud LO, Caprihan A, Berton N, Rosenthal GJ. Efficacy of recombinant human Hb by ³¹P-NMR during isovolemic total exchange transfusion. *J Appl Physiol* 1999;86:887-894.
144. Slanetz PJ, Lee R, Page R, Jacobs EEJ, LaRaia PJ, Vlahakes GJ. Hemoglobin blood substitutes in extended preoperative autologous blood donation: an experimental study. *Surgery* 1994;115:246-254.
145. Sloan EP, Koenigsberg M, Gens D, Cipolle M, Runge J, Mallory MN, Rodman G, Jr. Diaspirin crosslinked hemoglobin (DCLHb) in the treatment of severe traumatic hemorrhagic shock: A randomized controlled efficacy trial. *JAMA* 1999;282:1857-1864.
146. Spahn DR, Schmid ER, Seifert B, Pasch T. Hemodilution tolerance in patients with coronary artery disease who are receiving chronic beta-adrenergic blocker therapy. *Anesth Analg* 1996;82:687-694.
147. Spahn DR, Zollinger A, Schlumpf RB, Stohr S, Seifert B, Schmid ER, Pasch T. Hemodilution tolerance in elderly patients without known cardiac disease. *Anesth Analg* 1996;82:681-686.
148. Stamm RB, Carabello BA, Mayers DL, Martin RP. Two-dimensional echocardiographic measurement of left ventricular ejection fraction: prospective analysis of what constitutes an adequate determination. *Am Heart J* 1982;104:136-144.
149. Standl TG, Reeker W, Redmann G, Kochs E, Werner C, Schulte am Esch J. Haemodynamic changes and skeletal muscle oxygen tension during complete blood exchange with ultrapurified polymerized bovine haemoglobin. *Intensive Care Med* 1997;23:865-872.
150. Sunder-Plassmann L, Kloevekorn WP, Holper K, Hase U, Messmer K. The physiological significance of acutely induced hemodilution. In: Ditzel J, Lewis DH, eds. 6th European Conference on Microcirculation, Aalborg 1970. Basel/New York: Karger, 1971:23-28.

151. Sunder-Plassmann L, Kloeve Korn WP, Messmer K. Präoperative Hämodilution: Grundlagen, Adaptationsmechanismen und Grenzen klinischer Anwendung. *Anaesthesist* 1976;25:124-130.
152. Thein E, Raab S, Harris AG, Kleen M, Habler O, Meisner F, Messmer K. Comparison of regional blood flow values measured by radioactive and fluorescent microspheres. *Eur Surg Res* 2002;34:215-223.
153. Thein E, Raab S, Harris AG, Messmer K. Automation of the use of fluorescent microspheres for the determination of blood flow. *Comput Meth Prog Biomed* 2000;61:11-21.
154. Trouwborst A, Tenbrinck R, Fennema M, Bucx M, van der Broek WG, Trouwborst-Weber BK. Cardiovascular responses, hemodynamics and oxygen transport to tissue during moderate isovolemic hemodilution in pigs. *Adv Exp Med Biol* 1990;277:873-879.
155. Trouwborst A, Van Woerkens EC, Rating W, Prakash O, Bos E, Wyers-Hille MJ. S35 and derived parameters during extracorporeal circulation together with hemodilution and hypothermia in humans. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1990;203:143-7.:143-147.
156. Tsai AG. Influence of cell-free Hb on local tissue perfusion and oxygenation in acute anemia after isovolemic hemodilution. *Transfusion* 2001;41:1290-1298.
157. Tsai AG, Friesenecker B, Kerger H, Sakai H, Intaglietta M. The mechanism of tissue oxygenation and the design of oxygen carrying plasma expanders. In: Winslow RM, Vandegriff KD, Intaglietta M, eds. *Advances in Blood Substitutes. Industrial Opportunities and Medical Challenges*. Boston: Birkhäuser, 1997:189-206.
158. Tsai AG, Kerger H, Intaglietta M. Microcirculation consequences of blood substitution with hemoglobin solutions. In: Rudolph AS, Rabinovici R, Feuerstein G, eds. *Red Blood Cell Substitutes*. New York: 1998:69-78.
159. Vamvakas EC, Blajchman MA. Deleterious clinical effects of transfusion-associated immunomodulation: Fact or fiction? *Blood* 2001;97:1180-1195.
160. Van Bommel J, Siegemund M, Henny CP, van den Heuvel DA, Trouwborst A, Ince C. Preservation of intestinal microvascular Po₂ during normovolemic hemodilution in a rat model. *J Lab Clin Med* 2000;135:476-483.
161. Van Citters RL, Franklin DL. Cardiovascular performance of Alaska sled dogs during exercise. *Circ Res* 1969;24:33-42.
162. Van Woerkens EC, Trouwborst A, van Lanschot JJ. Profound hemodilution: What is the critical level of hemodilution at which oxygen delivery-dependent oxygen consumption starts in an anesthetized human? *Anesth Analg* 1992;75:818-821.

