Aus dem Institut für Chirurgische Forschung der LMU
ehemaliger Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult K. Meßmer
jetziger komm. Direktor: Prof. Dr. U. Pohl

Einfluss von Perflubron® 60% als Supplement zur Volumentherapie nach hämorrhagischem Schock auf Myokardoxygenierung und Herzfunktion

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

vorgelegt von
Kristian Packert
aus München
2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. K. Meßmer
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. P. Eyer Prof. Dr. S. Nees
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. med. G. Kemming
Dekan:	Prof. Dr. med. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	27.10.2005

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung.....5

1.1. Hämorrhagischer Schock.....6
1.1.1. Definition „Schock“.....6
1.1.2. Klassifikation der verschiedenen Schockformen.....6
1.1.3. Pathophysiologie des hämorrhagischen Schocks..... 8
1.1.3.1. Der Organismus im Schock.....8
1.1.3.2. Das Herz im Schock..... 12
1.1.3.3. Grenzen der Kompensationsfähigkeit.....14
1.1.4. Therapie des hämorrhagischen Schocks.....15
1.1.4.1. Volumensubstitution.....17
1.1.4.1.1. Präparate..... 19
1.1.4.1.2. Folge der Volumentherapie: Hämodilution.....21
1.1.4.2. Steigerung des arteriellen Sauerstoffgehalts.....22
1.2. Perfluorocarbone.....24
1.2.1. Entwicklung und Historie.....26
1.2.2. Perflubron®..... 29
1.2.2.1. Eigenschaften der Substanz..... 29
1.2.2.2. Erwiesene Effektivität in der Hämodilution.....31
1.3. Fragestellung.....34

2. Material und Methodik..... 35

2.1. Experimentelles Modell.....35
2.1.1. Spezies..... 35
2.1.2. Splenektomie..... 35
2.1.3. Anästhesie.....36
2.1.4. Chirurgische Präparation..... 38
2.1.5. Schockmodell..... 39
2.2. Versuchsprotokoll.....41
2.3. Messungen..... 44
2.3.1. Blutvolumen - Indocyanin-Grün-Verdünnungsmethode.....44
2.3.2. Hämodynamik.....45
2.3.3. Myokardiale Perfusion - Fluoreszierende Mikrosphären..... 46
2.3.4. Myokardoxygenierung.....50
2.3.4.1. Myokardiale DO_2 und VO_2.....50
2.3.4.2. ST-Strecken-Analyse.....51
2.3.4.3. Interstitielles Lactat - Mikrodialyse.....52
2.3.5. Myokardfunktion..... 53
2.3.5.1. Systolische Herzfunktion.....53
2.3.5.2. Diastolische Herzfunktion..... 54
2.4. Statistik..... 55
2.5. Abgeleitete Parameter.....56

3. Ergebnisse.....58

3.1. Experimenteller Schock - Vergleichbarkeit der Gruppen..... 58
3.2. Hämodynamik.....59
3.3. Gasaustausch und Sauerstofftransport.....59
3.4. Myokardiale Perfusion.....62
3.4.1. Regionaler Blutfluss.....62
3.4.2. Endo-Epi-Ratio.....67
3.4.3. Zusammenfassung Myokardiale Perfusion.....67
3.5. Myokardoxygenierung.....68
3.5.1. Myokardiale DO_2 und VO_2.....68
3.5.2. ST-Strecken-Analyse.....70
3.5.3. Interstitielles Lactat..... 70
3.5.4. Zusammenfassung Myokardoxygenierung.....71
3.6. Myokardfunktion.....74
3.6.1. Systolische Herzfunktion.....74
3.6.2. Diastolische Herzfunktion..... 75
3.6.3. Zusammenfassung Myokardfunktion..... 75

4. Diskussion.....78

4.1. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse..... 78
4.2. Diskussion des experimentellen Modells..... 79
4.2.1. Wahl der Spezies..... 79
4.2.2. Einfluss der Splenektomie..... 80
4.2.3. Einfluss der Anästhesie.....83
4.2.4. Induktion des experimentellen Schocks..... 83
4.2.5. Potentielle Interaktionen durch Perflubron®.....90
4.3. Methoden.....91
4.3.1. Fluoreszierende Mikrosphären..... 91
4.3.2. Mikrodialyse.....93
4.3.3. Myokardfunktion... 94
4.3.3.1. Systolische Herzfunktion.....94
4.3.3.2. Diastolische Herzfunktion..... 95
4.4. Ergebnisse.....97
4.4.1. Experimenteller Schock - Vergleichbarkeit der Gruppen..... 97
4.4.2. Hämodynamik.....97
4.4.3. Myokardiale Perfusion.....100
4.4.4. Myokardoxygenierung.....106
4.4.5. Myokardfunktion.....109
4.5. Kein Benefit von Perflubron® auf Myokardoxygenierung und Herzfunktion nach hämorrhagischem Schock – nur eine Frage der Dosis ?.....112

5. Zusammenfassung..... 119

6. Abkürzungsverzeichnis..... 121

7. Literaturverzeichnis..... 125

8. Danksagung.....141

9. Lebenslauf..... 142

1. Einleitung

Kommt es im Rahmen eines Traumas zu einem größeren Blutverlust, erleiden die Patienten einen schweren hämorrhagischen Schock. Der Körper versucht das verminderte Blutvolumen durch eine Umverteilung der Zirkulation (Zentralisation) den lebenswichtigen Organen wie Herz und Gehirn zuzuführen, dies jedoch zuungunsten peripherer Organe, die nun minderversorgt werden, Gewebehypoxie und –schäden sind die Folge.

Der Schock stellt einen lebensgefährlichen Zustand dar, der sofortige und adäquate Therapie-Maßnahmen erfordert. Primäres Ziel muss hierbei die Normalisierung des zirkulierenden Blutvolumens mittels kristalloider oder kolloidaler Lösungen sein, da nur ein ausreichendes Blut– und Herzzeitvolumen (HZV) die Organperfusion sicherstellen kann. Eine ausgeprägte Volumensubstitution führt allerdings zur Dilution des Blutes und somit zu einer Abnahme der Hämoglobinkonzentration und des arteriellen Sauerstoffgehalts. Trotz adäquater Organperfusion kann der Mangel an sauerstofftransportierendem Hämoglobin zu einem weiteren Fortschreiten der Gewebehypoxie führen, diese Situation stellt eine Indikation zur Fremdbluttransfusion dar. Die Anwendung von Blutkonserven ist aber aufgrund logistischer und technischer Probleme auf Krankenhäuser beschränkt. Der vorherrschende Mangel an Blutkonserven, die aufwendige Kühlung und vor allem die begrenzte Haltbarkeit der Konserven machen eine präklinische Transfusion von Fremdblut derzeit unmöglich. Aus diesem Grund sind künstliche Sauerstoffträger wie Hämoglobinlösungen und Perfluorocarbone schon lange das Objekt intensiver Forschung. Ihre Eigenschaften wie unbegrenzte Herstellung, lange Haltbarkeit, einfache Lagerung und fehlende Antigenität lassen ihre Anwendung unproblematisch und sicher, durch ihr Potenzial Sauerstoff zu transportieren, jedoch vor allem effektiv erscheinen. Sie könnten frühzeitig den Sauerstoffmangel der Gewebe beheben und so nicht nur den Zustand des Patienten verbessern, sondern auch das Auftreten von Organspätschäden vermindern.

1.1 Hämorrhagischer Schock

1.1.1 Definition „Schock“

Der Begriff Schock beschreibt ein klinisches Syndrom, welches als Folge einer inadäquaten Durchblutung vitaler Organsysteme auftritt, die unzureichend ist, um normale metabolische Funktionen (Sauerstoff- und Substratanlieferung, Kohlendioxid- und Metabolitenabtransport) aufrechtzuerhalten. Als Ausdruck des Missverhältnisses zwischen Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf kommt es konsekutiv zu einer Gewebehypoxie, die sekundär zu funktionellen und später auch morphologischen Schäden der Organe führt.[130,147]

Die eingeschränkte Organdurchblutung ist immer Folge einer Verminderung oder Umverteilung des zirkulierenden Blutvolumens, unabhängig von der auslösenden Ursache der Perfusionsstörung finden sich jedoch in allen Schockformen gemeinsame pathogenetische Mechanismen in der Mikrozirkulation.

1.1.2 Klassifikation der verschiedenen Schockformen

Eine Einteilung der verschiedenen Schockformen erfolgt sinnvollerweise nach der auslösenden Ursache der Zirkulationsstörung, diese kann sowohl in der Makrozirkulation (bestehend aus Blutvolumen, Herz als zentrales Pumporgan und dem Gefässsystem) als auch in der Mikrozirkulation (Permeabilität, Viskosität und Zellverhalten) liegen. Nach heute vorherrschender Meinung lassen sich fünf Schockformen voneinander abgrenzen: der hypovolämische, der kardiogene, der vasogene, der septische und der traumatische Schock als Sonderform, da letzterer eine Mischform aus mehreren vorher genannten darstellt.[147]

Der hypovolämische Schock ist die häufigste Form, er wird durch Blutverluste (gastrointestinale Blutungen, innere Blutungen, Trauma, perioperativer Blutverlust) oder andere Plasma- bzw. Flüssigkeitsverluste (Exsudation bei Verbrennungen, gesteigerte Diurese, Diarrhoe, transkapilläre Verluste bei Ileus, Peritonitis, Pankreatitis) ausgelöst.[197]

Im Vordergrund steht die Verminderung des zirkulierenden Blutvolumens und der Füllungsdrücke. Als Folge der Kompensationsmechanismen (Tachykardie, periphere Vasokonstriktion) entstehen die typischen klinischen Zeichen des Schocks: blasse, kalte Haut, akutes Nierenversagen mit Oligurie und Hypotension.

Dem kardiogenen Schock liegt primär ein kardiales Pumpversagen zugrunde.[131] Im Unterschied zum hypovolämischen Schock sind das zirkulierende Blutvolumen normal und die kardialen Füllungsdrücke erhöht. Häufig kommt es durch den Rückstau des Blutes zum Lungenödem und Rechtsherzbelastung. Ursächlich kommen eine Abnahme der Kontraktilität (Myokardinfarkt, Kardiomyopathie), Arrhythmien, akute Klappeninsuffizienzen oder Myokardrupturen (post Infarkt, traumatisch) in Betracht. Der obstruktive kardiale Schock ist durch eine mechanische Behinderung des kardialen Ein- oder Ausflusstraktes gekennzeichnet, als Gründe sind atriale Tumore od. Thromben, konstriktive Perikarditis, Perikardtamponade, Lungenembolie, Aortenstenose oder –dissektion aber auch Spannungspneumothorax zu nennen.[197]

Der vasogene Schock tritt bei einer massiven Vasodilatation auf, bei der das zirkulierende Blutvolumen zwar normal, für das erweiterte Gefässsystem jedoch relativ zu gering ist. Auslöser können z.B. die im Rahmen einer anaphylaktischen Reaktion freiwerdenden endogenen Mediatoren sein. Eine spezielle Form des vasogenen Schocks stellt der neurogene Schock dar, hierbei kommt es durch eine Fehlsteuerung vasogener Nerven zur Dilatation der Gefässe. Eine medikamentöse Vasokonstriktion ist die einzige wirksame Massnahme in dieser Situation.

Der septische Schock wird durch infektiöse Erreger oder ihre Abbauprodukte ausgelöst. An erster Stelle seien hier v.a. gram-negative Bakterien und die beim ihrem Zerfall freiwerdenden Endotoxine zu nennen. Der septische Schock nimmt eine Sonderstellung ein, da er in der Regel zweiphasig abläuft. Zunächst liegt ein hyperdynames Kreislaufstadium vor, die Eröffnung peripherer arterio-venöser Shunts führt zu einer Abnahme des systemischen Widerstandes und

konsekutiv zu einem gesteigerten Herzzeitvolumen. Die Umgehung des Kapillargebietes hat aber auch in dieser Situation eine Minderperfusion der Organe, eine Gewebehypoxie und metabolische Azidose zur Folge. Im weiteren Verlauf sinkt das HZV dann progressiv ab, es entwickelt sich das hypodyname Kreislaufstadium, das in seiner Pathophysiologie nun den anderen Schockformen gleicht.[131]

Der traumatische Schock wird als eine Mischung der vorher genannten Formen angesehen. Wie bereits erwähnt führen alle Schockformen unabhängig ihrer Genese letztendlich zu identischen pathologischen Vorgängen in der Mikrozirkulation, die somit den eigentlichen Ort des Schockgeschehens darstellt.

1.1.3 Pathophysiologie des hämorrhagischen Schocks

1.1.3.1 Der Organismus im Schock

Der Blutverlust führt initial zu einem vermindertem venösen Rückfluss zum Herzen und dort zu erniedrigten Füllungsdrücken und niedrigeren Schlagvolumina. Dies hat zunächst einen Abfall des arteriellen Blutdruckes zur Folge, Barorezeptoren im Aortenbogen und im Carotissinus registrieren den Druckabfall und lösen reflektorisch eine Sympathikusaktivierung aus, aus der Nebenniere und aus postganglionären sympathischen Nervenendigungen werden endogene Katecholamine (Adrenalin und Noradrenalin) freigesetzt.[128,130,147] Dies wird als sympathikoadrenerge Reaktion (SAR) oder auch neuroendokrine Antwort bezeichnet und hat die Aufrechterhaltung des arteriellen Blutdruckes zum Ziel. Die Katecholamine führen am Herzen über die Vermittlung von β_1-Rezeptoren zu einem Anstieg der Kontraktilität und einer Steigerung der Herzfrequenz. Weitere Folgen sind eine Tachypnoe, eine respiratorische Alkalose sowie ein erhöhter Sauerstoffbedarf. Der entscheidende Effekt der SAR ist aber eine massive periphere Vasokonstriktion α-adrenerger Arteriolen, welche aufgrund der Innervationsdichte v.a. in Splanchnicus-Gebiet, Muskulatur, Niere und Haut auftritt. Diese Organe

werden nun noch weniger perfundiert, auf ihre Kosten wird das zirkulierende Blutvolumen zugunsten lebenswichtiger Organe wie Herz und Gehirn (Zentralisation) umverteilt, diese haben wenig α-adrenerge Aktivität und sind daher keiner Perfusionsminderung ausgesetzt. Die sympathikoadrenerge Reaktion ist somit für die klinischen Zeichen des manifesten Schocks verantwortlich, neben Tachykardie zählen kalte, blasse Haut und Oligurie zu den klassischen Symptomen.[130,147] Das Vorliegen einer Hypotonie ist für die Diagnose Schock nicht zwingend, denn bis zu 30% Blutverlust können durch die SAR vom Organismus kompensiert werden, ohne dass der Blutdruck abfällt. Ein normaler Blutdruck schliesst also eine periphere Vasokonstriktion und Organminderperfusion nicht aus, für die Beurteilung des Volumenstatus muss der zentrale Venendruck herangezogen werden. Falls die SAR den Blutdruck nicht aufrechterhalten kann, treten weitere Kompensationsmechanismen in Kraft: ein Anstieg des Venentonus bewirkt eine Steigerung des venösen Rückstroms aus den Kapazitätsgefässen (Autotransfusion), in denen sich normalerweise ca. 80% des Blutvolumens befinden. Daneben werden auch adrenocorticotropes Hormon (ACTH) aus dem Hypothalamus, antidiuretisches Hormon (ADH/Vasopressin) aus der Hypophyse sowie Aldosteron freigesetzt, um die renale Salz- und Wasserresorption zu steigern. Schliesslich wird vermehrt interstitielle Flüssigkeit nach intravasal transportiert, mit dem Ziel das Blutvolumen zu steigern.[22,128,130,147] Die sympathikoadrenerge Reaktion hat aber fatale Folgen für die Mikrozirkulation und die dort stattfindenden Austauschvorgänge. Wie bereits erwähnt führt die Katecholamineinwirkung zu einer Vasokonstriktion an α-adrenergen Arteriolen, aber auch prä- und postkapilläre Sphincter werden hierdurch in der Frühphase des Schocks konstringiert. Dadurch sinkt zunächst der hydrostatische Druck im Kapillarbereich und die osmotische Wirkung der Proteine bewirkt einen Flüssigkeitseinstrom, somit eine Erhöhung des Volumens und gleichzeitig einen Abfall des onkotischen Druckes. Die Minderperfusion führt zu einem Sauerstoffmangel, eine Gewebehypoxie ist die Folge. Daher stellen die Zellen im ischämi-

schen Gebiet vermehrt auf den anaeroben Stoffwechselweg um, durch Umgehung des Zitratzyklus werden saure Metabolite, v.a. Lactat und Pyruvat, gebildet, die aufgrund der Stase zusammen mit freiwerdenden cytoplasmatischen und lysosomalen Enzymen im Kapillarbett akkumulieren.[128] Die Folge ist eine metabolische Azidose, die Ansprechbarkeit für Katecholamine wird herabgesetzt und die präkapillären Sphincter dilatieren während die postkapillären weiterhin konstringiert bleiben. Dieser Vorgang wird als schockspezifische Vasomotion bezeichnet und hat schwerwiegende Konsequenzen.[130] Zunächst stagniert die Kapillarperfusion und das Blut staut sich auf (pooling), der nun erhöhte hydrostatische Druck und die gesteigerte Kapillarpermeabilität führen zu einer lokalen Hämokonzentration, die Viskosität steigt an, die transkapillären Plasmaverluste ins umgebende Gewebe ziehen eine weitere Reduktion des venösen Rückstroms, und somit auch des Herzzeitvolumens und des globalen Sauerstoffangebots (DO_2), nach sich.

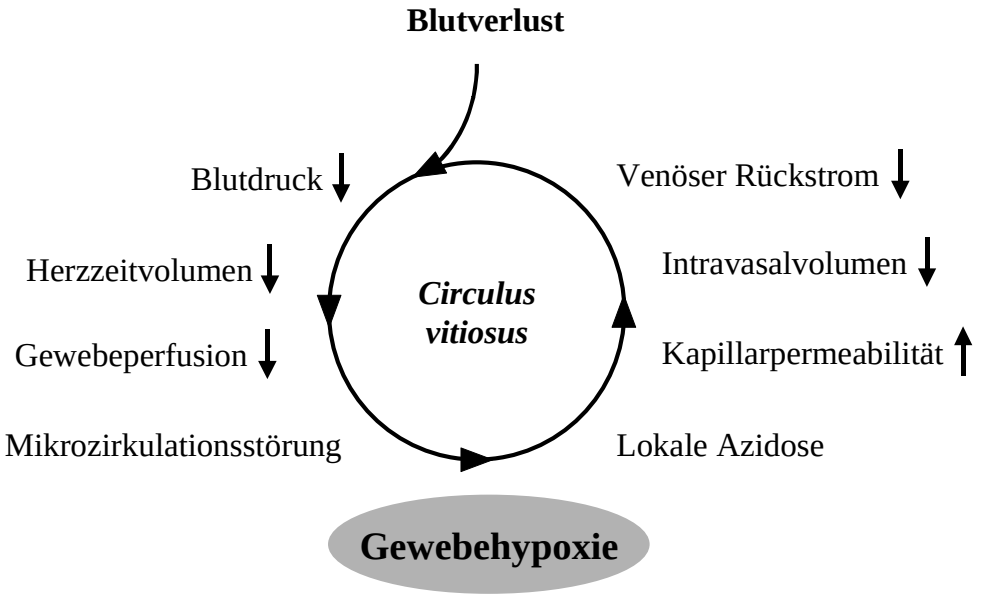


Abb. 1: Pathophysiologie im hämorrhagischen Schock. Eine Abnahme des Herzzeitvolumens führt zur Minderperfusion der Gewebe und Ausbildung einer Hypoxie, diese zieht die schockspezifische Vasomotion nach sich, der Flüssigkeitsverlust ins Interstitium bedingt eine weiter Verringerung des zirkulierenden Blutvolumens.

Klinische Manifestation:

Die klinische Manifestation eines Schockzustands kann vom Fehlen jeglicher Symptome bis zur Reanimationspflichtigkeit erheblich variieren und ist vorwiegend von der Menge des Blutverlustes, an der sich die Stadieneinteilung orientiert, und der Kompensationsfähigkeit des Organismus (i.d.R. bis 20-30 % BV entsprechend Stadium II) abhängig.[147]

STADIUM	BLUTVERLUST		KLINISCHE ZEICHEN
I	10 – 15 %	500 - 750 ml	normoton, keine Kreislaufreaktion
II	20 – 30 %	- 1500 ml	tachykard, normoton, ängstlich, blaß, kaltschweissig
III	30 – 40 %	- 2000 ml	tachykard, hypoton, tachypnoeisch, oligurisch, agitiert
IV	> 40 %	> 2000 ml	tachykard, hypoton, tachypnoeisch, oligurisch, Koma

Tabelle 1: Verschiedene Schockstadien und zugehörige Klinik in Abhängigkeit vom Blutverlust (ungefähre Volumenangaben für einen Patienten mit 70kg)

Der Schock und die Kompensation wirken sich auf die Organsysteme aus. Das Gehirn spielt zunächst in der Abwehrreaktion des Organismus eine wichtige Rolle, Afferenzen der Barorezeptoren führen zur Sympathikusaktivierung, des Weiteren werden vermehrt ADH, ACTH, β-Endorphine und TSHRH ausgeschüttet. Erst wenn der Schock dekompensiert und ein suffizienter Kreislauf nicht mehr aufrecht erhalten werden kann, wird auch das Gehirn minderperfundiert, dies führt zu einer Einschränkung der elektrophysiologischen und funktionellen Aktivität der Neuronen und macht sich klinisch als Verwirrtheit, Benommenheit oder Koma bemerkbar. Die Niere ist aufgrund der α-Aktivität eines von der Zentralisation am stärksten betroffenen Organe, v.a. die Nierenrinde wird stark hypoperfundiert.[43,74] Im Rahmen der Gegenreaktion wird das Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems aktiviert und vermehrt Erythropoetin ausgeschüttet. Folgen der Minderversorgung sind eine Oligo-/Anurie, die in ein akutes Nierenversagen münden kann. Bei anhaltender Gewebehypoxie können Tubulusnekrosen entstehen. In den Organen des Splanchnicusgebietes reagiert v.a. die Mukosa empfindlich auf den Sauerstoffmangel, so entstehen im Magen-Darm-Trakt Ulzerationen und Blutungen. Die

Mukosa stellt aber auch eine wichtige Barriere für Bakterien und Endotoxine dar, ihre Zerstörung ist ein entscheidender Prozess in der Entwicklung von Spätfolgen wie einer systemischen Entzündungsreaktion (SIRS) oder eines Multiorganversagens (MOV). Die Leber zeigt nach hämorrhagischen Schock zentrilobuläre Nekrosen und fettige Infiltrationen. Die Stoffwechsel- und Metabolisierungaktivitäten sind eingeschränkt, Albumin und weitere Leberprodukte werden vermindert gebildet, toxische Substanzen, die aufgrund der geschädigten Darmmukosa verstärkt ins portalvenöse Blut eintreten, werden nicht mehr abgebaut und gelangen in den systemischen Blutkreislauf.[32,147,161]

1.1.3.2 Das Herz im Schock

Das Herz nimmt als zentrales lebenswichtiges Organ eine Sonderstellung in der Pathophysiologie des Schocks ein und ist gleichzeitig Zielorgan der Kompensationsmechanismen. In Ruhe ist die Sauerstoffextraktionsrate des Myokards bereits relativ hoch (50-60%)[107] und kann nur noch wenig gesteigert werden, ein erhöhter myokardialer Sauerstoffbedarf wird vorwiegend über eine Steigerung der myokardialen Perfusion gesteuert (Koronarreserve). Die durch die sympathikoadrenerge Reaktion freigesetzten Katecholamine bewirken über die β_1-Rezeptoren eine positiv ino- und chronotrope Wirkung. Des Weiteren wird an den Koronarien eine Vasodilatation ausgelöst, die myokardiale Perfusion bleibt so zunächst aufrechterhalten. Allerdings wird durch die Einwirkung der Katecholamine der Sauerstoffbedarf des Herzens erhöht und der Wirkungsgrad der Herzarbeit herabgesetzt. Die Steigerung der Herzfrequenz führt vorwiegend zu einer Verkürzung der Diastolendauer

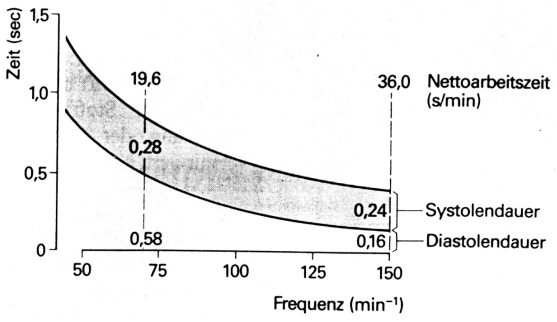


Abb. 2: Abnahme der Diastolendauer bei zunehmender Herzfrequenz. *Forth W , et al (1992)): Pharmakologie und Toxikologie: 369c*

(Abb. 2). Da die Koronargefässe bevorzugt in der Diastole perfundiert werden (Abb. 3), hat die Tachykardie eine Einschränkung der Nettoperfusion zur Folge. Durch die Abnahme der Nachlast und des Schlagvolumens ist zwar die vom Herzen zu leistende Arbeit ebenfalls verringert, da die Arbeit nun aber unökonomisch abläuft, muss die myokardiale Perfusion überproportional gesteigert werden. Dies wird durch die Autoregulation des Herzens sichergestellt solange ein ausreichend hoher koronarer Perfusionsdruck vorherrscht. Wenn der Volumenverlust vom Organismus nicht mehr kompensiert werden kann, sinken der arterielle Blutdruck und konsekutiv auch der koronare Perfusionsdruck progressiv ab. Sobald die Koronarien maximal dilatiert sind, die Koronarreserve also vollständig ausgeschöpft ist, sind eine Abnahme der Myokarddurchblutung und die Entwicklung einer Myokardischämie nicht mehr zu verhindern. Da die arteriellen Gefässe des Herzens funktionelle Endarterien darstellen, macht sich dies zuerst im „Gebiet der letzten Wiese“, den subendokardialen Myokardbezirken bemerkbar. Dies führt zu einer Innenschichtischämie, die elektrophysiologischen Folgen stellen sich im EKG als ST-Streckensenkungen oder T-Wellen-Inversionen dar. Im Subendokard treten hypoxische Veränderungen, eine diffuse Schädigung der Mitochondrien sowie fokale Hämorrhagien oder Nekrosen auf.[147] Bei weiterer Reduktion der Durchblutung, wird auch das übrige Myokard hypoxisch und azidotisch, erste funktionelle Veränderungen sind die Folge. Eine verminderte Auswurfleistung führt neben einer Abnahme des Herzzeitvolumens zu erhöhten intrakardialen Füllungsdrücken und so zu einer weiteren Abnahme des koronaren Perfusionsdruckes. Das Herz ist nun in die pathologische Kaskade des Schockgeschehens einbezogen und eine weitere Dekompensation unaufhaltsam.

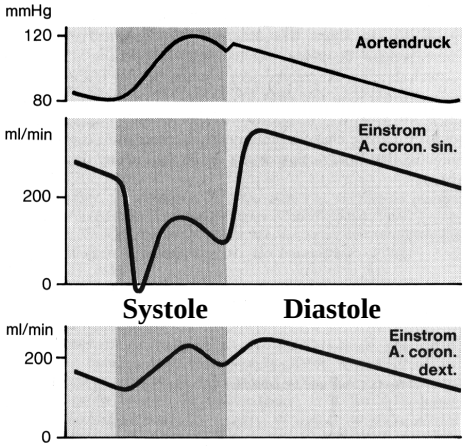


Abb. 3: Systolische und diastolische Perfusion der linken und rechten Koronararterie
Schmidt RF, Thews G (1985): Physiologie des Menschen: 431

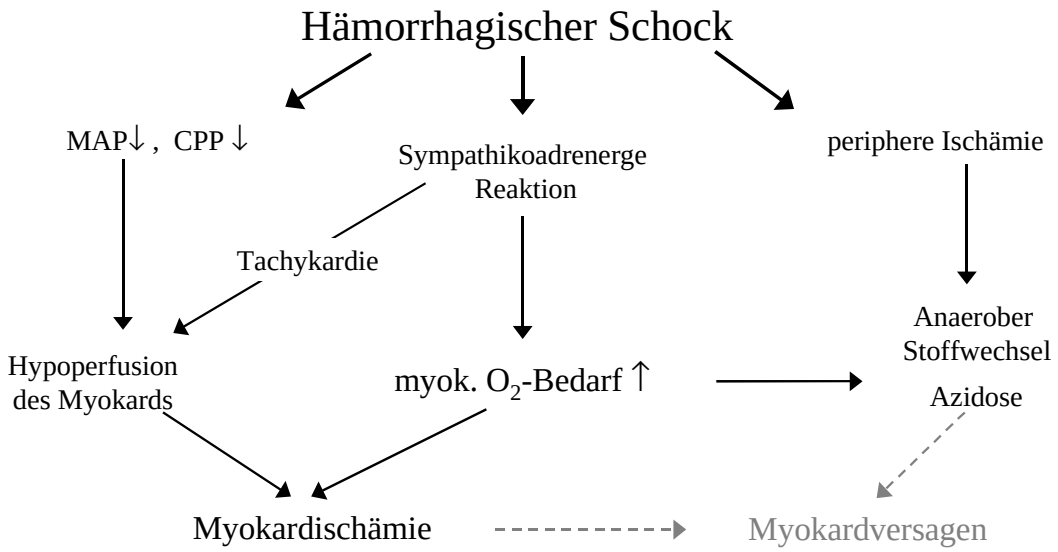


Abb. 4: Die kardiale Pathophysiologie im Schock. Die SAR bedingt einen erhöhten O_2-Bedarf, falls der Blutdruckabfall die kardiale Kompensationsfähigkeit übersteigt, kommt es zur Minderperfusion und konsekutiv zur Ausbildung einer Myokardischämie.

1.1.3.3 Grenzen der Kompensationsfähigkeit

Der Organismus kann einen Blutverlust von ca. 15-20% des Blutvolumens kompensieren und einen normalen arteriellen Blutdruck aufrechterhalten. Ist der Blutverlust jedoch ausgeprägter, sodass erste zelluläre Funktionsstörungen auftreten, oder wird der Organismus zu lange ohne adäquate Therapie im Zustand des Schocks belassen, sind die Kompensationsmechanismen irgendwann erschöpft. Abhängig von Schwere und Dauer des Schocks tritt das Stadium der Dekompensation ein, gekennzeichnet durch Hypotonie sowie Gewebehypoxie und Azidose. In dieser Phase kann eine adäquate Therapie eine dauerhafte Organschädigung oder den letalen Ausgang vehindern, bleibt sie aus, geht der Schock in ein irreversibles Stadium über.[147] Obwohl die Zentralisation zum Erhalt der Durchblutung von Herz und Gehirn in der Frühphase lebensrettend waren, spielt nun das Geschehen in der Mikrozirkulation der minderversorgten Organe, besonders im Darm und in der Muskulatur, die entscheidende Rolle für die Prognose des Überlebens. Der entscheidende Vorgang wird durch die Folgen der schockspezifischen Vasomotion ausgelöst, denn die weitere Abnahme des zirkulierenden Blutvolumens

durch die Erweiterung des Gesamtgefässquerschnittes (präkapilläre Sphincterdilatation) und die transkapillären Plasmaverluste (erhöhte Permeabilität) kann jetzt nicht mehr kompensiert werden. Der erniedrigte venöse Rückstrom und das hierdurch progressiv sinkende Herzzeitvolumen führen zu einem weiteren Abfall des arteriellen Druckes und der Organperfusion und so zu einer Vertiefung der Gewebehypoxie und der Azidose. In experimentellen Studien machte sich dieser Vorgang dadurch bemerkbar, dass trotz Wiederherstellung eines normalen Blutvolumens kein ausreichendes Herzzeitvolumen produziert werden konnte, in Modellen der sog. Wiggers-Technik entsprach der Zeitpunkt des re-uptake dem Beginn der Irreversibilität.[84] Neben den beiden hauptverantwortlichen Komponenten, dem Verlust des Gefässtonus und einem kapillären Leck, sind womöglich weitere Faktoren hieran beteiligt, so z.B. die vermehrte Eröffnung von AV-Shunts oder die Freisetzung von vasodilatatorisch wirkenden Mediatoren (z.B. NO).[147]

1.1.4 Therapie des hämorrhagischen Schocks

Primär muss eine sofortige Versorgung von akuten Blutungen erfolgen. Anschliessend muss die Restitution eines ausreichenden Blutvolumens mittels Infusionen oder Blutprodukten angestrebt werden, da nur so die Zirkulation wiederhergestellt und der circulus vitiosus aus Sympathikusaktivierung, Organminderperfusion und Mikrozirkulationsstörung durchbrochen werden kann.

Hierzulande stellt die Volumentherapie mit kolloidalen Lösungen den Goldstandard der primären Schocktherapie dar. Allerdings hat sich bei Vorliegen von zunächst nicht beherrschbaren Blutungen, wie sie v.a. nach perforierendenen Schuß- oder Stichverletzungen auftreten, eine aggressive Volumentherapie im Hinblick auf die Letalität als prognostisch schlecht erwiesen, da der anhaltende Blutverlust umso ausgeprägter ist, je höher der Blutdruck und das Herzzeitvolumen sind. In dieser Situation ist die sog. *hypotensive resuscitation* einer aggres-

siven Volumentherapie überlegen, ein mittlerer arterieller Druck von 40 – 60 mmHg scheint hierbei ausreichend zu sein. Eine klinische Versorgung mit chirurgischer Blutstillung sollte schnellstmöglich angestrebt und eine Verzögerung des Transports durch unnötig lange Versorgung am Unfallort vermieden werden („scoop and run“).[9,31]

Falls der Blutdruck durch Volumentherapie nicht ausreichend gesteigert werden kann, können unterstützend inotrope Substanzen (Dopamin, Noradrenalin) oder physikalische Massnahmen wie die Trendelenburglagerung zum Einsatz kommen. Die Gabe von Sauerstoff ist obligat um den Sauerstoffgehalt im Blut und damit das Sauerstoffangebot an die Gewebe zu erhöhen, Intubation und künstliche Beatmung mit 100% O_2 stellen, falls indiziert, hierfür die optimale Lösung dar. Zur Korrektur einer Azidose können basische Pufferlösungen wie Natriumbikarbonat oder THAM eingesetzt werden.[130,147]

Neue Therapieansätze[189] haben eine frühe Blutungskontrolle durch lokale blutstillende Massnahmen (QuickClot®)[3,207] oder eine Optimierung der plasmatischen Blutgerinnung (NovoSeven®)[83,111,116,117] zum Ziel. Optimierte Beatmungstrategien mit niedrigen Spitzendrücken und ohne PEEP sollen den venösen Rückstrom zum Herzen verbessern. Vasoaktive Medikamente wie Vasopressin[151,172,188] und K_{ATP}-Kanal-Blocker[44,208,209] können der schockbedingten Vasoplegie entgegenwirken und so die Organversorgung verbessern. Tierexperimentelle Daten lassen vermuten, dass die Induktion einer moderaten Hypothermie möglicherweise die Organprotektion verbessert und zu einer erhöhten Überlebensrate führt[94,137,149], ob dies allerdings auch für Traumapatienten gilt, ist noch nicht geklärt. Die Zukunftsvision einer hypothermen Schockbehandlung stellt die *suspended animation*[179] dar, deren Konzept darin besteht, den Organismus zunächst durch eine gezielte Hypothermie zu konservieren, um ihn erst nach chirurgischer Versorgung wieder zu reanimieren.

Diese neuen Behandlungsoptionen könnten unzweifelhaft notwendige Fortschritte der modernen Schocktherapie darstellen, allerdings darf in der künftigen Schockforschung niemals ausser Acht gelassen werden, dass das therapeutische Hauptaugenmerk ─ *entsprechend der schockspezifischen Pathophysiologie* ─ in der Restitution der Mikrozirkulation liegen muss.[129]

1.1.4.1 Volumensubstitution

Die Volumensubstitution hat primär die Wiederherstellung des Intravasalvolumens, die Steigerung des Sauerstoffangebots und die Verbesserung der Mikrozirkulation zum Ziel. Sie ist unbestritten ein zentraler Bestandteil der Schocktherapie. Die Menge und Art der zu applizierenden Lösungen, sowie der Zeitpunkt (präklinisch oder klinisch) sind aber immer noch Gegenstand heftiger Diskussionen. Eine zuletzt durchgeführte Metaanalyse erbrachte weder Vor- noch Nachteile für eine frühzeitige bzw. aggressive Volumentherapie bei Traumapatienten, sodass weiterhin Bedarf für randomisierte Studien besteht, um ein optimales Therapieregime zu etablieren.[100]

Im europäischen Raum wird eine aggressive Volumentherapie standardmässig durchgeführt. Das verabreichte Volumen sollte sich am geschätzten Blutverlust (abhängig vom Verletzungsmuster) orientieren. Kreislaufwerte, wie der systolische Blutdruck oder die Herzfrequenz, können, wie bereits dargelegt, aufgrund der Kompensationsmechanismen über das wahre Ausmaß der Hypovolämie hinwegtäuschen.

Allerdings erscheint gerade bei polytraumatisierten Patienten mit kombinierten Verletzungsmustern von Extremitäten, Abdomen und Thorax sowie bei Patienten mit perforierenden Stich- oder Schussverletzungen eine präklinische Kontrolle aller vorliegenden Blutungen eher unrealistisch. In Anbetracht eines solchen Szenarios könnte eine aggressive Volumentherapie

mit Wiederherstellung von normalen oder supranormalen Kreislaufwerten den Blutverlust weiter erhöhen und zu einem verschlechterten Outcome führen.[9] In diesem Zusammenhang wurde das Konzept der *hypotensive resuscitation* (permissive Hypotension) entwickelt. Ihm zugrunde liegt die Vorstellung, initial nur eine geringe Volumenmenge zu verabreichen und hypotensive Kreislaufverhältnisse bis zur möglichen klinischen Versorgung zu tolerieren. Dass dieses Vorgehen einen erhöhten Blutverlust verhindern und die Mortalitätsrate senken kann, wurde in mehreren tierexperimentellen Studien nachgewiesen.[10,119,173]

Die Berichte von De Felippe[30] über die beeindruckende Wirkung von 7,5%-iger NaCl-Lösung bei Intensivpatienten im therapierefraktären Schock erregten weltweit Aufsehen und waren der Ursprung der heute bekannten *small volume resuscitation*, bei der nur ein kleines Volumen (4ml/kg KG) einer hyperton-hyperonkotischen Lösung appliziert wird. Die Injektion der hypertonen Lösung (z.B. 7,5% NaCl) induziert einen osmostischen Gradienten von intra- nach extrazelullär, der zur Mobilisation endogener Flüssigkeit aus dem Endothel, den Erythrozyten und dem Interstitium nach intravasal führt (hauptsächlicher Wirkmechanismus). Da dieser Effekt nur kurzzeitig anhalten würde, muss die hypertone mit einer hyperosmolaren Komponente (Kolloid: z.B. Dextran, HAES) kombiniert werden: die Erhöhung des kolloidosmotischen Druckes hat eine langfristige Bindung des mobilisierten Wassers im Intravasalraum zur Folge und verlängert so die Wirkdauer. Die Wirksamkeit dieses Therapiekonzeptes konnten tierexperimentelle Ergebnisse belegen[96,98], seine Effektivität, Sicherheit und Praktikabilität in der präklinischen Versorgung wurde ebenfalls nachgewiesen.[121,183] Neben der Wiederherstellung der Makrohämodynamik haben hyperton-hyperonkotische Lösungen auch wesentlichen Einfluss auf die Mikrozirkulation[99,135], so ist eine periphere Gefässdilatation, verbesserte Blutfluidität, Wiederherstellung der Mikroangiodynamik und eine Reduktion der postischämischen Leukozytenadhärenz am Endothel nachgewiesen.

1.1.4.1.1 Präparate

Für die Volumensubstition stehen kristalloide, kolloidale und hyperton-hyperonkotische Lösungen zur Verfügung, Tabelle 2 zeigt eine Auswahl an derzeit verfügbaren Produkten, die Fremdbluttransfusion bleibt aufgrund der fehlenden präklinischen Verfügbarkeit der Sekundärtherapie in den Krankenhäusern vorbehalten.

Kristalloide Lösungen sind isoton und verteilen sich im gesamten Extrazelullärraum. In experimentellen Studien erwiesen sie sich zwar als genauso effektiv wie kolloidale Lösungen in der Wiederherstellung der Makrohämodynamik, mussten dafür aber in 4-facher Dosis des Blutverlustes verabreicht werden, um das Intravasalvolumen wiederherzustellen und erscheinen daher zur alleinigen Substitution ungeeignet[71], im Übrigen ist ihre intravasale Verweildauer mit ca. 20 Minuten auch eher gering. Eine Permeabilitätsstörung, bedingt durch den Reperfusionsschaden, kann den Verlust ins Interstitium verstärken und die therapeutische Wirksamkeit weiter verringern.

Als kolloidale Lösungen stehen Humanalbumin, Gelatine, Dextrane und die vorwiegend verwendete Hydroxyäthylstärke (HAES) zur Verfügung. Gemeinsames Merkmal der Kolloide ist der zusätzlich bewirkte Volumeneffekt: die Substanzen sind hyperonkotisch und bewirken einen Einstrom von Flüssigkeit aus dem Interstitium und führen so zu einer weiteren Erhöhung des Intravasalvolumens. Sie unterscheiden sich jedoch in der Ausprägung dieses Effekts, sowie in ihrer Wirkdauer und dem Einfluss auf die Rheologie des Blutes. Humanalbumin wird aufgrund des hohen Preises und einer geringen Volumenwirkung nicht mehr verwendet, neueste Metaanalysen[4] konnten auch keinen Vorteil gegenüber kristalloiden oder kolloidalen Mitteln zeigen, weshalb die Autoren die Verwendung billigerer Lösungen empfehlen und die Indikation zur Zeit generell hinterfragt werden muss. Gelatine-Präparate sind zwar sehr

Übersicht Präparate zur Volumensubstitution

Kristalloide Lösungen						
	Firma	**Na^+**	**Cl^-**	**Lactat**	**K^+**	**Eigenschaften**
Nacl 0,9%	Fresenius Kabi	154	154			• Verteilung intra- u. extrazellulär • Kurze intravasale Verweildauer • kostengünstig
Ringer-Lactat	Braun	129,9	111,7	27,2	5,36	
Ringer	Braun	147,2	155,7		4,02	
Tutofusin	Baxter	140	153		5	

Stärkederivate					
	Firma	**MG [Da]**	**Konz. [g/l]**	**Subst.**	**Eigenschaften**
HAES-steril 6%	Fresenius Kabi	200.000	60	0,5	• lange Wirkdauer (4-5h) • starker Volumeneffekt • positive rheologische Effekte • NW: Allergische Reaktionen • KI: Herzinsuffizienz, Nierenversagen, Hyperhydratation, Allergie, intrakranielle Blutung
HAES-steril 10%	Fresenius Kabi	200.000	100	0,5	
Voluven	Fresenius	130.000	60	0,4	
Expafusin	Baxter	70.000	60	0,5	

Gelatine				
	Firma	**Substanz**	**Konz. [g/l]**	**Eigenschaften**
Gelafundin 4%	Braun	Gelatinpolysuccinat	40	• initial geringer Volumeneffekt • Wirkdauer ca. 3h
Haemaccel 35	DeltaSelect	Polygelin	35	

Dextrane					
	Firma	**MG [Da]**	**Konz. [g/l]**	**Dauer**	**Eigenschaften**
Macrodex 6%	Pharmalink	60.000	60	6-8h	• starker Volumeneffekt • NW/KI: siehe Stärkederivate
Longasteril 40	Frsenius Kabi	40.000	100	2-4h	

Hyperton-hyperonkotische Lösungen					
	Firma	**Na+**	**Cl^-**	**Kolloid**	**Eigenschaften**
HyperHAES	Fresenius Kabi	1232	1232	HAES 6%	• sehr starker Volumeneffekt • NW: Anaphylaxie, respiratorische und kardiovaskuläre Reaktionen • KI: siehe Stärkederivate; Leberfunktionsstörung, schwere Elektrolytstörungen, Ende d. Schwangerschaft
RescueFlow	BioPhausia	1284	1284	Dextran70	

Tabelle 2: Auswahl verfügbarer Substanzen zur Volumensubstitution ohne Anspruch auf Vollständigkeit. *Quelle: Rote Liste 2005 (www.roteliste.de)*

günstig, aufgrund einer schwachen Volumenwirkung und der kurzen Wirkdauer spielen aber auch sie eine untergeordnete Rolle. Dextrane weisen gemeinsam mit HAES den grössten Volumeneffekt und die längste Wirkdauer auf, allerdings besitzen Dextrane eine gerinnungshemmende Komponente und können zu einer Blutungsverstärkung führen, des Weiteren können allergische Reaktionen auftreten (Häufigkeit ca. 0,3‰). HAES-Präparate verbessern die Mikrozirkulation[78,95,102], ihre lange intravasale Verweildauer und der ausgeprägte Volumeneffekt haben sie zum Mittel der ersten Wahl gemacht.

Die hyperton-hyperonkotischen Lösungen werden im Rahmen der *small volume resuscitation* eingesetzt, stellen eine Kombination aus einem Kolloid (Dextran oder Hydroxyaethylstärke) und einer hypertonen Kristalloidlösung (z.B. NaCl 7,5%) dar und sind durch einen sehr ausgeprägten Volumeneffekt charakterisiert, der bereits nach Infusion kleiner infundierter Volumina wirksam wird.

1.1.4.1.2 Folge der Volumentherapie: Hämodilution

Die Hämodilution, also der isovoläme Austausch von Blut gegen kristalloide oder kolloidale Lösungen, senkt den Hämatokrit und somit auch die Viskosität des Blutes, dadurch nehmen die Scherkräfte und der periphere Widerstand ab. Das Herzzeitvolumen steigt an, da bei gleicher Vorlast des Herzens ein höheres Schlagvolumen ausgeworfen werden kann. Trotz eines niedrigeren Hb-Wertes ergibt sich so zunächst ein höheres Sauerstoffangebot (DO_2), der optimale Hämatokrit liegt bei ca. 30%. Vorraussetzung hierfür ist neben der Aufrechterhaltung einer Normovolämie die Kompensationsfähigkeit eines gesunden, also nicht-ischämischen Herzens, was nach einem hämorrhagischen Schock nicht gewährleistet ist. Obwohl im Schock die Volumentherapie die Hämoglobinkonzentration des Blutes weiter senkt, ist die Hämodilution bis zu einem bestimmten Grade selbst Teil des Therapiekonzeptes. Die geringere Visko-

sität verbessert die rheologischen Eigenschaften des Blutes und damit die Organperfusion, ein positiver Effekt auf die Mikrozirkulation ist erwiesen. Allerdings kann, wie bereits oben erwähnt, die kardiale Kompensationsfähigkeit durch die schockbedingte Myokardischämie erheblich eingeschränkt sein. Bleibt die DO_2 unter einem kritischen Wert, kann die im Schock eingegangene O_2-Schuld nicht abgebaut werden oder wird sogar noch gesteigert. Die Versorgung der Organe ist trotz eines ausreichend hohen Blutvolumens erneut gefährdet, der Schock kann dekompensieren oder in ein irreversibles Stadium übergehen. In dieser Situation kann nur eine Steigerung des arteriellen Sauerstoffgehalts ein Fortschreiten der Gewebehypoxie verhindern.

1.1.4.2 Steigerung des arteriellen Sauerstoffgehalts

Der arterielle Sauerstoffgehalt (CaO_2) des Blutes setzt sich aus dem an Hämoglobin gebundenen und dem im Blutplasma physikalisch gelösten Sauerstoff zusammen (Abb. 5). Letzterer kann durch eine Erhöhung der inspiratorischen O_2-Konzentration (FiO_2) erhöht werden, da nach dem Gesetz von Henry-Dalton der Partialdruck eines in einer Flüssigkeit gelösten Gases dem Gasdruck in der Umgebung proportional ist. Hämoglobin ist bereits bei Raumluft prak-

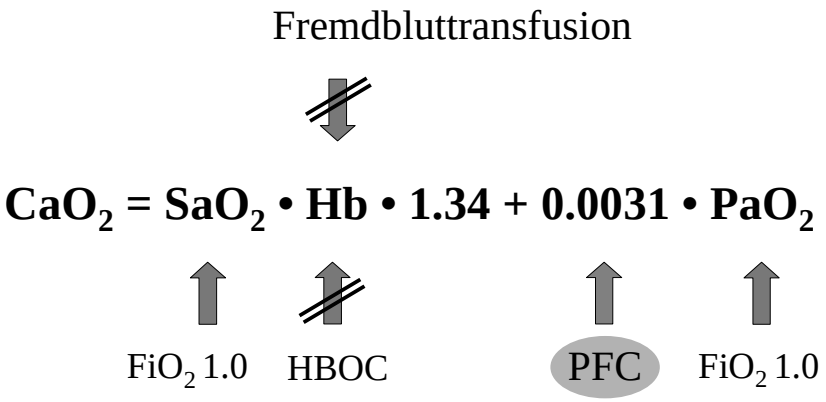


Abb. 5: Berechnung des arteriellen Sauerstoffgehalts (CaO_2) und verschiedene Möglichkeiten seiner Steigerung. SaO_2 = arterielle Sauerstoffsättigung. Hb = Hämoglobinkonzentration. PaO_2 = arterieller Sauerstoffpartialdruck. HBOC = hemoglobin based oxygen carriers. PFC = Perfluorocarbone.

tisch vollständig mit O_2 gesättigt, sodass eine Beatmung mit reinem Sauerstoff nur eine geringe Erhöhung des CaO_2 bewirkt. Es müssten also Erythrozytenkonzentrate verabreicht werden, die präklinisch nicht verfügbar sind. Künstliche Sauerstoffträger, die unabhängig von Blutgruppen verabreicht werden könnten, lange haltbar und überall verfügbar sind, wären eine Lösung dieses Problems. Eine Gruppe künstlicher Sauerstoffträger sind Lösungen auf der Basis von humanem oder bovinem Hämoglobin, bzw. gentechnisch hergestelltem humanem Hämoglobin (HBOC = hemoglobin based oxygen carriers). Obwohl die anfänglich starken Nebenwirkungen wie Vasokonstriktion, akutes Nierenversagen, ausgelöst durch Verunreinigung mit Erythrozytenstroma, ausgeprägte onkotische Wirkung und behinderte O_2-Abgabe (durch den fehlenden Einfluss von 2,3-DPG) in den weiterentwickelten Substanzen, wie z.B. Diasporin-crosslinked-hemoglobin (DclHb, Baxter Healthcare Corporation), weitgehend reduziert werden konnten, hat es bisher keine wirksame Substanz bis zur klinischen Zulassung geschafft. Die andere Gruppe von künstlichen Sauerstoffträgern sind die sogenannten Perfluorocarbone (PFC).

1.2 Perfluorocarbone

Perfluorocarbone (PFC) sind zyklische oder lineare Kohlenwasserstoffe, bei denen alle Wasserstoffatome durch Fluor, aber auch andere Halogenatome wie z.B. Brom ersetzt sind. Die Energie der neu entstandenen Bindungen mit den Kohlenstoffatomen ist so hoch (116 kcal/mol bzw. 504 kJ/mol), dass die Moleküle chemisch vollkommen inert sind. Die hohe Elektronegativität der C-F-Bindung trägt zur Stabilität des Moleküls bei. Gleichzeitig ist die Oberflächenspannung der Lösung so gering, dass Perfluorocarbone alle anderen Stoffe benetzen und Gase wie z.B. O_2 und CO_2, in großer Menge physikalisch lösen können. PFC folgen hierbei dem Gesetz von Henry und Dalton, d.h. die gelöste Menge eines Gases ist dem Partialdruck des jeweiligen Gases in der PFC-Flüssigkeit, und natürlich der vorliegenden PFC-Konzentration, direkt proportional. Die Löslichkeit eines bestimmten Gases ist neben seiner Art (CO_2 wird leichter gelöst als O_2 und N_2) auch von der Beschaffenheit des Perfluorocarbons abhängig, sie ist nämlich indirekt zum Molekulargewicht und direkt zur Anzahl der Fluoratome proportional.[157,170] Physiologische Faktoren wie beispielsweise der pH, die 2,3-Biphosphoglyceratkonzentration oder die Temperatur, welche die Hämoglobinbindung beeinflussen, spielen keine Rolle. Neben dem direkten O_2-Transport in die Gewebe (konvektiv), trägt noch ein zweiter Mechanismus zur Verbesserung der Gewebeoxygenierung bei, die PFC-Partikel halten sich in der Plasmaphase des Blutstroms auf und können die O_2-Diffusionsbarriere zwischen den Erythrozyten und dem Endothel verringern.[42]

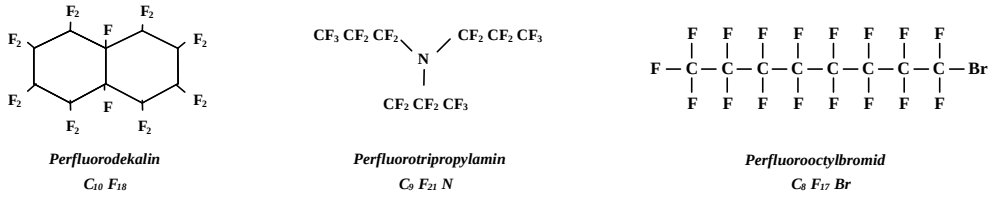


Abb. 6: Chemische Formel der meist verwendeten Perfluorocarbone. Perfluordecalin und Perfluortripropylamin sind Bestandteil von Fluosol-DA®, Perfluoroctylbromid ist der Hauptbestandteil von Perflubron®.

Perfluorocarbone sind wasserunlöslich und müssen daher vor einer intravenösen Applikation emulgiert werden. Die Emulsionspartikel messen 0,1-0,3µm und können aufgrund ihrer geringen Größe die O_2-Versorgung auch in jenen kapillären Bereichen verbessern, welche nur von Plasma, nicht aber von Erythrozyten durchflossen werden.

Die Partikel werden schliesslich von Makrophagen des retikulohistiozytären Systems (RES) phagozytiert, die Geschwindigkeit der Aufnahme ins RES bestimmt die intravasale Halbwertszeit der Substanz, sie ist v.a von der Molekülgrösse abhängig. Nach Abbau des Emulgators wird die Reinsubstanz des PFC wieder ins Blut abgegeben und über die Lunge abgeatmet, diese biologische Halbwertszeit beträgt Tage bis Wochen. Die hierbei entstehenden PFC-Konzentrationen im Blut sind so gering, dass sie keinen Einfluss auf den Sauerstofftransport mehr haben. Aufgrund ihrer chemischen und biologischen Inertheit wirken PFC zwar nicht direkt toxisch auf Organe und Zellen, die Phagozytose könnte jedoch zu einer Überladung des RES und in der Folge zu Immunsuppression sowie zu Hepato- und Splenomegalie führen, daher bedarf es einer Dosisbegrenzung.

Neben der Anwendung als Sauerstoffträger können Perfluorocarbone auch als Kontrastmittel für Röntgen-, CT-, MRI- oder Ultraschalluntersuchungen dienen, die Sensitivität maligner Tumoren für Radio- und Chemotherapie erhöhen, in ischämischen Geweben die Mikrozirkulation verbessern (u.a. durch eine verminderte Entzündungsreaktion aufgrund ihres hemmenden Einflusses auf die neutrophilen Granulozyten) und stellen intrapulmonal verabreicht („liquid breathing“) möglicherweise eine neue Behandlungsmethode des akuten Lungenversagens (ARDS) dar.[45,47,153]

1.2.1 Entwicklung und Historie

Perfluorocarbone wurden erstmals während des 2. Weltkrieges im Rahmen des Manhattan-Projekts entwickelt, um hochreaktive uranhaltige Stoffe zu lagern.[163] Die Welt der Medizin wurde in den 60er Jahren auf sie aufmerksam, als Clark und Gollan berichteten, daß Mäuse mehrere Stunden in einer sauerstoffangereicherten Perfluorocarbon-Lösung (FX-80) überleben konnten (Abb. 7).[23] Geyer berichtete 1968 über einen vollständigen Austauschs des Blutes mit Perfluorotributylamin (FTBA) in Ratten[57], Sloviter führte ähnliche Versuch an Mäusen und Fröschen durch.[166] Allerdings verstarben die meisten Tiere nach wenigen Stunden aufgrund eines Lungenversagens, da der hohe Dampfdruck von FTBA zu Luftembolien und intrapulmonaler Schaumbildung geführt hatte. Der Zusatz des Emulgators Pluronic-F68 führte zur Entwicklung von FC-43, nun überlebten die Tiere einen vollständigen Blutaustausch einen längeren Zeitraum ohne Zeichen einer pulmonalen Einschränkung.[56] Pluronic-F68 verursachte allerdings gelegentlich anaphylaktische oder hypotensive Reaktionen, aktivierte die Komplementkaskade über den alternativen Weg, hemmte die Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten und beeinflusste den Lungensurfactant und konnte so zu intrapulmonaler Schaumbildung führen.[186]

Abb. 7: Versuchsanordnung entsprechend der Originalarbeit von Clark & Gollan[23]

Die intensiven Forschungen führten 1970 zur Entwicklung des ersten klinisch angewandten Lösung, Fluosol-DA® 20% durch die Green Cross Corporation in Japan, einem Gemisch aus 14% Perfluordecalin (FDA) und 6% Perfluortripropylamin, als Emulgator wurde Pluronic F-68 verwendet.

Die Substanz wurde 1978 in Japan erstmals an

Freiwilligen getestet, meist handelte es sich um Zeugen Jehovas, die aus religiösen Gründen eine Bluttransfusion ablehnen. Mitsuno verabreichte 186 Patienten 20-30ml/kg Fluosol®, es zeigten sich keinerlei Reaktionen mit Ausnahme eines Falles, der über einen längeren Zeitraum wiederholt Fluosol®-Dosen erhielt.[133] Diesem Patienten wurde aufgrund nicht vorhandener Erythrozytenkonzentrate über 10 Tage repetitiv Fluosol® in einer Gesamtmenge von 80 ml/kg verabreicht. In Folge dessen entwickelte er eine massive Überladung des RES. Ohyanagi und Saitoh testeten Fluosol® an über 400 Patienten, nur über sieben von ihnen sind detaillierte Daten vorhanden. Sie erhielten 30 ml/kg Fluosol®, es zeigten sich keine Nebenwirkungen, die Kreislaufwerte blieben stabil, der Menge des in Fluosol® und Plasma gelösten Sauerstoffs stieg zwar an, nicht jedoch der Gesamtsauerstoffgehalt im Blut.[139] Übereinstimmende Ergebnisse lieferten Spence et al., die 45 anämische Zeugen Jehovas mit Fluosol® behandelten.[171] Waxman und Tremper berichteten 1982 erstmals über einen Anstieg von Sauerstoffgehalt, -verbrauch und Herzzeitindex bei anämischen Patienten nach einer Infusion mit Fluosol®.[196] Gould et al konnten ebenfalls eine Verbesserung von Sauerstoffangebot und –verbrauch nachweisen, allerdings hatte dies in beiden Studien keinen benefiziellen Effekt auf das Überleben der Patienten.[61] Die Erfahrungen vieler Untersuchungen ergaben übereinstimmend, daß Fluosol® zwar in der Lage war, Sauerstoff zu lösen und auch an die Gewebe abzugeben und sich damit als künstlicher Sauerstoffträger bewährt hatte, allerdings in der Behandlung der Anämie keinen Nutzen ergeben hatte und somit als Blutersatz nicht geeignet war.[61,171,196] Die Ursache hierfür lag vorwiegend in der beschränkten Transportkapazität, sie war weder durch eine höhere Konzentration (Viskositätserhöhung) noch durch eine Dosissteigerung (Zunahme der Nebenwirkungen und RES-Überladung) verbesserbar, sowie in der kurzen Wirkdauer von Fluosol®, hier hätte nur die anschliessende Transfusion von Erythrozyten geholfen. Es war nun offensichtlich, dass die Konzepte für die Anwendung von Perfluorcarbonen überdacht werden und folgende Vorraussetzungen erfüllt sein mussten:

1. Perfluorocarbone können nur in Form einer einmaligen Dosis (single shot) verabreicht werden, ihre Wirkung ist demnach zeitlich begrenzt.
2. Um eine optimale Ausnutzung der Sauerstofftransportkapazität zu ermöglichen, muss eine Beatmung mit 100% Sauerstoff gewährleistet sein.
3. Da der Effekt von Perfluorocarbonen zeitlich begrenzt ist, muss der Mangel an Hämoglobin innerhalb von Stunden durch Erythrozytentransfusion ausgeglichen werden.

Nichtsdestotrotz erteilte die FDA 1989 Fluosol-DA® die Zulassung für die Anwendung während einer perkutanen transluminalen Coronarangioplastie (PTCA), die Infusion in die Koronararterie distal des Dilatationsballons sollte Myokardischämien vorbeugen.[93] Dies ist bis heute die einzige klinische Zulassung eines künstlichen Sauerstoffträgers in den USA. Aufgrund der geringen Wirtschaftlichkeit wurde die Produktion aber wenig später eingestellt. Neben Fluosol-DA® wurden noch weitere Substanzen entwickelt, unter ihnen Perftoran (Russland) und Emulsion No. II (China). Allen Vetretern dieser sogenannten ersten Generation von Perfluorcarbonen waren entscheidende Nachteile gemeinsam, in erster Linie die bereits erwähnte geringe Sauerstofftransportkapazität. Weitere negative Eigenschaften waren die Notwendigkeit einer tiefgefrorenen Lagerung, die Instabilität der Substanz und die dadurch bedingte aufwendige Herstellung vor Applikation, sowie die Reinheit und Reaktivität des Emulgators Pluronic F-68, der nicht selten zu anaphylaktischen und kardiorespiratorischen Nebenwirkungen führte.

Anfang der Neunziger Jahre begann die Entwicklung der zweiten Generation von Perfluorocarbonen, die sich durch eine höhere Biokompatibilität, gutes Ausscheidungsverhalten und eine verbesserte Stabilität ausweisen. Sie können sterilisiert und bei Raumtemperatur gelagert werden. Der Hauptvorteil liegt aber in der höheren PFC-Konzentration, die eine Steigerung der Sauerstofftransportkapazität bewirkt.[153] Der vielversprechendste Vertreter unter ihnen heisst Perflubron®.

1.2.2 Perflubron®

1.2.2.1 Eigenschaften der Substanz

Perflubron® wird von Alliance Pharmaceuticals unter dem Namen Oxygent® vertrieben und wird in einer 60%- und 90%-Lösung produziert. Da mit höherer PFC-Konzentration auch die Viskosität ansteigt, muss an dieser Stelle ein Kompromiss zwischen O_2-Kapazität und Viskosität der Substanz eingegangen werden, wir haben in unserer Untersuchung die 60%-ige Lösung verwendet. In dieser Konzentration besteht Perflubron® aus einem Gemisch von 58% Perfluoroctylbromid und 2% Perfluordecylbromid, welches als Stabilisator zugesetzt wird, um dem Ostwald-Ripening-Prozess vorzubeugen, der durch molekulare Diffusion zu anwachsenden Mizellen führt.[110] Das Molekulargewicht liegt bei ca. 499 kDa. Die Substitution mit Brom-Atomen hat eine sehr hohe Lipophilie und eine schnelle Exkretion zur Folge[154], die intravasale Halbwertszeit liegt bei 4-5h, die biologische Halbwertszeit beträgt ca. 4 Tage.[51] Als Emulgator werden Eigelbphospholipide in einer Konzentration von 3,6% verwendet, sie führen zu keiner Komplementaktivierung und haben sich bereits in der parenteralen Ernährung als sicher und nebenwirkungsarm erwiesen, die entstehenden Mizellen messen ca. 0,2µm im Durchmesser und sind somit wesentlich kleiner als Erythrozyten. Perflubron® ist hitzesterilisert, pyrogenfrei und bei 5-10°C länger als ein Jahr haltbar. Mit 304 mOsm/kg ist die Lösung nahezu isoosmolar, der pH beträgt 7,1.

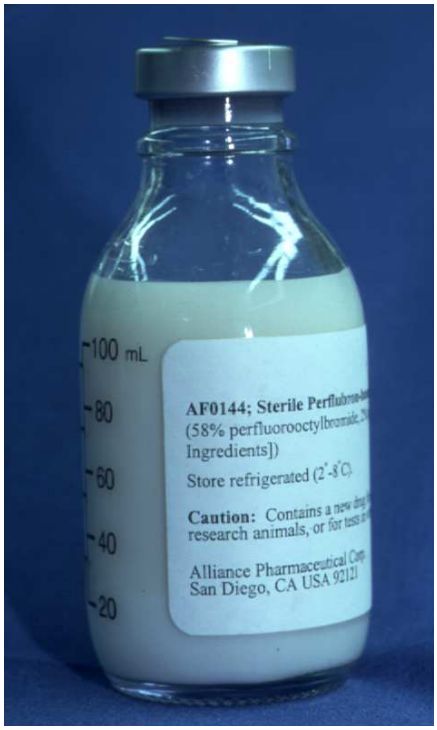


Abb. 8: Perflubron®

Perflubron® hat mit 44 mmol/l (STP) die höchste Gaslöslichkeit unter den Perfluorcarbonen, 100 ml einer 60%igen Lösung können bei einem pO_2 von 600mmHg ca 17ml O_2 lösen, dies entspricht ungefähr der vierfachen Kapazität von Fluosol®. Dies ist zwar weniger als in 100ml Blut (Abb. 9a), bei einem Gewebe-pO_2 von ca. 40mmHg wird mit ca. 15 ml O_2 allerdings fast der gesamte transportierte Sauerstoff an das Gewebe abgegeben. Dies ist wesentlich mehr als eine entsprechende Menge Vollblut mit ca. 5ml O_2 (Abb. 9b) und entspricht in etwa der O_2-Menge, die eine Blutkonserve von 450 ml ans Gewebe abgeben kann.[47,152]

Im Myokard liegt mit ca. 20mmHg allerdings ein deutlich niedrigerer Gewebepartialdruck vor, dies bedingt auch die hohe Sauerstoffextraktionsrate des Herzens in Ruhe (50-60%). Die oben dargelegten Zusammenhänge können also nicht ohne Einschränkung auf das Myokard übertragen werden können.

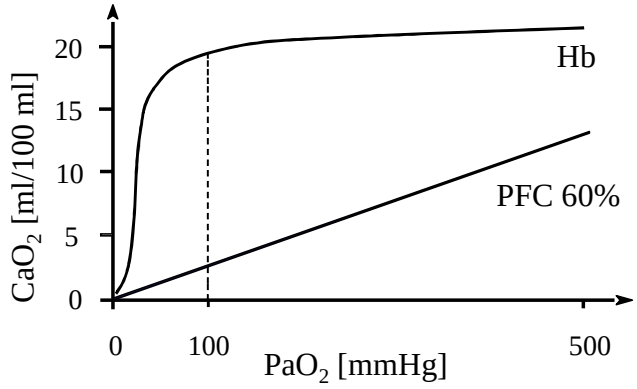


Abb. 9a:
Sauerstoffbindung in Abhängigkeit vom Partialdruck für Hämoglobin (sigmoidal) und Perflubron® 60% (linear)

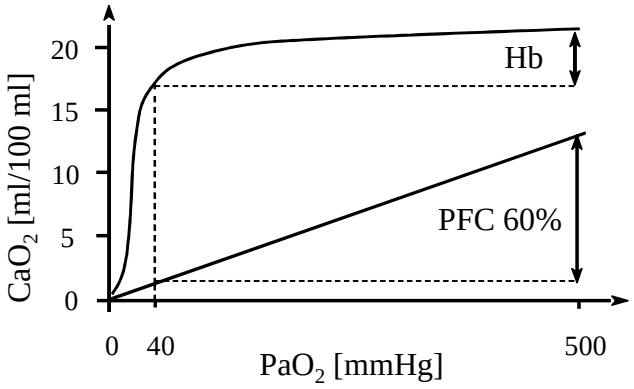


Abb. 9b:
Bei einem Gewebepartialdruck von 40 mmHg gibt Perflubron® wesentlich mehr O_2 ans Gewebe ab.

Mod.: Habler O, Kleen M, Meßmer K, Acta Anaesth Scand 1997;111:256-258 (Suppl.)

Viele tierexperimentelle Studien konnten belegen, daß intravenös verabreichtes Perflubron® die Oxygenation, Metabolismus und Funktion lebenswichtiger Organe wie Gehirn[13,65,181,194] und Herz[12,33,115,134,138,175] verbessern kann. Bis heute ist Perflubron® in mehreren klinischen Phase I und II –Studien an Menschen getestet worden, Nebenwirkungen wurden nur selten beobachtet, meist traten sie wenige Stunden nach Applikation auf und waren mit Fieber, Schüttelfrost, Übelkeit, Kopf- und Gliederschmerzen Grippesymptomen sehr ähnlich. Sie sind wahrscheinlich auf die Zytokinfreisetzung und Aktivierung des Arachidonsäurestoffwechsels bei der Elimination der PFC-Mizellen durch das RES verursacht und waren durch prophylaktische Gabe von Cyclooxygenasehemmern und Kortikosteroiden meist vermeidbar. Weder traten klinisch relevante Einschränkungen der Organfunktion von Niere, Leber oder Lunge auf, noch konnten Veränderungen der Bluthomöostase beobachtet werden. Die Zahl der roten und weissen Blutzellen blieb unverändert, ein Thrombozytenabfall um den 3. Tag nach Infusion auf minimal 170.000/µl erholte sich in der Regel innerhalb einer Woche.[88]

1.2.2.2 Erwiesene Effektivität in der Hämodilution

Die akute normovolämische Hämodilution (ANH) ist ein intraoperatives Verfahren zur Einsparung von Fremdblut. Präoperativ entnommenes Blut wird 1:1 durch kolloidale Lösungen ersetzt und kann nach Blutstillung bzw. bei Transfusionsbedarf rückinfundiert werden. Ein künstlicher Sauerstoffträger könnte nun möglicherweise bei starker Hämodilution und entsprechend niedrigem Hämatokrit die Gewebeoxygenierung aufrechterhalten, den Zeitpunkt, zu dem eine Transfusion notwendig wird, verzögern, eine noch tiefere Hämodilution zulassen, und so im Gesamtaspekt die Rückgabe des Eigenblutes verzögern und den Bedarf an Fremdbluttransfusion vermindern. Dabei erfüllt das klinische Szenario einer intraoperativen ANH die drei wesentlichen Anwendungsvorraussetzungen für Perfluorocarbone:

1. Die zeitlich begrenzte Wirkung einer Einmaldosis ist ausreichend, um die Zeit bis zum Operationsende bzw. zur endgültigen Blutstillung zu überbrücken.
2. Die Möglichkeit einer Beatmung mit einer FiO_2 von 1,0 ist in dieser Situation stets gegeben.
3. Durch Transfusion von Erythrozytenkonzentraten am OP-Ende kann eine ggf. vorliegende Anämie behandelt werden.

Um diese Hypothese zu bestätigen, untersuchten Habler et al. 1998 die Wirkung von Perflubron® 60% auf Sauerstoffversorgung und Gewebeoxygenierung nach extremer Hämodilution auf einen Hb-Wert von 3g/dl. Nach normovolämischer Hämodilution mit HAES 6% auf einen Hb-Wert von 7g/dl wurden die Hunde mit 100% O_2 beatmet, einer von drei Versuchsgruppen randomisiert zugeteilt und einem kontrollierten Blutentzug unterzogen. Die Tiere der ersten Gruppe erhielten eine Einmaldosis von 1,8g/kg KG Perflubron® 60% i.v.. Das entzogene Blutvolumen wurde durch HAES 6% ersetzt, bis die Ziel-Hb-Konzentration von 3g/dl erreicht war. Der Blutverlust der zweiten Gruppe wurde ohne vorherige Perflubron®-Applikation bis zum Hb-Wert von 3g/dl durch HAES 6% ausgeglichen. Die Tiere der dritten Gruppe erhielten zum Ausgleich des Blutentzugs neben HAES 6% intermittierend Erythrozytenkonzentrate, um den Hb-Wert nicht unter 7g/dl fallen zu lassen. Die letzte Gruppe repräsentiert also das derzeitige, „konservative“ Vorgehen einer intraoperativen Blutungssituation, wohingegen die erste Gruppe die Einsparung von Blutkonserven durch extreme Hämodilution nach einmaliger PFC-Gabe beweisen soll. Der Versuchsablauf und der Verlauf der Hb-Konzentration in den einzelnen Gruppen ist in Abb. 10 nochmals dargestellt. Die Studie von Habler et al. zeigte, dass die einmalige Bolusgabe von 1,8g/kg Perflubron® 60% bei einem Hb-Wert von 7g/dl zwar keine Verbesserung des systemischen Sauerstofftransports und der Gewebeoxygenierung bewirken konnte, aber unter hyperoxischen Bedingungen eine weitere Reduktion der

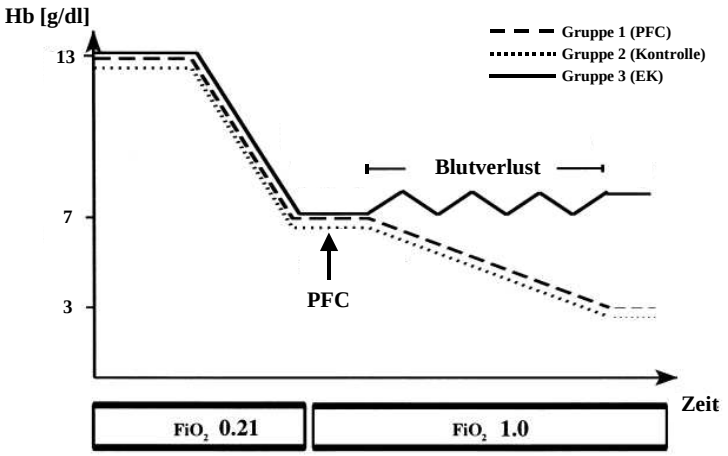


Abb. 10: Versuchsablauf und Verlauf der Hb-Konzentration in den drei Gruppen. *Mod. nach Habler O.,Kleen M., Messmer K., Res. Exp. Med. Berl.1998, 197, 301-318*

Hb-Konzentration bis auf einen Wert von 3g/dl ermöglichte, ohne hierbei die Gewebeoxygenierung zu gefährden. Die PFC-Gruppe war hinsichtlich Sauerstofftransport, Gewebeoxygenierung, Myokardoxygenierung und linksventrikulärer Funktion im Vergleich mit der Kontrollgruppe ohne PFC signifikant besser und – *viel entscheidender* – der Gabe von ANH-Blut gleichwertig.[68,69] Es folgten mehrere klinische Studien, um die Effizienz von Perflubron® in der ANH zu verifizieren. Wahr et al. berichteten über einen Anstieg des gemischtvenösen pO_2 nach PFC-Gabe bei stabilem Herzzeitindex und Sauerstoffverbrauch.[190] In einer europäischen Multicenterstudie wurde ein erhöhter arterieller Sauerstoffgehalt nach Gabe von Perflubron® gemessen. Bestimmte Surrogatparameter einer Gewebehypoxie dienten als sog. Transfusionstrigger, bei deren Auftreten eine Bluttransfusion als indiziert angesehen wurde; nach Gabe von Perflubron® waren diese Parameter häufiger zu Normwerten hin verbessert, und folglich eine Transfusion seltener indiziert.[169] In einer Phase III-Studie konnte sogar ein verringerter Transfusionsbedarf nachgewiesen werden.[168] Nach erwiesener Effektivität in der Hämodilution, stellte sich die Frage ob die einmalige Gabe von Perflubron®, entgegen den Erfahrungen der Fluosol®-Ära, auch in der Therapie des hämorrhagischen Schocks positive

Effekte haben könnte. Goodin berichtete über signifikant höhere arterielle und gemischtvenöse pO_2-Werte[60], Stern et al[174] konnten zwar nach PFC-Gabe einen gesteigerten Sauerstoffgehalt und dementsprechend ein höheres Sauerstoffangebot messen, allerdings war der Hämatokrit in der Therapiegruppe ebenfalls signifikant erhöht, was die Aussagekraft dieser Studie über die mögliche Wirksamkeit von Perflubron® stark einschränkt. Paxian et al konnten 2003 nachweisen, das die Gabe von 5,4g/kg KG Perflubron® nach hämorrhagischem Schock die hepatische ATP-Konzentration[145] und den hepatischen Gewebe-pO_2[144] erhöht, letzteres v.a. bedingt durch eine verbesserte Wiederherstellung der hepatischen Mikrozirkulation. Letztendlich ist bis heute die Rolle von Perfluorocarbonen der zweiten Generation in der modernen Schocktherapie nicht endgültig geklärt.

1.3 Fragestellung

In dem dargelegten Zusammenhang ergaben sich folgende Fragen, die durch die vorliegende Untersuchung beantwortet werden sollten:

1) Kann die Gabe von 2,7g/kg KG Perflubron® 60% als Supplement zur Volumentherapie nach hämorrhagischem Schock die Myokardoxygenierung verbessern und hat dies einen Einfluss auf die Reduktion der Myokardischämie ?

2) Wie wirkt sich die Gabe von Perflubron® auf die linksventrikuläre Funktion nach Therapie aus?

2. Material und Methodik

2.1 Experimentelles Modell

2.1.1 Spezies

Für die Studie wählten wir das Modell des splenektomierten, anästhesierten Hundes, sie wurde an insgesamt 24 Beagles (Harlan-Winkelmann, Borchen) beiderlei Geschlechts mit einem mittleren Gewicht von 15.0 ± 1.5 kg durchgeführt. Während der chirurgischen Präparation verstarben 2 Tiere aufgrund Verletzung großer Gefäße, weitere 2 Tiere verstarben während der Schockphase noch vor Erreichen der geforderten Schocktiefe, sodass 20 Tiere (10♂, 10♀) in die Datenauswertung aufgenommen wurden.

Ab dem Vorabend des Experiments wurden die Tiere nüchtern gehalten, hatten jedoch freien Zugang zu Wasser. Die Tierhaltung entsprach den Richtlinien der „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“ (NIH publication No. 85-23,1985).

Die Versuche wurden nach Genehmigung durch die Regierung von Oberbayern zwischen November 1998 und Oktober 1999 durchgeführt.

2.1.2 Splenektomie

Hunde besitzen eine vergleichsweise große Milz mit einer ausgeprägten Speicherkapazität für Blut, welches im Rahmen eines hämorrhagischen Schocks in den Kreislauf ausgeschüttet werden kann.[109] Da dies einen starken Einfluss auf die Kompensation des hämorrhagischen Schocks und die Ergebnisse gehabt hätte, wurden die Tiere mindestens 5 Wochen vor dem Versuch in Vollnarkose splenektomiert.

Die Tiere wurden ab dem Vorabend nüchtern gehalten, hatten jedoch freien Zugang zu Wasser. Die Splenektomie erfolgte durch mediane Längslaparotomie in Allgemeinanästhesie mit Propofol (Disoprivan® 1%, Astra Zeneca GmbH, Wedel), Fentanyl (Fentanyl-Janssen®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) und Atracurium (Tracrium®, GlaxoSmithKline Gmbh & Co. KG,

München), die perioperative Antibiotikaprophylaxe wurde durch Cefuroxim (1g, Cefuroxim-Lilly®, Lilly-Deutschland GmbH, Bad Homburg) sichergestellt. Der intraoperative Flüssigkeitsbedarf wurde durch isotonische Kochsalzlösung gedeckt, bei Bedarf wurde der Base excess mit Natriumbicarbonat ausgeglichen.

Die Tiere wurden postoperativ im Hinblick auf Kreislauf, Atmung und Schmerzen überwacht, als Analgetikum erhielten sie 0.25mg·kg^{-1} Morphin (Morphin Merck, Merck KG, Darmstadt) 1-2 x/die i.m.

In den folgenden Tagen wurde die Rekonvaleszenz der Tiere engmaschig kontrolliert, Wundheilungsstörungen traten nicht auf. Zur Unterstützung der Erythropoese wurde das orale Eisenpräparat Ferro 66 (Byk-Gulden, Konstanz) mit dem Futter verabreicht, wöchentliche Blutkontrollen stellten einen ausreichend hohen Hb-Wert vor Eintritt in den Versuch sicher.

2.1.3 Anästhesie

Die Prämedikation erfolgte durch eine i.m.-Injektion mit 0.2-0.4mg·kg^{-1} Propionylpromazin (Combelen®, Bayer AG, Leverkusen) und 0.7-1mg·kg^{-1} Midazolam (Dormicum ® 15/3, Hoffmann-LaRoche, Grenzach-Wyhlen). Die Tiere wurden präoxygeniert, die Herzfrequenz und arterielle Sauerstoffsättigung während der gesamten Narkoseeinleitung mit einem Pulsoxymeter (3800 Pulse Oximeter, Ohmeda) überwacht. Nach Punktion einer Vene am Vorderlauf mit einer Verweilkanüle (18G Vasculon® Plus, BOC Ohmeda AB, Helsingborg, Schweden) erfolgte die Narkoseeinleitung mit 1-1.5mg·kg^{-1} Methohexital (Brevimytal® Natrium, Lilly-Deutschland GmbH, Bad Homburg) und 75 µg·kg^{-1} Fentanyl (Fentanyl-Jansen®). War die manuelle Beatmung mit einem Ambu-Beutel möglich, folgte die Muskelrelaxation durch Gabe von 0.2mg·kg^{-1} Pancuronium (Pancuronium Curamed®, CuraMed Pharma, Karlsruhe). Nach Eintritt einer ausreichenden Narkosetiefe wurden die Tiere orotracheal intubiert (8.0 Magill-Tubus Oral 10.9, Mallinckrodt Medical, Athlone Ireland) und nach auskultatorischer

Lagekontrolle des Tubus bis zur Ankunft im Versuchs-OP weiter manuell beatmet. Ab dort erfolgte eine volumenkontrollierte Beatmung durch ein halboffenes Beatmungsgerät (Puritan Bennett 7200a), das Atemminutenvolumen betrug 300 $ml \cdot kg^{-1}$ bei einer Frequenz von 8 - 12 min^{-1} und einem positiven endexspiratorischen Atemwegsdruck (PEEP) von 5 mmHg. Die Beatmung wurde anhand des exspiratorischen CO_2-Partialdruckes und arteriellen Blutgasanalysen (Chiron Diagnostics 860, Fernwald, Deutschland), die regelmäßig durchgeführt wurden, kontrolliert und im Hinblick auf Erhaltung einer Normokapnie variiert.

Die Narkose wurde in Form einer TIVA (total intravenous anesthesia) mit Midazolam (1.5 $mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$, Dormicum® 15/3, Hoffmann-LaRoche, Grenzach-Wyhlen) und Fentanyl ($0.3 \mu g \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$, Fentanyl-Jansen®) fortgeführt, die Relaxierung wurde durch kontinuierliche Gabe von $4mg \cdot h^{-1}$ Pancuronium (Pancuronium Curamed®) sichergestellt. Die Tiere wurden auf dem Rücken gelagert und zur Kontrolle der Herzfrequenz und der Oxygenierung an ein Pulsoxymeter (3800 Pulse Oximeter, Ohmeda) angeschlossen. Die kardiale Überwachung erfolgte über ein 5-Kanal-EKG (Sirecust 960, Siemens) in den Ableitungen II und V_5. Nach Rasur der entsprechenden Hautpartien, Hautdesinfektion und sterilem Abdecken folgte die chirurgische Präparation.

Der intraoperative Flüssigkeitsbedarf wurde durch isotone Kochsalzlösung (Isotone Natriumchloridlösung, Braun, Braun Melsungen AG), substituiert mit Kaliumchloridlösung ($20mmol \cdot l^{-1}$, KCl 1molar, Baxter), gedeckt. Nach Sternotomie und Laparatomie erfolgte dies aufgrund der starken Perspiratio insensibilis mit einer Rate von $15ml \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$. Verschiebungen im Blut-pH und Base excess wurden mit Bicarbonat (Natriumhydrogencarbonat 1 molar 8.4%, Serag-Wiessner, Naila) nach gültigen Formeln ($0.33 \cdot BE \cdot KG$) ausgeglichen.

Die Körpertemperatur der Tiere wurde über eine rektale Meßsonde kontrolliert und mit einer Heizmatte konstant gehalten.

2.1.4 Chirurgische Präparation

Für die Plazierung von flüssigkeitsgefüllten Kathetern und elektronischen Mess-Sonden wurden zunächst die großen Gefäße an Hals und Leiste freigelegt und mit Schleusensystemen versehen:

- Arteria carotis sinistra : 7F Schleuse (Arrow, Reading, PA, USA)
  → *Linker Ventrikel :* Elektronischer Tip-Manometer-Katheter 5F (PC370, Millar Instruments, Houston, Texas, USA)
- Vena jugularis sinistra : 8.5F Schleuse (Arrow, Reading, PA, USA)
  → *Arteria pulmonalis :* Swan-Ganz-Katheter 7.5F (Baxter, Irvine, CA, USA)
- Vena jugularis dextra : 8.5F Schleuse (Arrow, Reading, PA, USA)
  → *Sinus coronarius :* 5F Katheter (Cordis, Miami, Florida, USA)
- Arteria femoralis dextra : 8.5F Schleuse (Arrow, Reading, PA, USA)
  → *Aorta abdominalis :* Elektronischer Tip-Manometer-Katheter 5F (PC370, Millar Instruments, Houston, Texas, USA)
- Arteria femoralis sinistra : 8.5F Schleuse (Arrow, Reading, PA, USA)
  → *Aorta abdominalis :* Pigtail-Katheter 7F (Cordis, Miami, Florida, USA)
- Vena femoralis dextra : ZVK 2xG12, 1xG14 (Arrow, Reading, PA, USA)
  Volumentherapie, Anästhesie, Infusion

Die korrekte Lage der Katheter wurde durch Röntgenkontrolle, anhand der typischen Druckkurven (Linker Ventrikel, Aorta ascendens, A. pulmonalis) sowie durch Blutgasanalysen (gemischt- und koronarvenöse Hb-Sättigung und pO_2) verifiziert. Es folgte eine mediane Laparatomie mit Freilegung der Harnblase sowie mehrerer Dünndarmschlingen. Zur Bestimmung der Urinausscheidung und Gewinnung von Urinproben wurde ein Katheter (Rüsch-Gold-Ballon-Katheter, Willy Rüsch GmbH & Co. KG, Rommelshausen) direkt in der Harnblase plaziert. Durch eine Inzision in der Darmwand wurden 3 Tonometrie-Katheter (Tono-

metrics, Worcester, MA, USA) antegrad im Darmlumen positioniert, sie dienten der Bestimmung des mucosalen CO_2-Partialdruckes und des mucosalen pH. Distal der Tonometrie-Katheter wurde zu jeder Messung ein ca. 10 cm langes Stück Darm antimesenteriell eröffnet und so die Mucosa für die Gewebe-Sauerstoffpartialdruckmessung (MDO-Elektrode SE 11.0, Eschweiler, Kiel) freigelegt.

Der Zugang zum Herzen wurde durch eine mediane Sternotomie hergestellt. Um die Aorta ascendens wurde eine Ultraschall-Fluss-Sonde (TC 208,Transsonic Systems, Ithaca, NY, USA) für die kontinuierliche Herzzeitvolumenmessung positioniert. Ein einlumiger zentraler Venenkatheter (G14, Arrow, Reading, PA, USA) wurde über das Herzohr in den linken Vorhof eingebracht, er diente der Injektion fluoreszierender Mikrosphären, mit denen die Organblutflüsse in Herz, Lunge, Darm und Leber gemessen wurden. Für die Bestimmung der myokardialen interstitiellen Lactatkonzentration wurde eine Mikrodialyse-Sonde (CMA, Solna, Schweden) in der Wand des linken Ventrikels plaziert.

2.1.5 Schockmodell

Wir wählten ein O_2-Schuld-kontrolliertes Modell des hämorrhagischen Schocks. Die Schockinduktion erfolgte durch druckpassiven Blutverlust mit einer Blutverlustrate von maximal 1.5 $ml \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$, bis der mittlere arterielle Druck auf 45 mmHg abgesunken war. Dieses Druckniveau wurde während der gesamten Schockphase aufrechterhalten. Primärer Zielparameter des Schocks war das Erreichen einer kumulativen O_2-Schuld von 120 $ml \cdot kg^{-1}$, die Kumulationsrate sollte dabei 1.5$ml \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$ nicht überschreiten. Hierbei orientierten wir uns an den Untersuchungen von Crowell und Smith, die für eine O_2-Schuld von 120 $ml \cdot kg^{-1}$ eine 50-prozentige Letalität beschrieben hatten (Abb. 11).[26] Die aktuelle Sauerstoffaufnahme (VO_2) wurde mit einem Deltatrac II Metabolic monitor (Datex Engström, Finnland) gemessen, die kumulative O_2-Schuld wurde mithilfe einer Software berechnet. Nach Abschluss der

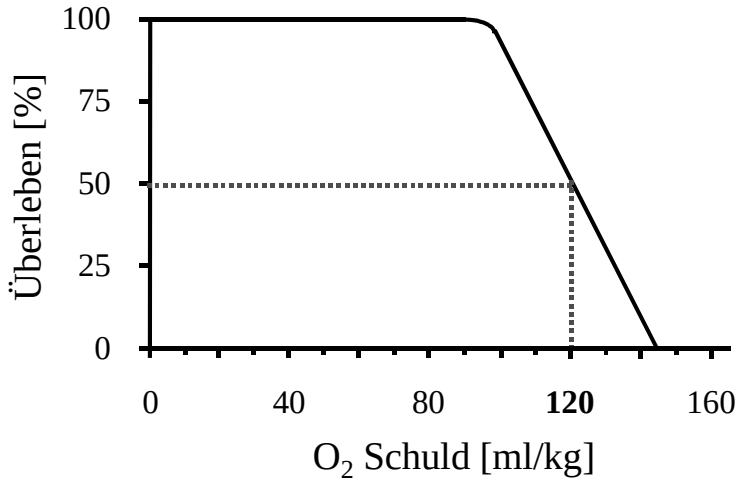
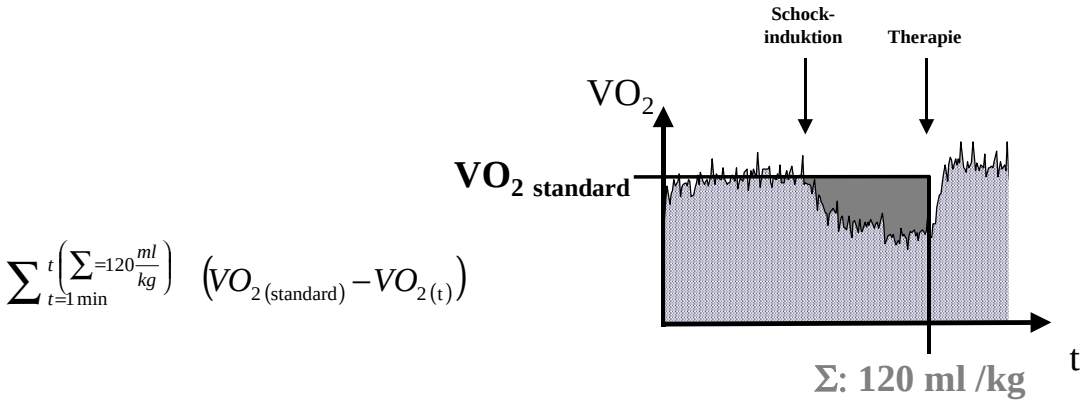


Abb. 11:

Überlebensrate nach hämorrhagischem Schock in Abhängigkeit von der eingegangenen O_2-Schuld.

Mod. nach Crowell J, Smith E, Am J Physiol 1964, 206: 313-316

chirurgischen Präparation und einer Stabilisierungsphase wurden hierfür zunächst die VO_2-Werte der Tiere über einen Zeitraum von 30 min gemittelt und so die Standard-VO_2 bestimmt, die den durchschnittlichen O_2-Bedarf der Tiere in Ruhe und Narkose reflektiert. Mit Beginn der Schockphase wurde minütlich die Differenz der aktuell gemessenen VO_2 zur Standard-VO_2 gebildet und durch das Körpergewicht geteilt. Der erhaltene Wert (ΔVO_2) stellt die in dieser Minute eingegangene O_2-Schuld pro kg Körpergewicht dar, summiert man alle Einzelwerte auf, erhält man die kumulative O_2-Schuld bis zu diesem Zeitpunkt. Das Erreichen einer kumulativen O_2-Schuld von 120 ml·kg^{-1} definierte das Ende der Schockphase und die Therapie wurde unverzüglich begonnen.



$$\sum_{t=1\,\min}^{t}\left(\sum=120\frac{ml}{kg}\right)\quad\left(VO_{2\,(\text{standard})}-VO_{2\,(\text{t})}\right)$$

Abb. 12: Verlaufsbeispiel der VO_2 mit kumulativer O_2-Schuld. Nach Schockinduktion fällt die VO_2 unter den O_2-Bedarf (= Standard-VO_2), eine Sauerstoffschuld (grau unterlegt) wird eingegangen. Erst nach Therapie kann die VO_2 wieder ansteigen und die O_2-Schuld abgebaut werden.

2.2 Versuchsprotokoll

Nach Abschluß der chirurgischen Präparation folgte eine Stabilisierungsphase von 30 Minuten. Flüssigkeitsdefizite oder Verschiebungen im Säure-Basen-Haushalt wurden durch isotone Kochsalzlösung bzw. Natriumbicarbonat ausgeglichen.

Hatten die Tiere ein hämodynamisch stabiles Niveau erreicht, erfolgte der erste Messzeitpunkt „Baseline“ (BL), hier wurden Kontrollwerte für alle erhobenen Parameter ermittelt.

Im Anschluss daran wurde durch Mittelung der VO_2-Werte über 30 Minuten die Standard-VO_2 bestimmt, die als Durchschnittswert den O_2-Bedarf der Tiere in Ruhe und Narkose darstellt und als Bezugswert für die Berechnung der im Schock eingegangenen O_2-Schuld diente. Sie wurde absichtlich nicht während der Baseline-Messung durchgeführt, um zu verhindern, dass hämodynamische Schwankungen infolge Volumenveränderungen während der Blutvolumenmessung und den Abnahmen der Blutproben zu Veränderungen der aktuellen VO_2 und damit auch der Standard-VO_2 geführt hätten. Nach der Standard-VO_2-Messung wurde nochmals die Hämodynamik mit den Baseline-Werten verglichen, um mögliche Änderungen zu korrigieren.

Die Induktion des hämorrhagischen Schocks erfolgte duch druckpassiven Blutverlust aus einer Schleuse in der Arteria femoralis in einen in der Klinik gebräuchlichen Hämodilutionsbeutel (Fresenius, Bad Homburg), die enthaltene CPDA-Lösung stellte die Konservierung des Blutes sicher, das somit zu späteren Messzeitpunkten in Verdünnung mit HAES 6% (im Verhältnis des jeweiligen aktuellen Hämatokrits) als Ersatz für die Blutproben dienen konnte. Der Beutel wurde über eine Federwaage in einer Höhe von ca. 60 cm über Herzhöhe aufgehängt, dies entspricht dem vordefinierten Druckniveau von 45 mmHg. An der Federwaage ließ sich jederzeit das entzogene Blutvolumen ablesen. Die Geschwindigkeit des Blutverlustes wurde über eine Ultraschall-Fluss-Sonde (Transsonic Systems, Ithaca, NY, USA) gemessen und im Falle des Überschreitens des Maximums von 1.5 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ durch ein Reglersystem eines

herkömmlichen Infusionsbestecks gedrosselt. Hatte der mittlere arterielle Druck den Wert 45 mmHg erreicht wurde der Blutverlust gestoppt. Für den Rest der Schockphase wurde dieses Druckniveau durch manuellen Entzug und Rückgabe von kleinen Volumina Blut (5-20ml) konstant gehalten.

Während der Schockphase wurde die Flüssigkeitszufuhr der Infusion auf 15ml·h^{-1} reduziert, da sich sonst im Falle einer langen Schockdauer das Blutvolumen der Tiere wieder erhöht hätte. Die Menge applizierter Narkotika wurde dem zirkulierenden Blutvolumen entsprechend reduziert, die Narkosetiefe und der Basissauerstoffbedarf blieben hierbei unverändert.

Mit Beginn des Blutverlusts wurde die Berechnung der Sauerstoffschuld gestartet, die softwareunterstützt durchgeführt wurde. Die Daten des Deltatrac wurden über eine serielle Schnittstelle an einen PC übertragen und in ein Programm (WinCollect) eingelesen, das mit den zuvor eingegebenen Werten für die Standard-VO_2 und das Körpergewicht in Minutenabständen die O_2-Schuld berechnete, die bis zu diesem Zeitpunkt eingegangen worden war.

Am Ende der Schockphase wurde die Messung „Schock“ (S) durchgeführt. Damit die Messung bei einer O_2-Schuld von 120 ml·kg^{-1} abgeschlossen war, erfolgte der Beginn, abhängig

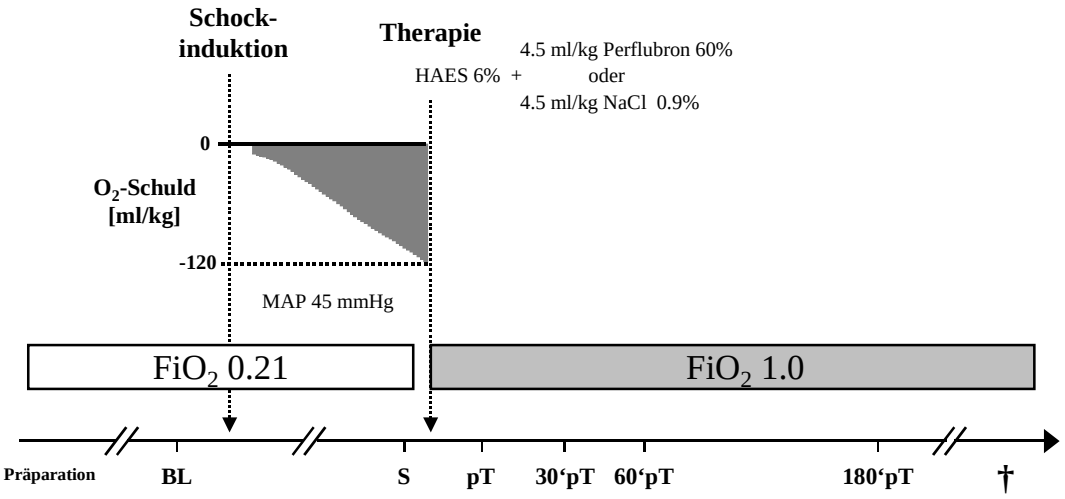


Abb. 13: Versuchsprotokoll

von der Kumulationsrate der O_2-Schuld, bei einem Wert von etwa 90-100 ml·kg^{-1}. Das Erreichen einer O_2-Schuld von 120 ml·kg^{-1} definierte das Ende der Schockphase.

Die unverzüglich gestartete Therapie wurde randomisiert und geblindet durchgeführt. Die Randomisierung erfolgte unmittelbar vor Therapie durch Ziehen eines Umschlags, während des gesamten Versuchsablaufs wusste nur der Infusionist über die Versuchsgruppen Bescheid. Die Therapie beinhaltete für beide Gruppen die Beatmung mit 100% Sauerstoff sowie den vollständigen Ersatz des entzogenen Blutvolumens durch isoonkotische Hydroxyäthylstärke (HAES-steril® 6%, Fresenius, Bad Homburg) inklusive 4.5 ml·kg^{-1} Perflubron® 60% w/v (AF0144, Alliance Pharmaceuticals, San Diego, California, USA) für die PFC-Gruppe (n=10) respektive 4.5 ml·kg^{-1} NaCl 0.9% (Isotone Natriumchloridlösung 0.9% Braun, Braun Melsungen AG) für die Kontroll-Gruppe (n=10). Die Volumensubstition wurde standardisiert mit einer Harvard-Pumpe (940A, Harvard Apparatus, South Nick, MA, USA) durchgeführt, die Flussrate betrug 100 ml·min^{-1}. Nach den ersten 100 ml HAES 6% zur Wiederherstellung der Hämodynamik erfolgte die Applikation des Verums bzw. Placebos, bevor der restliche Teil des Volumens durch HAES-steril® 6% ersetzt wurde

Anschließend wurde die Messung „post Therapie“ (pT) durchgeführt, 30 Minuten nach Abschluß der Therapie folgte die Messung „30 Minuten post Therapie“ (30’pT) sowie zu den entsprechenden Zeitpunkten die Messungen „60 Minuten post Therapie“ (60’pT) und „180 Minuten post Therapie“ (180’pT). Nach Beendigung der letzten Messung wurde ohne jede weitere Intervention das Ableben der Tiere abgewartet und so die Überlebenszeit nach Therapie bestimmt.

2.3 Messungen

2.3.1 Blutvolumen – Indocyanin-Grün-Verdünnungsmethode

Am Anfang jeder Messung, mit Ausnahme der Messung „Schock“, wurde eine Blutvol umenmessung mit der Indocyanin-Grün-Verdünnungsmethode durchgeführt. Der verwendete Indikator Indocyanin Grün (ICG) (Cardio-Green®, Paesel & Lorei, Frankfurt am Main) wird nach Injektion in der Leber abgebaut. Diese Elimination verläuft nach einer Kinetik erster Ordnung, die Plasmakonzentration sinkt also exponentiell ab. Änderungen in der ICG-Plasmakonzentration können durch photometrische Messung bei einer Wellenlänge von 805 nm bestimmt werden, ein Absinken der Konzentration führt zu einer geringeren Absorption des Lichts. Die Meßeinheit bestand aus dem Absorptionsspektrometer und einer Durchflußküvette, die in den Strahlengang der Lichtquelle eingespannt war. Zu Beginn der Messung wurden drei Eichproben mit bekannter ICG-Konzentration im Blut hergestellt (0 $\mu g \cdot ml^{-1}$, 1.25 $\mu g \cdot ml^{-1}$ und 2.5 $\mu g \cdot ml^{-1}$) und ihre jeweilige Extinktion bestimmt. Dies ist notwendig, um später aus

ICG-Menge (g)	3,69
$T_{1/2}$	5,0 min
5,0	149
4,5	161
4,0	173
3,5	184
3,0	197
2,5	211
2,0	226
1,5	241
1,0	266
lin. Reg. => Extinktion(to)=	300,78
Eichung 0,00 µg/ml	0
Eichung 1,25 µg/ml	120
Eichung 2,50 µg/ml	240
lin. Reg => Co= 3,13 µg/ml	300,78
Blutvolumen = M/Co	1,177 l

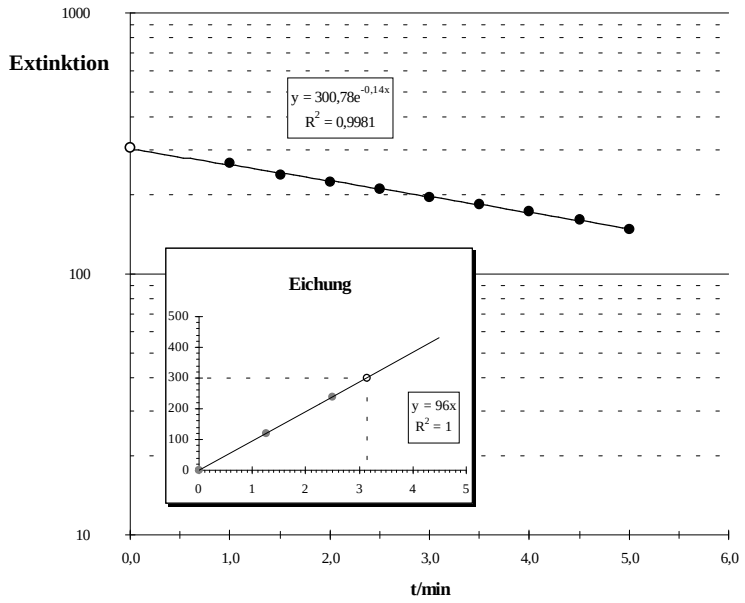


Abb. 14: Beispiel einer Blutvolumenmessung. Zunächst wurde mit bekannten Konzentrationen (●) die Eichung durchgeführt. 60 Sekunden nach ICG-Injektion wurden für 4 weitere Minuten die Extinktionswerte gemessen und halblogarithmisch gegen die Zeit aufgetragen (●). Durch Extrapolation bis zum Zeitpunkt 0 erhält man die fiktive Extinktion (○) und nach Übertragung auf die Eichgerade die theoretische ICG-Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion.

gemessenen Extinktionen auf Blutkonzentrationen rückschließen zu können. Nach Injektion einer definierten Menge ICG (0.25 $mg \cdot kg^{-1}$) in die Vena cava superior wurde, um eine homogene Verteilung des ICG im Blutkreislauf zu ermöglichen, 60 Sekunden bis zur ersten Absorptionsmessung abgewartet. Für die Messung eines Absorptionswertes wurde mit einem Perfusor 20 Sekunden lang Blut mit einer Flußrate von 100ml/min aus einer arteriellen Schleuse durch die Küvette gezogen und zum entsprechenden Zeitpunkt der Extinktionswert am Spektrometer abgelesen. Das entzogene Blutvolumen (ca.30-40ml) wurde dem Tier sofort wieder injiziert, um die Volumenschwankungen gering zu halten und auch die ICG-Elimination nicht zu verzögern. Anschließend startete sogleich der Blutabzug für den nächsten Meßzyklus. Die weiteren Messungen folgten in Intervallen von 30 Sekunden für insgesamt vier Minuten. Die Extinktionswerte wurden direkt in ein Computerprogramm (Microsoft Excel 97® , Microsoft, USA) eingegeben und in ein halblogarithmisches Koordinatensystem übertragen (Abb. 14). Durch die halblogarithmische Darstellung lagen die Extinktionswerte nun auf einer Geraden, deren Gleichung durch Regression bestimmt wurde. Die Extrapolation dieser Geraden bis zum Zeitpunkt 0 (Injektion) lieferte die theoretische Extinktion bei Injektion, welche mit den bekannten Extinktionen der Eichproben eine theoretische ICG-Konzentration zum Injektionszeitpunkt ergab. Hieraus ließ sich mit der injizierten ICG-Menge das Blutvolumen errechnen.

2.3.2 Hämodynamik

Im Anschluß an die Blutvolumenmessung folgte die Dokumentation der hämodynamischen Parameter. Der aortale Druck (AOP) und der linksventrikuläre Druck (LVP) wurden über elektronische Tip-Manometer-Katheter gemessen. Der Pulmonalisdruck (PAP) sowie der zentralvenöse Druck (ZVD) wurden über Wassersäule auf einen Druckwandler (Statham P23Db) übertragen und in ein elektronisches Signal gewandelt. Die Druckwandler befanden

sich auf Herzhöhe, sie wurden wie die Tip-Manometer-Katheter mit einem X-Caliber (Transducer Calibration System, Gould Inc., Cardiovascular Products Divison, Oxnard, CA, USA) auf einen Nullwert (Umgebungsdruck) und einen Maximalwert (AOP, LVP:200 mmHg; PAP: 50 mmHg; ZVD: 20 mmHg) geeicht. Das Herzzeitvolumen wurde mit einer Ultraschall-Fluss-Sonde (TC 208, Transsonic Systems, Ithaca, NY, USA) gemessen, die um die Aorta ascendens plaziert wurde.

Alle Druckwerte und das Herzzeitvolumen wurden sowohl kontinuierlich auf einem Schreiber (95600 Astro-Med Inc.) dokumentiert als auch über einen A/D-Wandler (AD M/E 26, Mailhaus Eleer, Puchheim) digitalisiert und an einen PC weitergeleitet. Mittels spezieller Software (DasyLab, Datalog Mönchengladbach) konnten die Druckkurven sowie 20-Sekunden-Mittelwerte online auf einem Bildschirm dargestellt werden. Zu jedem Messzeitpunkt wurde die Hämodynamik für 20 Sekunden aufgezeichnet und stand so einer späteren Analyse der Kurven zur Verfügung. Die Herzfrequenz wurde durch automatische Zählung der R-Zacken im EKG ermittelt.

2.3.3 Myokardiale Perfusion – Fluoreszierende Mikrosphären

Die Bestimmung des regionalen Blutflusses im Herzen erfolgte mit fluoreszierenden Mikrosphären (Fluospheres, Molecular Probes,Leiden, Netherlands). Die Fluoreszenz (Emission) ist eine Eigenschaft des in den Mikrosphären enthaltenen Farbstoffes und tritt bei Bestrahlung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge (Anregung) auf. Die Mikrosphären sind in sieben verschiedenen Farben (*blue, blue-green, yellow-green, orange, red, crimson, scarlet*) erhältlich, jede weist einen spezifischen Wellenlängenbereich für die Anregung und Emission auf, die sich aufgrund einer schmalen Bandbreite nicht überschneiden. Somit ist gesichert, dass der regionale Blutfluss zu verschiedenen Zeitpunkten gemessen werden kann (verschiedene Farben) und auch bei mehreren Farben in einer Organprobe keine Verwechslungen zwischen

den einzelnen Messungen bzw. den Mikrosphärenfarben auftreten (enge Bandbreite der Anregungs-/Emissionsspektren).

Sie werden in den linken Vorhof injiziert, verteilen sich daher optimal im arteriellem Blut und werden dem Blutfluß entsprechend in die Organe eingeschwemmt, wo sie aufgrund ihres Durchmessers von 15 µm in den Kapillaren hängenbleiben. Parallel zur Injektion wird aus der Aorta abdominalis eine Blutprobe mit definiertem Fluss abgezogen, sie dient später als Referenzorgan. Bei bekanntem Fluss kann mit ihrer Fluoreszenz der Blutfluss der Organproben berechnet werden. Am Versuchsende werden die zu untersuchenden Organe entnommen, konserviert und nach einem definierten Schema in kleine Organproben mit einem Gewicht von 1-4 g disseziert. Die Proben werden gewogen und anschließend einem Digestionsprozess unterzogen, durch den die fluoreszierenden Mikrosphären ausgewaschen werden. Die Bestimmung der Fluoreszenzintensität erfolgt in einem Spektrometer, sie ist der Anzahl der Mikrosphären in der Organprobe und somit auch dem jeweiligen Blutfluss proportional. Letzterer lässt sich über die Fluoreszenz der Referenzprobe quantifizieren, bezogen auf das Probengewicht erhält man einen indizierten Wert für die Durchblutung ($ml \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$).

Messung

Für jede Messung wurden $10 \cdot 10^6$ Mikrosphären einer Farbe in 10 ml NaCl 0,9% aufgelöst. Um zu verhindern, dass die Mikrosphären kleine Aggregate bilden, wurden die Lösungen mit Ultraschall behandelt und vor der Injektion nochmals für mindestens 3 min auf einem Schüttelmixer durchgemischt. Über einen Zeitraum von 50 Sekunden wurden jeweils 5ml der Lösung (entsprechend ca. $5 \cdot 10^6$ Mikrosphären) linksatrial (regionaler Blutfluss in Herz, Darm und Leber) und pulmonalarteriell (regionaler Blutfluss in der Lunge) injiziert. Gleichzeitig wurde mit einer Präzisionspumpe (940A, Harvard Apparatus, South Nick, MA, USA) für 3 Minuten eine Referenzblutprobe mit dem konstanten Fluß von 3.24 $ml \cdot min^{-1}$ aus der Aorta

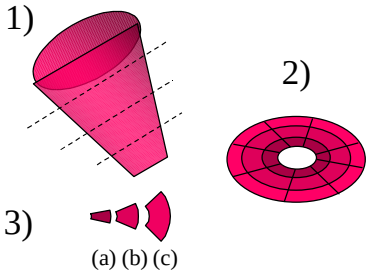
abdominalis entnommen. Als Koagulationsschutz wurden jeder Spritze 2 ml CPDA zugesetzt. Das Volumen des entzogenen Blutes wurde anschliessend durch autologes Blut (entnommen und konserviert während der Schockphase) gemischt mit HAES (entsprechend dem aktuellen Hämatokrit) ersetzt.

Dissektionsschema des Herzens

Am Versuchsende wurde das Herz entnommen, gewogen und in Formalin konserviert.
Die Dissektion folgte einem genau definiertem Schema (Abb. 15): Die Ventrikel wurden in 4 Scheiben senkrecht zur Herzachse geschnitten, jede kreisförmige Scheibe anschließend in 8 Sektoren getrennt.

$$\frac{Q_{rm}}{F_{rm}} = \frac{Q_{art}}{F_{art}}$$

Q_{rm} : Myokardiale Perfusion [ml/min]
F_{rm} : Fluoreszenz Gewebeprobe
Q_{art} : Arterieller Referenzfluß [3.24ml/min]
F_{art} : Fluoreszenz Referenzprobe



1) 4 Horizontalschnitte
2) 8 Sektoren
3) 3 Myokardschichten
(a) Subendokardial
(b) Myokardial
(c) Subepikardial

Abb. 15:
Dissektionsschema der Herzen zur getrennten Bestimmung von epi-, myo- und subendokardialen Bezirken

Aufbereitung der Organproben

Die Aufbereitung der Organproben fand in einem speziell entwickeltem Filtrationssystem (sample processing unit, SPU) statt und wurde mit einem Roboter (Zymark, Idstein) automatisiert durchgeführt.[150,178] Nach der Bestimmung des Gewichts der Proben wird das organische Gewebe in einem Gemisch aus 4 N KOH (224,4g KOH / 1000ml) und Tween 2% aufgelöst und die entstehende wässrige Phase mit 1,5ml Isopropanol 100% überschichtet. Durch sechs-

stündige Inkubation bei 60°C (Heizspule, Perkin-Elmer, Überlingen) wird das organische Material vollständig verdaut. Die Mikrosphären werden dabei ausgewaschen und lagern sich aufgrund der Dichteunterschiede in einer Schicht zwischen der KOH-Lösung und dem Isopropanol ab. Danach wird die gesamte Flüssigkeit mit Unterdruck durch einen Filter gesogen; dessen Poren haben einen Durchmesser von 7 µm und halten so die Mikrosphären zurück. Nach Neutralisation der KOH-Reste auf dem Filter mit 20ml Phosphatpuffer (29,9g K_2HPO_4 / 800ml H_2O + 5,88g KH_2PO_4 / 200ml H_2O; pH = 7,4) wird er durch Zentrifugation (3 min bei 4000 $U \cdot min^{-1}$) getrocknet. Anschließend wird der Fluoreszenzfarbstoff mit einem organischem Lösungsmittel (2-Ethoxyethylacetat – Cellosolve) aus den Mikrosphären gelöst und durch Zentrifugation (3 min bei 4000 $U \cdot min^{-1}$) in ein Auffanggefäß abgeschieden, in dem abschließend mit einem Fluoreszenzspektrometer (LS50B, Perkin Elmer, Überlingen) die Fluoreszenzintensität gemessen wird.

Die Referenzblutprobe kann ohne Digestionsprozeß direkt gefiltert werden, die Spritze und das Filtergefäss werden lediglich mit einer Lösung aus destilliertem Wasser und Tween 2% ausgespült. Die Auslösung des Farbstoffes und die Fluoreszenzmessung erfolgt wie oben beschrieben.

Das vorgegebene Schema der Herzdissektion (Abb. 15) ermöglichte im Nachhinein die Unterscheidung von subepi-, myo- und subendokardialen Gewebebereichen.

Das Verhältnis zwischen subendokardialer und subepikardialer Durchblutung ist als Endo-Epi-Ratio (EER) definiert. Die subendokardialen Bezirke werden fast ausschliesslich in der Diastole perfundiert, ausserdem liegt hier ein höherer kritischer Perfusionsdruck vor, bei dessen Erreichen die Perfusion vom koronaren Perfusionsdruck abhängig wird. Im Gegensatz dazu kann in den subepikardialen Bezirken die Perfusion weitestgehend aufrechterhalten werden. Ein Absinken des Verhältnisses zwischen subendokardialer und subepikardialer Perfusi-

on (Endo-Epi-Ratio) stellt einen sensitiven Parameter einer myokardialen Innenschichtischämie dar, als kritischer Wert wird eine EER kleiner 1 angesehen.[14,76]

Die Ergebnisse der regionalen myokardialen Perfusion wurden des Weiteren für die Bestimmung der myokardialen DO_2 und VO_2 herangezogen (siehe 2.3.4).

Der koronare Perfusionsdruck (CPP), der koronarvaskuläre Widerstandsindex (CVRI) und der Ausschöpfungsgrad der Koronarreserve ($Flow_{myoc}$% u. $Flow_{endo}$%) wurden aus den hämodynamischen Parametern nach den Gleichungen in Kapitel 2.5 berechnet.

2.3.4 Myokardoxygenierung

2.3.4.1 Myokardiale DO_2 und VO_2

Zur Untersuchung der Myokardoxygenierung und des myokardialen Sauerstoffverbrauchs wurden zu jedem Messzeitpunkt arterielle und koronarvenöse Blutproben in Blutgasspritzen mit Trockenheparin (QS 50® Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) entnommen und auf ihre Hb-Konzentration, Sauerstoffsättigung und pO_2 untersucht. Die Bestimmung der arteriellen und koronarvenösen Hämoglobinkonzentration und Sauerstoffsättigung wurde an einem CO-Oximeter (IL 682, Instrumentation Laboratory, Kirchheim) durchgeführt, der speziell für Hundeblut geeicht wurde. Hierbei wurden auch die jeweiligen Anteile von CO-Hb, Met-Hb und desoxygeniertem Hb (RHb) untersucht. Die Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdrücke, der Säure-Basen-Status (pH, Base excess, Bicarbonatkonzentration) und der Elektolythaushalt wurden mit einem Blutgasanalysator (860 Chiron Diagnostics, Fernwald) ermittelt. Der arterielle und koronarvenöse Sauerstoffgehalt sowie der jeweilige Anteil des Plasmas bzw. der Hämoglobinfraktion wurde nach den Formeln in Kapitel 2.5 berechnet. Die Menge des in Perflubron® gelösten Sauerstoffs ergibt sich aus der PFC-Konzentration im Vollblut, der Dichte $1.92\ g \cdot l^{-1}$ und der Sauerstofflöslichkeit von 0.53 ml O_2 pro ml Perflubron® bei einem Partialdruck von 760 mmHg und einer Temperatur von 37°C. Die Bestimmung der PFC-Konzen-

tration im Vollblut erfolgte durch gaschromatographische Messung und wurde posthoc von Alliance Pharmaceuticals Corp. durchgeführt.

Das myokardiale Sauerstoffangebot (mDO_2), das subendokardiale Sauerstoffangebot (eDO_2) und der myokardiale Sauerstoffverbrauch (mVO_2) wurden mit den Daten der regionalen Myokardperfusion berechnet.

Des Weiteren wurden arterielle und koronarvenöse Proben für die enzymatische Bestimmung der Lactatkonzentration (enzymatische UV-Bestimmung, Boehringer, Mannheim) abgenommen.

Das für alle Proben abgenommene Volumen, inklusive der Referenzproben aus der Blutflussmessung, wurde den Tieren vollständig ersetzt. Zu diesem Zweck wurde im Schock entzogenes und konserviertes Blut im Verhältnis des aktuellen Hämatokrits mit HAES 6% gemischt.

2.3.4.2 ST-Strecken-Analyse

Ein EKG-Ausdruck diente der späteren Analyse des ST-Strecke, des Rhythmus sowie der QRS-Komplexe und der T-Welle. Die beiden EKG-Ableitungen II und V_5 wurden ausgewählt, da diese Kombination sowohl die Überwachung der Hinterwand (Abl. II) als auch der Vorderwand (V_5) ermöglicht. Zu jedem Messzeitpunkt wurde das EKG für 20 Sekunden auf Schreiberpapier ausgedruckt. Die Streifen wurden auf einem Computer eingescannt und als Grafikdatei gespeichert. Die Analyse der ST-Streckenveränderungen wurde durch einen geblindeten Untersucher mithilfe von SigmaScan 5.0 (Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA) durchgeführt. Die Messung der ST-Strecken-Senkung bzw. –hebung erfolgte aufgrund der hohen Herzfrequenzen 40 ms nach dem J-Punkt, als Isopotentiallinie wurde die PQ-Strecke definiert. Für die statistische Auswertung wurden Mittelwerte aus fünf Einzelmessungen erhoben.

2.3.4.3 Interstitielles Lactat – Mikrodialyse

Die Messung der interstitiellen Lactat-Konzentration im Myokard erfolgte kontinuierlich und unabhängig von den Messzeitpunkten mithilfe einer Mikrodialysesonde (CMA20, Solna, Schweden), die mittels einer modifizierten Seldinger Technik in der Vorderwand des linken Ventrikels, 5mm distal des Abgangs des ersten Diagonalastes, plaziert und durch eine chirurgische Naht (Prolene 5.0 Monofil, Ethicon, Norderstedt) fixiert wurde.Die Sonde besitzt eine semipermeable Membran, durch die alle Moleküle mit einem Molekulargewicht kleiner 20kD aus dem Gewebe ins Innere der Sonde diffundieren. Eine Präzisionspumpe (CMA100) spült die Sonde kontinuierlich mit 15µl/min Krebs-Ringer-Lösung, ein Mikrofraktionskollektor (CMA 140) sammelt das Dialysat und erzeugt Proben im Abstand von 15 Minuten. Die Proben wurden sofort tiefgefroren, um sie für die spätere Analyse zu konservieren, diese erfolgte durch Gaschromatographie.

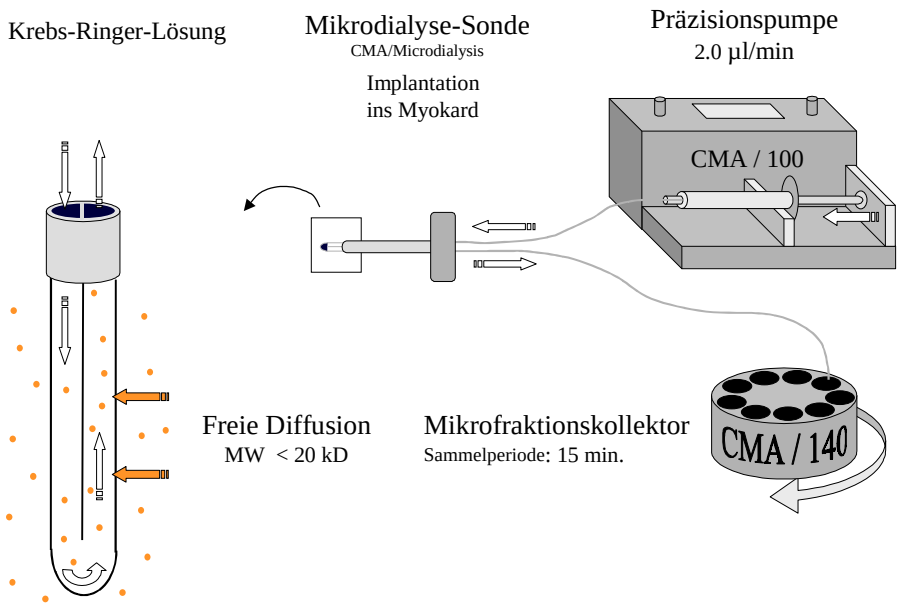


Abb. 16: Schematischer Aufbau der Mikrodialyse. Die Präzisionspumpe fördert kontiniuerlich das Dialysat durch den Schlauch in die Sonde mit der semipermeablen Membran (Quadrat in der Mitte, Vergrösserung links). Hier erfolgt der Austausch löslicher Substanzen durch freie Diffusion entsprechend ihrer Konzentration in der interstitiellen Flüssigkeit. Das Dialysat wird anschliessend weitergepumpt und im Mikrofraktionskollektor aufgefangen, der automatisch neue Proben im Abstand von 15 Minuten sammelt.

2.3.5 Myokardfunktion

2.3.5.1 Systolische Funktion

Als Parameter der systolischen Myokardfunktion wurde die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit im linken Ventrikel ($LVdpdt_{max}$) und der linksventrikuläre Schlagarbeitsindex (LVSWI) ermittelt. Die $LVdpdt_{max}$ ergibt sich als erste Ableitung des linksventrikulären Druckes nach der Zeit und wurde nach Digitalisierung online durch die Dasylab-Software generiert und wie die Hämodynamik gespeichert. Da die Werte abhängig von der Respiration schwankten, wurde der Mittelwert aus den fünf stärksten Herzaktionen in Exspiration in die statistische Datenanalyse aufgenommen.

Als Maß für die vom Herzen erbrachte Leistung wurde der linksventrikuläre Schlagarbeitsindex (LVSWI) anhand der Formel in 2.5 berechnet.

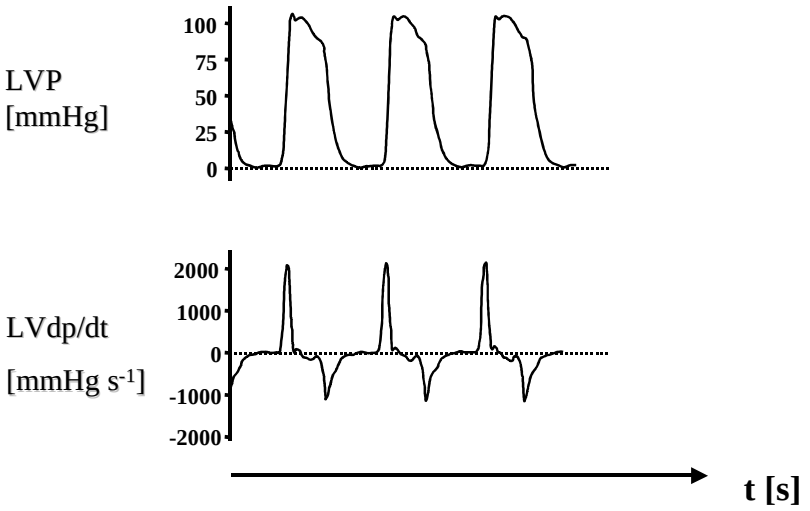


Abb. 17: Linksventrikulärer Druck (LVP) und die zugehörige 1. Ableitung nach der Zeit (LVdpdt)

2.3.5.2 Diastolische Herzfunktion

Zur Beurteilung der diastolischen Herzfunktion wurden die maximale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit ($LVdpdt_{min}$) sowie die Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation Tau (τ) herangezogen. Die $LVdpdt_{min}$ wurde analog dem Vorgehen bei der $LVdpdt_{max}$ ermittelt.

Tau wurde ebenfalls anhand der hämodynamischen Parameter bestimmt:

Zwischen $LVdpdt_{min}$ und der Mitralklappenöffnung verläuft der linksventrikuläre Druckabfall exponentiell und kann als folgende Gleichung dargestellt werden:

$$p(t) = p_0 \cdot e^{-t/\tau} \quad (1) \qquad \text{(mit } p_0 = \text{LVP bei } LVdpdt_{min})$$

$$\Rightarrow \quad e^{-t/\tau} = p(t) / p_0 \quad (2)$$

Wird diese Gleichung *(1)* nach der Zeit differenziert erhält man :

$$dp/dt = - p_0/\tau \cdot e^{-t/\tau} \quad (3) \qquad \text{und mit } e^{-t/\tau} \text{ aus } (2)$$

$$\Rightarrow \quad dp/dt = -1/\tau \cdot p(t) \quad (4)$$

LVdpdt lässt sich also als lineare Funktion von LVP darstellen, die Steigung dieser Geraden beträgt dabei $-1/\tau$.

Für die Bestimmung von τ wurden nun die LVdpdt-Werte und die zugehörigen LVP-Werte

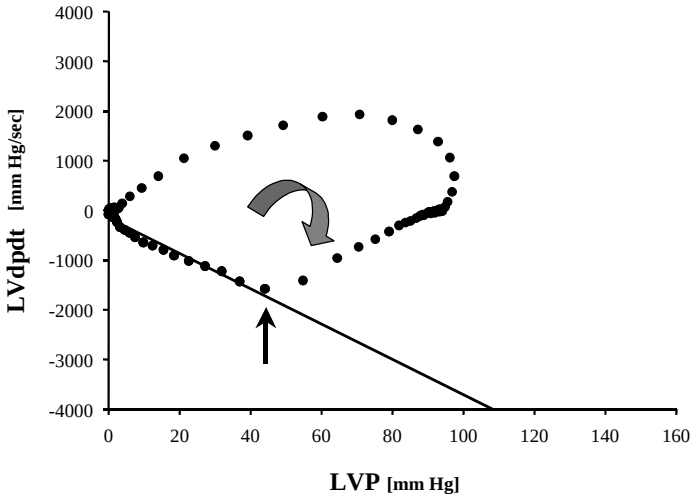


Abb. 18:
Bestimmung von τ durch Regression. Die Herzaktion wird im Uhrzeigersinn durchlaufen, der tiefste Punkt (gerader schwarzer Pfeil) kennzeichnet den Beginn der zeitunabhängigen Relaxation.

einer repräsentativen Herzaktion verwendet. Die Auswahl der repräsentativen Herzaktion erfolgte durch Begutachtung aller Herzaktionen während der 20-sekündigen Aufzeichnungsdauer der Makrohämodynamik; lagen zum Zeitpunkt der Exspiration über mehrere Herzaktionen stabile Werte vor, wurde aus diesem Zeitfenster eine Herzaktion ausgewählt. Anschliessend wurde in einem Diagramm LVdpdt auf der Abszisse gegen LVP auf der Ordinate aufgetragen (Abb. 18), es ergibt sich so ein Zyklus, der im Uhrzeigersinn verfolgt die Herzaktion darstellt. Der Abschnitt zwischen $LVdpdt_{min}$ (gerader Pfeil) und dem Ende der Relaxation am linksventrikulärem Druckminimum stellt den vorlastunabhängigen Teil der Relaxation dar. Durch diese Punkte wird eine Regressionsgerade gelegt, deren Gleichung die oben hergeleitete Formel (4) darstellt, τ errechnet sich aus dem Kehrwert der Steigung dieser Geraden.

2.4 Statistik

In dieser Untersuchung führten wir 24 Versuche durch, da 4 Tiere während der Präparation bzw. der Schockphase verstarben, gingen die Daten von 10 Tieren je Gruppe in die endgültige Auswertung ein. Die Zuteilung zu den Gruppen erfolgte randomisiert kurz vor Ende der Schockphase.

Die Berechnung der Daten aus den gemessenen Parametern sowie die graphische Darstellung wurden mit Excel (Microsoft Corporation) durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit SAS Version 6.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA), die Daten wurden zunächst mit dem Shapiro-Wilks-Test auf Normalverteilung ($p< 0,05$) überprüft. Da die Mehrzahl der Datensätze nicht normalverteilt war, wurden Unterschiede in den Gruppen mit dem Mann-Whitney-U-Test nachgewiesen ($p< 0,05$).

2.5 Abgeleitete Parameter

Die Berechnung der Körperoberfläche erfolgte nach der Formel von Holt[80] und wurde für die weitere Berechnung indizierter Parameter verwendet:

Körperoberfläche	$KO = (10^3 \cdot KG)^{2/3} \cdot 11{,}2 \cdot 10^{-4}$
Index:	11,2 (k): Faktor für Hunde

Hämodynamik:

Herzeitvolumenindex	$HZVI = HZV / KO$
Schlagvolumen	$SV = HZV \cdot 10^3 / HR$
Systemischer vaskulärer Widerstandsindex	$SVRI = (MAP - CVP) \cdot 79{,}9 / (HZV \cdot KO)$
Pulmonalvaskulärer Widerstandsindex	$PVRI = (PAP - LVedP) \cdot 79{,}9 / (HZV \cdot KO)$
Blutvolumenindex	$BVI = BV / KG$

Index: HZV = Herzzeitvolumen; MAP = Mittlerer Arterieller Druck; CVP = Zentralvenöser Druck; HR = Herzfrequenz; PAP = Pulmonalarterieller Druck; LvedP = Linksventrikulärer enddiastolischer Druck; BV = Blutvolumen

Gasaustausch/Sauerstofftransport:

Arterieller Sauerstoffgehalt Hämoglobin	$CaO_{2\ Hb} = 1.34 \cdot Hb \cdot SaO_2$
Arterieller Sauerstoffgehalt Plasma	$CaO_{2\ Plasma} = 0.0031 \cdot paO_2$
Arterieller Sauerstoffgehalt Perflubron®	$CaO_{2\ PFC} = PFC \cdot 1.92^{-1} \cdot 0.53 \cdot paO_2 \cdot 760^{-1}$
Arterieller Sauerstoffgehalt physikalisch	$CaO_{2\ phys} = CaO_{2\ Plasma} + CaO_{2\ PFC}$
Arterieller Sauerstoffgehalt	$CaO_2 = CaO_{2\ Hb} + CaO_{2\ Plasma} + CaO_{2\ PFC}$
Koronarvenöser Sauerstoffgehalt	$CcO_2 = CcO_{2\ Hb} + CcO_{2\ Plasma} + CcO_{2\ PFC}$

Die koronarvenösen Sauerstoffgehalte $CcO_{2\ Hb}$, $CcO_{2\ Plasma}$, $CcO_{2\ PFC}$ berechenen sich analog mit der koronarvenösen Sauerstoffsättigung ScO_2 und dem koronarvenösen Sauerstoffpartialdruck $cvpO_2$.

Sauerstoffangebotsindex	$DO_2I = CaO_2 \cdot HZVI$
Physikalischer Anteil der DO_2I	$DO_2I_{phys} = CaO_{2\ phys} \cdot HZVI$
Relativer physikalischer Anteil DO_2I	$DO_{2\ phys}\ \% = DO_{2\ phys} / DO_2I$
Sauerstoffverbrauchsindex	$VO_2I = (CaO_2 - CvO_2) \cdot HZVI$
Physikalischer Anteil der VO_2I	$VO_2I_{phys} = (CaO_{2\ phys} - CvO_{2\ phys}) \cdot HZVI$
Relativer physikalischer Anteil VO_2I	$VO_{2\ phys}\ \% = VO_2I_{phys} / VO_2I$

Index: Hb = Hämoglobinkonzentration; SaO_2 = arterielle Sauerstoffsättigung; paO_2 = arterieller Sauerstoffpartialdruck; PFC = Perflubron®-Konzentration in Vollblut; CvO_2 = gemischtvenöser Sauerstoffgehalt

Myokardperfusion:

Koronarer Perfusionsdruck	$CPP = AOP_{dia} – LvedP$
Myokardiale Koronarreserve	$Flow_{myoc}\% = Flow_{myoc} / Flow_{myoc\ (BL)} \cdot 100$
Subendokardiale Koronarreserve	$Flow_{endo}\% = Flow_{endo} / Flow_{endo\ (BL)} \cdot 100$
Endo-Epi-Ratio	$EER = Flow_{endo} / Flow_{epi}$
Koronarvaskulärer Widerstandsindex	$CVRI = (AOP_{dia} – CVP) \cdot 79,9 / Flow_{myoc}$

Index: AOP_{dia} = diastolischer Aortendruck; $Flow_{myoc}$ = myokardiale Perfusion; $Flow_{endo}$ = subendokardiale Pefusion; $Flow_{myoc}^{(BL)}$ = myokardiale Perfusion zum Messzeitpunkt Baseline; $Flow_{endo}^{(BL)}$ = subendokardiale Perfusion zum Messzeitpunkt Baseline; $Flow_{epi}$ = subepikardiale Pefusion;

Myokardoxygenierung:

Subendokardiales Sauerstoffangebot	$eDO_2 = CaO_2 \cdot Flow_{endo}$
Myokardiales Sauerstoffangebot	$mDO_2 = CaO_2 \cdot Flow_{myoc}$
Hämoglobinanteil an mDO_2	$mDO_{2\ Hb} = CaO_{2\ Hb} \cdot Flow_{myoc}$
Perflubron®-Anteil an mDO_2	$mDO_{2\ PFC} = CaO_{2\ PFC} \cdot Flow_{myoc}$
Physikalischer Anteil an der mDO_2	$mDO_{2\ phys} = CaO_{2\ phys} \cdot Flow_{myoc}$
Relativer Hämoglobinanteil an mDO_2	$mDO_{2\ Hb}\ \% = mDO_{2\ Hb} / mDO_2 \cdot 100$
Relativer Perflubron®-Anteil an mDO_2	$mDO_{2\ PFC}\% = mDO_{2\ PFC} / mDO_2 \cdot 100$
Relativer physikalischer Anteil an mDO_2	$mDO_{2\ phys}\ \% = mDO_{2\ phys} / mDO_2 \cdot 100$
Myokardialer Sauerstoffverbrauch	$mVO_2 = Flow_{myoc} \cdot (CaO_2 - CcO_2)$
Hämoglobinanteil an mVO_2	$mVO_{2\ Hb} = (CaO_{2\ Hb} - CcO_{2\ Hb}) \cdot Flow_{myoc}$
Perflubron®-Anteil an mVO_2	$mVO_{2\ PFC} = (CaO_{2\ PFC} - CcO_{2\ PFC}) \cdot Flow_{myoc}$
Physikalischer Anteil an mVO_2	$mVO_{2\ phys} = (CaO_{2\ phys} - CcO_{2\ phys}) \cdot Flow_{myoc}$
Relativer Hämoglobinanteil an mVO_2	$mVO_{2\ Hb}\ \% = mVO_{2\ Hb} / mVO_2 \cdot 100$
Relativer Perflubron®-Anteil an mVO_2	$mVO_{2\ PFC}\% = mVO_{2\ PFC} / mVO_2 \cdot 100$
Relativer physikalischer Anteil an mVO_2	$mVO_{2\ phys}\ \% = mVO_{2\ phys} / mVO_2 \cdot 100$
Myokardiale Sauerstoffextraktionsrate	$mO_2ER = mVO_2 / mDO_2$
Myokardiale Lactatextraktionsrate	$Lact\ ER = (Lact_{art} – Lact_{cv}) / Lact_{art}$

Index: $Lact_{art}$ = arterielle Lactatkonzentration; $Lact_{cv}$ = koronarvenöse Lactatkonzentration;

Myokardfunktion:

Linksventrikulärer Schlagarbeitsindex	$LVSWI = 0.133 \cdot SV \cdot MAP \cdot KO^{-1}$
Schlagvolumenindex	$SI = HZVI \cdot 10^3 / HR$

3. Ergebnisse

Die Daten werden als Median ± Semiinterquartilsabstand [$(Q_3-Q_1)/2$] angegeben, in den Graphiken sind die PFC-Gruppe (PFC) weiss ○, die Kontrollgruppe (HAES) schwarz ● dargestellt.

3.1 Experimenteller Schock – Vergleichbarkeit der Gruppen

Bei keinem der in Tabelle 3 angegebenen Parameter Ausgangsblutvolumen, Blutverlust im Schock (absolut und relativ zum Baselinewert), Hämatokrit im Schock, Standard-VO_2, eingegangene O_2-Schuld, Kumulationsrate und Schockdauer, ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen.

Alle Parameter der Hämodynamik und des Gasaustausches zu den Messzeitpunkten Baseline und Schock sind in den Übersichtstabellen der jeweiligen Kapitel zu finden; etwaige signifikante Unterschiede werden dort behandelt. Der Hämatokrit war zum Zeitpunkt Schock in beiden Gruppen gleichermassen erniedrigt, dies war bedingt durch den Blutverlust während der chirurgischen Präparation und die zum Ausgleich erfolgte Volumenzufuhr.

	BVI (Baseline)	**Blutverlust**		**Hkt (Schock)**
	[ml · kg^{-1}]	[ml]	[%]	[%]
PFC	75,6 ± 6,9	325 ± 43	30 ± 2	23,1 ± 1,2
HAES	77,7 ± 4,5	395 ± 75	32 ± 7	24,6 ± 3,5

	Standard VO_2I	**O_2-Schuld**	**Kumulationsrate**	**Schockdauer**
	[ml · min^{-1} · m^{-2}]	[ml · kg^{-1}]	[ml · kg^{-1} · min^{-1}]	[min]
PFC	119,3 ± 8,6	122,4 ± 1,4	0,82 ± 0,12	148 ± 23
HAES	115,9 ± 7,2	121,3 ± 1,1	0,75 ± 0,08	163 ± 18

Tabelle 3: **Parameter des experimentellen Schocks** der beiden Versuchsgruppen. Angabe von Median ± Semiinterquartilsabstand. **BVI (Baseline) =** Blutvolumenindex zu Baseline. **Hkt =** Hämatokrit

3.2 Hämodynamik

Zum Zeitpunkt „Baseline“ herrschten in beiden Gruppen mit Ausnahme der Herzfrequenz physiologische Verhältnisse vor. Die in beiden Gruppen vergleichbare Tachykardie ist auf eine ausgeprägte Vagolyse durch das Muskelrelaxans Pancuronium zurückzuführen. Zu den Messzeitpunkten „Schock“ und „post Therapie“ war der pulmonalarterielle Druck in der Kontrollgruppe signifikant höher. Die hämodynamischen Parameter waren ansonsten zu keinem Messzeitpunkt signifikant unterschiedlich zwischen beiden Gruppen. In der PFC-Gruppe betrug der Herzzeitvolumenindex (HZVI) im Schock 1,0±0,2 l/min (29±4% des Baseline-Wertes), nach Therapie war er (bedingt durch die Hämodilution) 4,4±1,0 l/min (141±28%). In der Kontrollgruppe betrug der HZVI im Schock 0,9±0,2 l/min (29±6%), nach Therapie wurden 4,3±1,4 l/min (139± 17%) gemessen. Infolge kapillärer Flüssigkeitsverluste betrug der Blutvolumenindex (BVI) zum Zeitpunkt 60’ pT ca. 70ml/kg, 180’ pT nur noch ca. 50ml/kg. Konsekutiv waren die Parameter CVP, MAP und HZVI ebenfalls niedrig (Tab. 4). Unterschiede zwischen der PFC- und der HAES-Gruppe bestanden nicht.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Zugabe von Perflubron® keine signifikanten hämodynamischen Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe hervorgerufen hat.

3.3 Gasaustausch und Sauerstofftransport

Der paO_2 lag zu Baseline in beiden Gruppen im Normbereich, war jedoch in der HAES-Gruppe diskret aber signifikant höher (Tab.5). Der Zusatz von PFC bewirkte zum Zeitpunkt pT einen signifikant höheren paO_2 (629±15 mmHg vs 570±37 mmHg, $p<0,05$) und konsekutiv eine Zunahme des physikalischen Anteils ($DO_{2\,phys}$%) am Sauerstoffangebot (23,1±2% vs 18,7±1,6%, $p<0,05$). Die $DO_{2\,phys}$% war auch zum Zeitpunkt 30’ pT in der PFC-Gruppe mit 24,2±3,0% gegenüber der Kontrollgruppe (20,5±0,9%) noch signifikant erhöht ($p<0,05$). Die Zugabe von PFC hatte jedoch keinen relevanten Einfluss auf den arteriellen Gesamtsauer-

Hämodynamik

		Baseline	Schock	post Therapie	30' post Therapie	60' post Therapie	180'post Therapie
AOP_{sys}	*PFC*	126 ± 10,3	72 ± 7,0	119 ± 18,5	118 ± 12,9	106 ± 5,0	87 ± 4,0
[mmHg]	*HAES*	117 ± 6,3	61 ± 4,6	120 ± 10,9	125 ± 20,0	120 ± 11,0	91 ± 11,5
MAP	*PFC*	97 ± 5,3	44 ± 1,5	89 ± 14,4	87 ± 10,9	71 ± 3,5	54 ± 3,5
[mmHg]	*HAES*	93 ± 7,3	42 ± 1,3	87 ± 10,3	89 ± 9,5	82 ± 11,0	59 ± 4,9
AOP_{dia}	*PFC*	76 ± 2,6	32 ± 2,9	63 ± 14,9	61 ± 12,9	52 ± 6,5	39 ± 4,0
[mmHg]	*HAES*	69 ± 7,0	31 ± 0,9	65 ± 11,0	60 ± 5,5	58 ± 10,5	41 ± 1,4
PAP	*PFC*	14,2 ± 1,4	6,6 ± 1,9 #	16,1 ± 3,6 #	15,4 ± 2,6	14,7 ± 1,6	11,1 ± 2,3
[mmHg]	*HAES*	16,0 ± 1,1	11,5 ± 1,8	20,3 ± 2,3	15,6 ± 1,1	13,1 ± 0,5	12,1 ± 0,3
HZVI	*PFC*	3,3 ± 0,4	1,0 ± 0,2	4,4 ± 1,0	3,4 ± 0,7	2,9 ± 0,5	2,1 ± 0,4
$[l \cdot min^{-1}]$	*HAES*	3,0 ± 0,3	0,9 ± 0,2	4,3 ± 1,4	3,2 ± 0,8	2,3 ± 0,5	1,4 ± 0,3
HR	*PFC*	144 ± 14	208 ± 19	167 ± 20	164 ± 10	158 ± 6	156 ± 13
$[min^{-1}]$	*HAES*	151 ± 14	206 ± 18	162 ± 16	171 ± 21	170 ± 18	175 ± 6
SVRI	*PFC*	4743 ± 821	7116 ± 1119	2543 ± 683	4392 ± 1417	3751 ± 1042	4579 ± 770
$[dyn \cdot s^{-1} \cdot cm^{-5}]$	*HAES*	5018 ± 369	7637 ± 1991	3226 ± 903	4733 ± 748	5414 ± 1007	5935 ± 893
PVRI	*PFC*	499 ± 164	999 ± 94	211 ± 69	304 ± 194	380 ± 144	661 ± 229
$[dyn \cdot s^{-1} \cdot cm^{-5}]$	*HAES*	469 ± 60	1401 ± 591	406 ± 106	400 ± 157	497 ± 146	703 ± 173
CVP	*PFC*	4,5 ± 0,5	2,5 ± 1,3	6,0 ± 2,0	5,0 ± 1,0	4,0 ± 0,5	4,0 ± 1,0
[mmHg]	*HAES*	4,5 ± 0,9	2,0 ± 1,0	6,0 ± 0,8	5,0 ± 1,5	4,0 ± 1,0	3,5 ± 0,8
BVI	*PFC*	76 ± 6,9	n.g.	74 ± 7,5	76 ± 6,2	71 ± 6,6	55 ± 2,8
$[l \cdot kg^{-1}]$	*HAES*	78 ± 4,5	n.g.	76 ± 6,8	72 ± 3,1	70 ± 4,1	49 ± 6,4

Tabelle 4: **Hämodynamische Parameter** der beiden Versuchsgruppen zu den 6 Messzeitpunkten. Angabe von Median ± Semiinterquartilsabstand. **AOP_{sys}** = systolischer Aortendruck. **MAP** = mittlerer arterieller Druck. **AOP_{dia}** = diastolischer Aortendruck. **PAP** = mittlerer pulmonalarterieller Druck. **HZVI** = Herzzeitvolumenindex. **HR** = Herzfrequenz. **SVRI** = systemischer vaskulärer Widerstandsindex. **PVRI** = pulmonalvaskulärer Widerstandsindex. **CVP** = zentralvenöser Druck. **BVI** = Blutvolumenindex. n.g. = nicht gemessen. #: signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen $p < 0,05$.

Gasaustausch & Sauerstofftransport

		Baseline	Schock	post Therapie	30' post Therapie	60' post Therapie	180'post Therapie
paO_2	*PFC*	100 ± 6 #	97 ± 5	629 ± 15 #	631 ± 9	585 ± 24	625 ± 42
[mmHg]	*HAES*	111 ± 7	113 ± 13	570 ± 37	583 ± 33	584 ± 32	621 ± 13
Hb	*PFC*	10,8 ± 0,8	7,9 ± 0,8	5,9 ± 0,8	5,5 ± 0,8	5,1 ± 0,9	5,3 ± 0,4
[$g \cdot dl^{-1}$]	*HAES*	11,0 ± 0,6	8,4 ± 0,9	5,6 ± 0,4	5,7 ± 0,6	5,7 ± 0,8	5,0 ± 0,6
CaO_2	*PFC*	14,3 ± 1,2	10,2 ± 1,1	10,2 ± 1,0	9,7 ± 1,1	9,2 ± 1,0	8,9 ± 0,6
[ml $O_2 \cdot dl^{-1}$]	*HAES*	14,6 ± 0,7	11,2 ± 1,1	9,3 ± 0,6	9,5 ± 0,8	9,7 ± 1,1	8,6 ± 0,8
DO_2I	*PFC*	457 ± 57	107 ± 16	462 ± 96	341 ± 45	268 ± 35	182 ± 40
[ml $O_2 \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$]	*HAES*	488 ± 64	107 ± 23	389 ± 77	319 ± 60	217 ± 42	131 ± 24
$DO_{2\ phys}$%	*PFC*	2,1 ± 0,2	2,8 ± 0,2	23,1 ± 2,0 #	24,2 ± 3,0 #	24,5 ± 3,4	24,8 ± 2,3
[%]	*HAES*	2,3 ± 0,2	3,1 ± 0,5	18,7 ± 1,6	20,5 ± 0,9	22,1 ± 1,6	23,2 ± 1,9
VO_2I	*PFC*	118,0 ± 7,5	87,5 ± 5,0	136,0 ± 17,4	122,7 ± 15,1 #	121,1 ± 10,0 #	109,4 ± 26,8
[ml $O_2 \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$]	*HAES*	118,9 ± 7,5	88,8 ± 10,3	110,2 ± 20,4	99,0 ± 12,3	82,4 ± 11,9	86,8 ± 13,3
$VO_{2\ phys}$%	*PFC*	4,3 ± 0,5 #	3,0 ± 0,3	77,4 ± 11,8	56,3 ± 11,3	44,8 ± 12,4	38,8 ± 4,6
[%]	*HAES*	5,1 ± 0,6	3,4 ± 0,8	63,6 ± 12,0	48,4 ± 4,6	41,9 ± 3,4	32,2 ± 5,3
PFC	*PFC*	0 ± 0	0 ± 0	2,2 ± 0,3	2,0 ± 0,3	2,1 ± 0,4	1,7 ± 0,3
[$g \cdot dl^{-1}$]	*HAES*	—	—	—	—	—	—

Tabelle 5 : **Parameter des Gasaustausches und der Sauerstoffversorgung** der beiden Versuchsgruppen zu den 6 Messzeitpunkten. Angabe von Median ± Semiinterquartilsabstand. **paO_2** = arterieller Sauerstoffpartialdruck. **Hb** = arterielle Hämoglobinkonzentration. **CaO_2**= arterieller Sauerstoffgehalt. **DO_2I** = systemischer Sauerstoffangebotsindex. **VO_2I** = systemischer Sauerstoffverbrauchsindex. **$DO_{2\ phys}$%** = prozentualer Anteil des Plasmas an der DO_2I . **$VO_{2\ phys}$ %** = prozentualer Anteil des Plasmas an der VO_2I. **PFC** = Perflubronkonzentration in Vollblut. #: signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen $p < 0,05$.

stoffgehalt (CaO_2) und das systemische Sauerstoffangebot (DO_2I), bei diesen Parametern bestand zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

Der systemische Sauerstoffverbrauch (VO_2I) war in der PFC-Gruppe zu den Zeitpunkten 30'pT (122,7 ±15,1 ml $O_2 \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$ vs 99±12,3 ml $O_2 \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$, $p<0,05$) und 60'pT (121,1±10 ml $O_2 \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$ vs 82,4±11,9 ml $O_2 \cdot min^{-1} \cdot m^{-2}$, $p<0,05$) signifikant erhöht.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Zugabe von Perflubron® eine signifikante Steigerung des paO_2 (pT) und der DO_2 phys% (pT und 30'pT) zur Folge hatte. Der systemische Sauerstoffverbrauch war 30' und 60'pT in de r PFC-Gruppe signifikant höher.

3.4 Myokardiale Perfusion

3.4.1 Regionaler Blutfluss

Die myokardialen und subendokardialen Blutflusswerte lagen zu Baseline in beiden Gruppen im Normbereich, es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (Tab. 6, Abb. 19a). Trotz des im Schock drastisch erniedrigten Herzzeitvolumens, konnte die myokardiale Perfusion durch eine maximale Koronardilatation, erkennbar am niedrigen koronarvaskulären Widerstand, aufrechterhalten werden, auch jetzt bestand kein Unterschied zwischen den Gruppen.

Nach Therapie führte die volumenbedingte Hämodilution zu einer ausgeprägten Steigerung

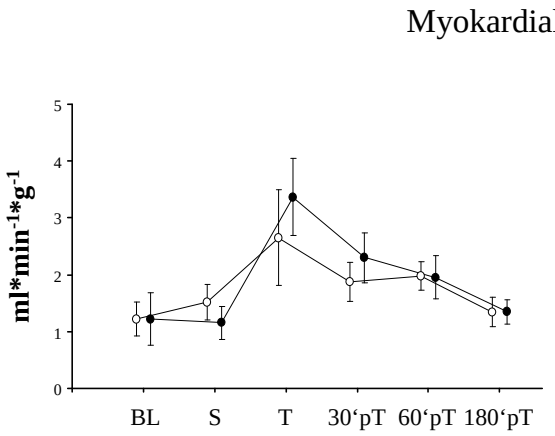


Abb. 19a: Median der myokardialen Blutflusswerte

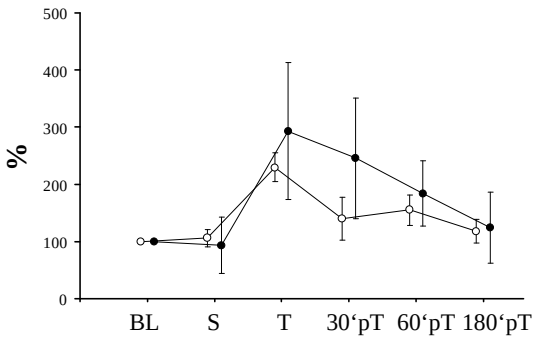


Abb. 19b: Myokardiale Blutflusswerte in Relation zur Baseline

der myokardialen Perfusion von 1,5 auf 2,7 ml/(g · min) für die PFC-Gruppe bzw. von 1,2 auf 3,4 ml/(g · min) für die HAES-Gruppe. 30'pT lag die myokardiale Perfusion in der PFC-Gruppe bei 1,9 ml/(g · min), in der HAES-Gruppe bei 2,3 ml/(g · min). Obwohl also die Blutflusswerte der PFC-Gruppe pT und 30'pT tendenziell niedriger ausfielen, erreichte dieser Unterschied zu keinem Zeitpunkt das Signifikanzniveau von 5%.

Um eine Aussage über den Grad der Ausschöpfung der Koronarresreve zu erhalten, wurden die Blutflusswerte der jeweiligen Messzeitpunkte zum Ausgangswert in Relation gesetzt (Abb. 19b). Die Steigerung fiel in der PFC-Gruppe mit 130% vs. 190% (pT), bzw. mit 40% vs. 150% (30'pT) deutlich geringer als in der Kontrollgruppe aus, jedoch waren auch diese Unterschiede statistisch nicht signifikant.

Übereinstimmende Ergebnisse ergaben sich für das Subendokard (Abb. 20a,b): Auch hier war die Perfusion in der PFC-Gruppe nach Therapie mit 2,9 ml/(g·min) gegenüber 3,7 (HAES), bzw. mit 1,9 gegenüber 2,3 ml/(g·min) zum Zeitpunkt 30'pT tendenziell niedriger.

Da der koronare Perfusionsdruck zu allen Messzeitpunken in beiden Gruppen gleich war, kann dies die tendenziell niedrigeren Blutflusswerte in der PFC-Gruppe nicht verursacht haben.

Subendokardialer Blutfluss

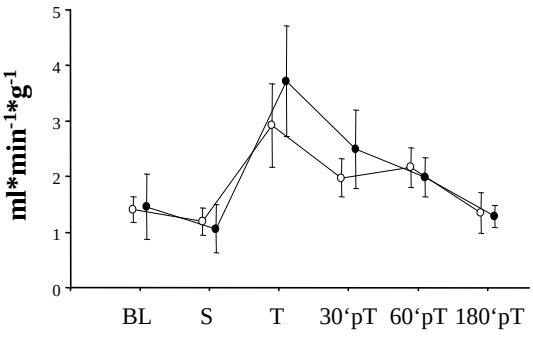


Abb. 20a: Median der subendokardialen Blutflusswerte

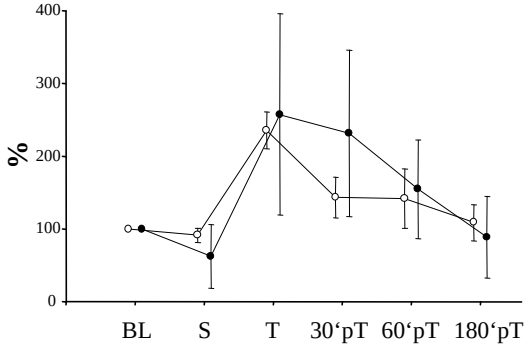


Abb. 20b: Subendokardiale Blutflusswerte in Relation zur Baseline

In den Abbildungen 21 a u. b ist die regionale Perfusion nochmals als Summenhistogramm dargestellt, hierfür wurden alle zu den jeweiligen Messzeitpunkten ermittelten Blutflusswerte in Klassen von 0,2 $ml \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ unterteilt und anschliessend die Häufigkeit der Werte jeder Klasse ermittelt. Jede Klasse ist im Histogramm durch einen Balken auf der x-Achse abgebildet, die Höhe des Balkens repräsentiert die Häufigkeit der gemessenen Werte innerhalb dieser Klasse. Der schwarze Balken kennzeichnet den Bereich, in dem der Median liegt, er ist als numerischer Wert über dem Histogramm hinterlegt (die hier angegebenen Mediane stimmen nicht mit den Werten aus Tab. 6 überein, da sie aus dem Gesamtkollektiv ermittelt wurden). Je breiter ein Histogramm ausfällt, desto heterogener war die Perfusion zu diesem Zeitpunkt. Zu den Zeitpunkten Baseline und Schock sehen die Histogramme einer Normalverteilung sehr ähnlich, was mit einer physiologischen Heterogenität der kardialen Perfusion vereinbar ist. Nach Therapie erscheinen die Histogramme abgeflacht und stark verbreitert, dies kennzeichnet eine Zunahme der Heterogenität, bedingt durch die Hämodilution. Durch die Steigerung der Perfusion sind sie ausserdem nach rechts verlagert, auch hier ist die tendenziell niedrigere Perfusion der PFC-Gruppe angedeutet. Im weiteren Versuchsablauf kommt es neben einer Verschiebung zu geringeren Werten (Abnahme der Perfusion) auch zu einer erneuten Zunahme der Glockenform, dies kennzeichnet die Redistribution der myokardialen Perfusion.

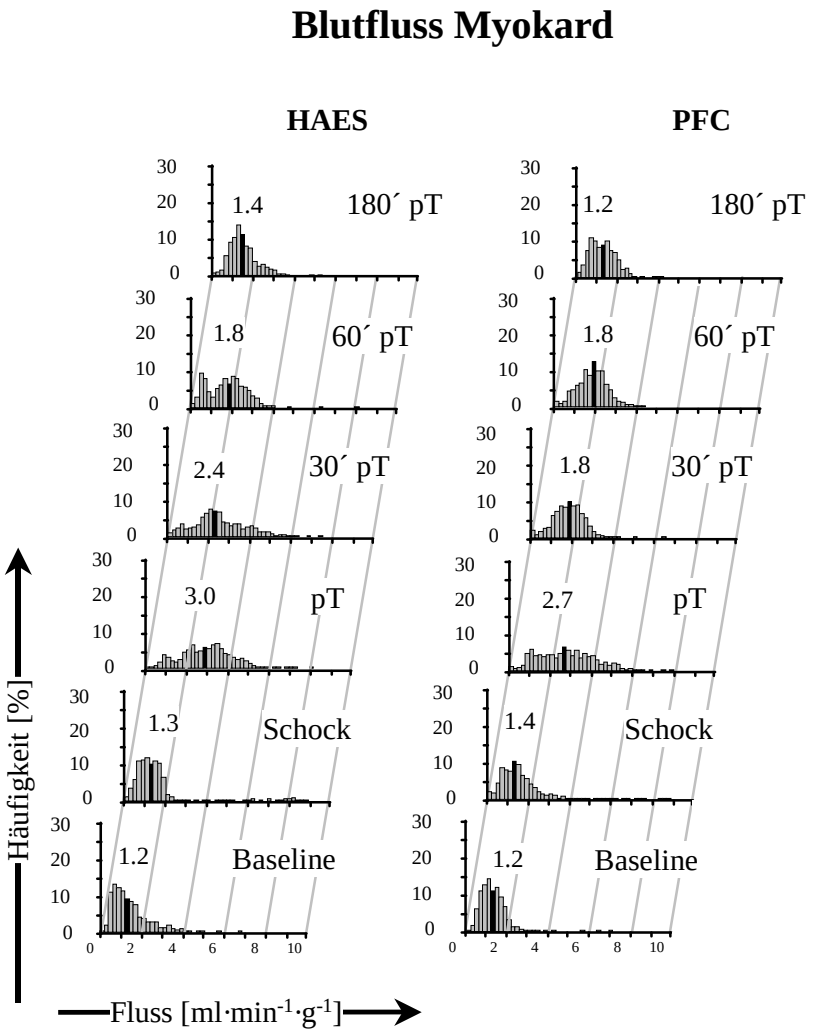


Abb. 21a: Summenhistogramme der myokardialen Blutflusswerte zu den jeweiligen Messzeitpunkten. Der schwarze Balken kenzeichnet den Median.

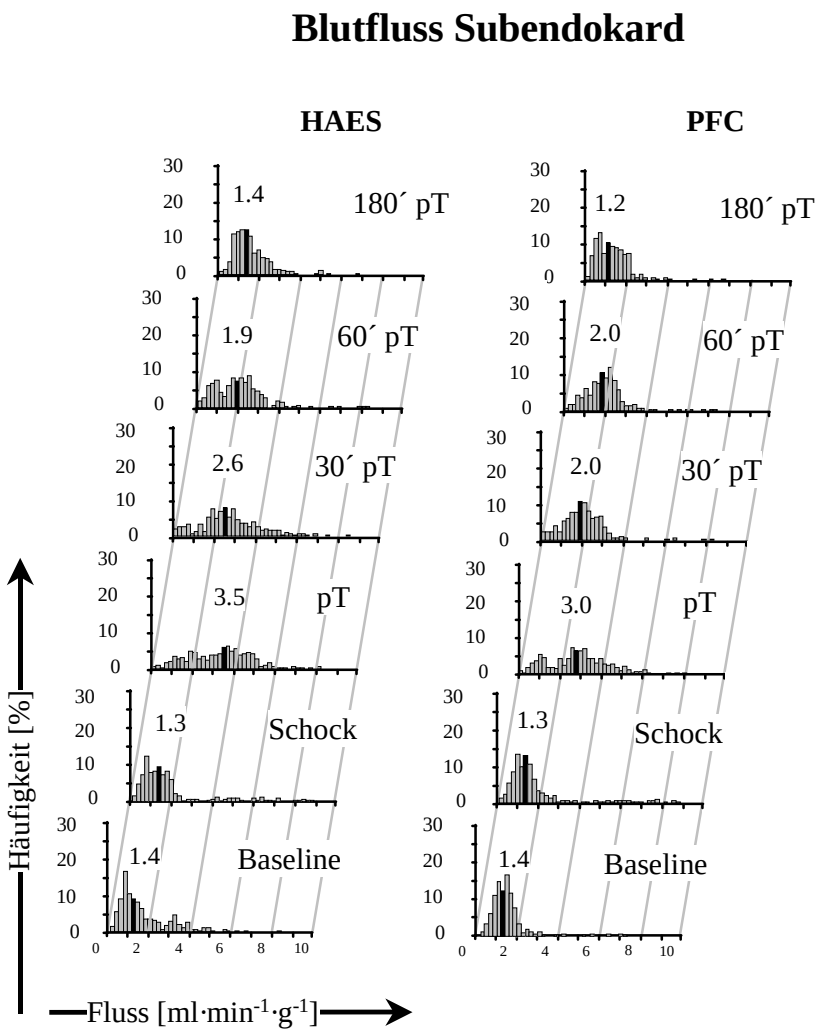


Abb. 21b: Summenhistogramme der subendokardialen Blutflusswerte zu den jeweiligen Messzeitpunkten. Der schwarze Balken kennzeichnet den Median.

Myokardiale Perfusion

		Baseline	Schock	post Therapie	30' post Therapie	60' post Therapie	180'post Therapie
CPP	*PFC*	69 ± 1,8	29 ± 3,5	54 ± 13,8	53 ± 12,5	45 ± 7,0	32 ± 3,5
[mmHg]	*HAES*	63 ± 6,8	29 ± 1,8	54 ± 9,0	54 ± 3,0	51 ± 8,0	35 ± 1,9
$Flow_{myoc}$	*PFC*	1,2 ± 0,3	1,5 ± 0,3	2,7 ± 0,8	1,9 ± 0,3	2,0 ± 0,3	1,3 ± 0,3
[$ml \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$]	*HAES*	1,2 ± 0,5	1,2 ± 0,3	3,4 ± 0,7	2,3 ± 0,4	2,0 ± 0,4	1,3 ± 0,2
$Flow_{myoc}$%	*PFC*	100 ± 0	106 ± 15	230 ± 25	140 ± 37	155 ± 26	118 ± 21
[%]	*HAES*	100 ± 0	94 ± 49	293 ± 120	246 ± 106	184 ± 57	125 ± 62
$Flow_{endo}$	*PFC*	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,2	2,9 ± 0,7	2,0 ± 0,3	2,2 ± 0,4	1,3 ± 0,4
[$ml \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$]	*HAES*	1,5 ± 0,6	1,1 ± 0,4	3,7 ± 1,0	2,5 ± 0,7	2,0 ± 0,4	1,3 ± 0,2
$Flow_{endo}$%	*PFC*	100 ± 0	92 ± 9	236 ± 26	144 ± 28	142 ± 41	109 ± 25
[%]	*HAES*	100 ± 0	62 ± 44	258 ± 139	232 ± 114	155 ± 68	89 ± 56
EER	*PFC*	1,14 ± 0,11	0,73 ± 0,08	1,06 ± 0,04	1,03 ± 0,12	1,10 ± 0,10	0,81 ± 0,12
	HAES	1,25 ± 0,10	0,88 ± 0,13	1,10 ± 0,16	1,05 ± 0,12	1,09 ± 0,13	0,81 ± 0,06
CVRI	*PFC*	4,8 ± 1,0	1,6 ± 0,3	1,7 ± 0,5	2,4 ± 0,7	2,0 ± 0,3	2,3 ± 0,4
[$g \cdot dyn \cdot s^{-1} \cdot cm^{-3}$)]	*HAES*	4,4 ± 1,8	1,9 ± 0,5	1,5 ± 0,3	2,2 ± 0,3	2,5 ± 0,5	2,2 ± 0,3

Tabelle 6 : **Parameter der Koronarperfusion** der beiden Versuchsgruppen zu den 6 Messzeitpunkten. Angabe von Median **±** Semiinterquartilsabstand. **CPP** = koronarer Perfusionsdruck. **$Flow_{myoc}$** = Median aller Flusswerte im linksventrikulären Myokard. **$Flow_{myoc}$**% = Steigerung des myokardialen Flusses im Vergleich zur Baseline. **$Flow_{endo}$** = Median aller Flusswerte im linksventrikulären Subendokard. **$Flow_{endo}$**% = Steigerung des subendokardialen Flusses im Vergleich zur Baseline. **EER** = Endo-Epi-Ratio. **CVRI** = koronarvaskulärer Widerstandsindex. # = signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen $p<0,05$.

3.4.2 Endo-Epi-Ratio

Im Schock sank die Endo-Epi-Ratio in der PFC-Gruppe von 1,14±0,11 auf 0,73±0,08 und in der Kontrollgruppe von 1,25±0,1 auf 0,88±0,13. Sie lag somit in beiden Gruppen deutlich unter 1, ein Hinweis auf das Vorliegen einer Innenschichtischämie. Nach Therapie errreichte die EER wieder Werte über 1 (1,06±0,04 in der PFC-Gruppe und 1,1±0,16 in der Kontrollgruppe) und fiel erst zum letzten Messzeitpunkt 180' pT wieder unter den kritischen Wert: 0,81±0,12 (PFC) und 0,81±0,06 (HAES). Zu keinem Messzeitpunkt war ein Unterschied zwischen den Gruppen nachweisbar.

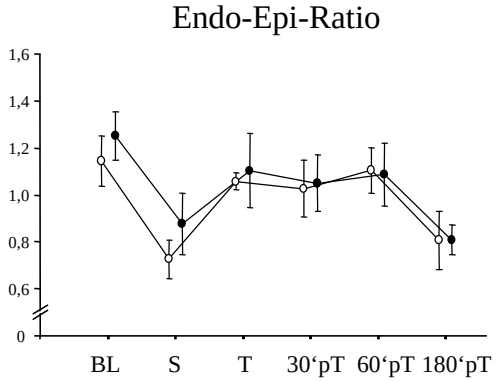


Abb. 22:
Endo-Epi-Ratio

3.4.3 Zusammenfassung Myokardiale Perfusion

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Zusatz von Perflubron® keinen signifikanten Einfluss auf den myokardialen Blutfluss hatte. Die tendenziell geringeren Perfusionswerte in der Verumgruppe sind aber möglicherweise auf eine geringere Ausschöpfung der Koronarreserve zurückzuführen. Die Distribution zwischen Subendo- und Subepikard blieb ebenfalls unbeinflusst.

3.5 Myokardoxygenierung

3.5.1 Myokardiale DO_2 und VO_2

Obwohl der myokardiale Blutfluss im Schock weitgehend aufrechterhalten werden konnte, betrug die myokardiale DO_2 88% (PFC) bzw. 72% (HAES) des Baseline-Wertes. Da im Schock die subendokardiale Perfusion stärker beeinträchtigt war, fiel die Einschränkung der subendokardialen DO_2 mit 63% (PFC) bzw. 60% (HAES) der Ausgangswerte entsprechend drastischer aus. Nach Therapie betrug die myokardiale DO_2 158% (PFC) bzw. 150% (HAES) der Ausgangswerte, im Subendokard lagen mit 152% (PFC) respektive 145% (HAES) vergleichbare Werte vor. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen konnten zu keinem

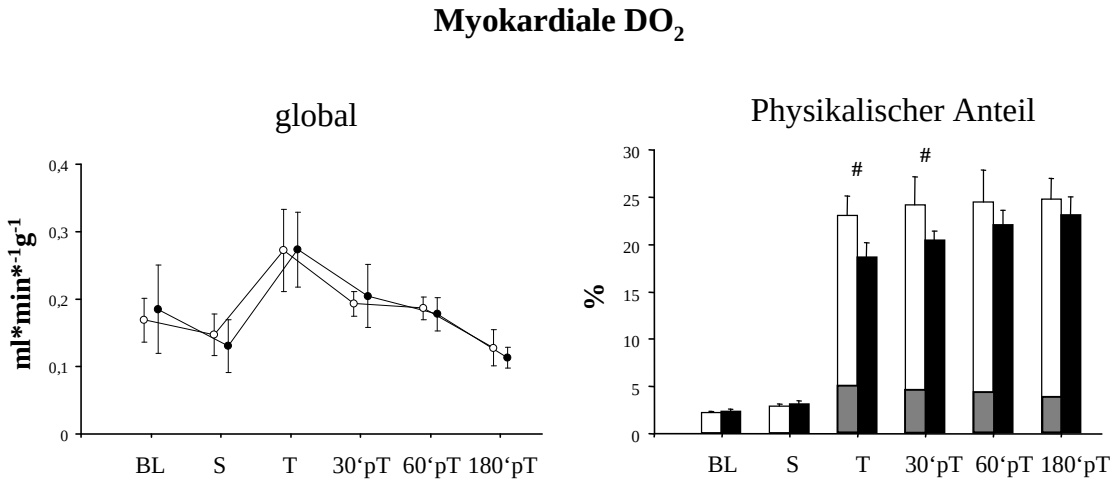


Abb. 23: Myokardiale DO_2 (links) und physikalischer Anteil (rechts). Der graue Anteil in der weissen PFC-Säule stellt den durch PFC angebotenen Sauerstoff dar. #=sign. Unterschied, $p<0,05$

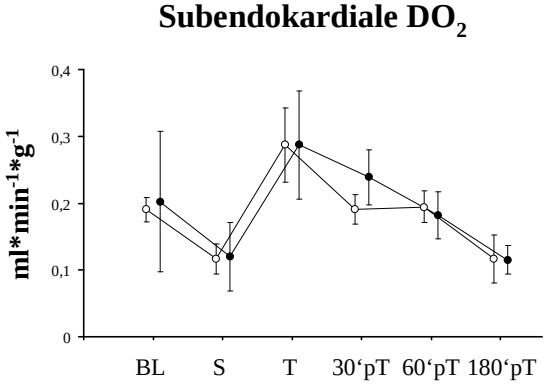


Abb. 24:
Subendokardiale DO_2. Der physikalische Anteil entspricht dem der myokardialen DO_2 (Abb.23 rechts).

Messzeitpunkt ermittelt werden, die zusätzliche Gabe von PFC konnte keine weitere Erhöhung des myokardialen oder subendokardialen Sauerstoffangebots bewirken. Der Anteil des physikalisch angebotenen Sauerstoffs stieg von 3% im Schock auf 23% (PFC) bzw.19% (HAES) nach Therapie und 24% (PFC) bzw. 20% (HAES) 30' pT und war zu diesen beiden Messzeitpunkten in der PFC-Gruppe signifikant höher, dies ist bedingt durch den signifikant erhöhten Anteil des physikalischen Sauerstoffgehalts (siehe 3.3). Der durch PFC angebotene Sauerstoff war an der myokardialen DO_2 mit mehr als 4% beteiligt (Abb.23, Tab.7).

Die myokardiale Sauerstoffaufnahme (mVO_2) zeigte über den gesamten Messzeitraum kaum Veränderungen. Das im Schock eingeschränkte Angebot konnte durch eine maximale Steigerung der Extraktionsrate kompensiert werden (Tab. 8). Nach Therapie war ein zwar nur geringer, aber konstanter Abfall der mVO_2 zu verzeichnen. Der Anteil der myokardialen VO_2, der durch physikalisch gelösten Sauerstoff bereitgestellt wurde, stieg nach Therapie von 3 auf 42% (PFC) bzw. 41% (HAES) und war im weiteren Verlauf in der PFC-Gruppe zwar immer tendenziell, jedoch nie signifikant höher. Der PFC-Anteil der mVO_2 war nach Therapie mit 7% größer als der Anteil an der mDO_2, dies verdeutlicht, dass der durch PFC angebotene Sauerstoff bevorzugt extrahiert werden konnte.