163. Vara-Thorbeck R, Guerrero-Fernandez MJ. Hemodynamic response of elderly patients undergoing major surgery under moderate normovolemic hemodilution. *Eur Surg Res* 1985;17:372-376.
164. Vatner SF. Correlation between acute reductions in myocardial blood flow and function in conscious dogs. *Circ Res* 1980;47:201-207.
165. Viele MK, Weiskopf RB. What can we learn about the need for transfusion from patients who refuse blood? The experience with Jehovah's Witnesses. *Transfusion* 1994;34:396-401.
166. Vincent JL. The relationship between oxygen demand, oxygen uptake, and oxygen supply. *Intensive Care Med* 1990;16 Suppl 2:S145-S148.
167. Von Starck. Ueber Haemoglobininjektionen. *Dtsch Med Wochenschr* 1898;45:69-72.
168. Vuylsteke A, Davidson HJ, Ho WS, Ritchie AJ, Callingham BA, White R, Hiley CR. Effect of the blood substitute diaspirin crosslinked hemoglobin in rat mesenteric and human radial collateral arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;37:394-405.
169. Wallace AG, Skinner NS, Mitchel JH. Hemodynamic determinants of the maximal rate of rise of left ventricular pressure. *Am J Physiol* 1963;205:30-36.
170. Wang P, Ba ZF, Lu MC, Ayala A, Harkema JM, Chaudry IH. Measurement of circulating blood volume in vivo after trauma-hemorrhage and hemodilution. *Am J Physiol* 1994;266:R368-R374.
171. Watanabe S, Buffington CW. Speed and sensitivity of mechanical versus electrographic indicators to mild or moderate myocardial ischemia in the pig. *Anesthesiology* 1994;80:582-594.
172. Weaver ME, Pantely GA, Bristow JD, Ladley HD. A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary arteries in swine in comparison with other animals and man. *Cardiovasc Res* 1986;20:907-917.
173. Weiskopf RB. Mathematical analysis of isovolemic hemodilution indicates that it can decrease the need for allogeneic blood transfusion. *Transfusion* 1995;35:37-41.
174. Weiskopf RB, Feiner J, Hopf HW, Viele MK, Watson JJ, Kramer JH, Ho R, Toy P. Oxygen reverses deficits of cognitive function and memory and increased heart rate induced by acute severe isovolemic anemia. *Anesthesiology* 2002;96:871-877.
175. Weiskopf RB, Viele MK, Feiner J, Kelley S, Lieberman J, Noorani M, Leung JM, Fisher DM, Murray WR, Toy P, Moore MA. Human cardiovascular and metabolic response to acute, severe isovolemic anemia. *JAMA* 1998;279:217-221.
176. Winslow RM. Blood substitutes. *Adv Drug Deliv Rev* 2000;40:131-142.

177. Wolthuis A, Peek D, Scholten R, Moreira P, Gawryl M, Clark T, Westerhuis L. Effect of the hemoglobin-based oxygen carrier HBOC-201 on laboratory instrumentation: Cobas Integra, Chiron blood gas analyzer 840, Sysmex SE-9000 and BCT. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:71-76.
178. Yang T, Olsen KW. The effect of crosslinking by bis(3,5-dibromosalicyl) fumarate on the autoxidation of hemoglobin. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;163:733-738.

Danksagung

Herrn Prof. emer. Dr. med. Dr. h.c. mult. K. Meßmer gilt mein außerordentlicher Dank für die freundliche Aufnahme an das Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität München. Mit der Überlassung des Dissertationsthemas ermöglichte er mir die Einarbeitung in ein faszinierendes Themengebiet. Weiterhin danke ich ihm für die hervorragende Betreuung und Unterstützung, die Beharrlichkeit und Gründlichkeit in der gemeinsamen Arbeit sowie für Anregungen und kritische Hinweise.

Von Herzen danke ich meinem Betreuer Dr. G. Kemming, der meine Dissertation von Anfang an mit viel Engagement begleitet hat und mir jederzeit geduldig zur Verfügung stand. Er hat mich fachlich und persönlich stets unterstützt und motiviert.

Ganz besonderer Dank gilt auch den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe: Herrn PD Dr. M. Kleen, Herrn Dr. F. Meisner, Herrn Dr. D. Bottino sowie Frau A. Schropp für die ausgezeichnete und kollegiale Unterstützung bei der Durchführung der Versuchsreihe. Die immer angenehme Arbeitsatmosphäre machte die Anfertigung dieser Arbeit zu einer unvergeßlichen Erfahrung.

Herrn PD Dr. O. Habler danke ich für die konstruktiven und kompetenten Ratschläge während der Auswertung der Ergebnisse.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern, die die Durchführung dieser Arbeit erst möglich gemacht haben.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name Tillmanns
Vorname Jochen
Geburtsdatum 02.09.1975
Geburtsort Heidelberg
Nationalität Deutsch
Familienstand Ledig

Schulbildung 1981-1985: Grundschule Heidelberg/Schlierbach
1985-1989: Kurfürst-Friedrich-Gymnasium, Heidelberg
1990-1994: Landgraf-Ludwig-Schule, Gießen
Abschluß: Allgemeine Hochschulreife (Juni 1994)

Zivildienst Klinikum der Justus-Liebig-Universität, Gießen (1994-1995)

Hochschulstudium WS 1995/96
Beginn des Medizinstudiums an der Justus-Liebig-Universität,
Gießen
SS 1996-WS 2002/03
Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität,
München
3. med. Staatsexamen: 28. November 2002

Beruflicher Werdegang April 2003
Beginn der Tätigkeit als AiP in der
Abteilung für Innere Medizin am Klinikum der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg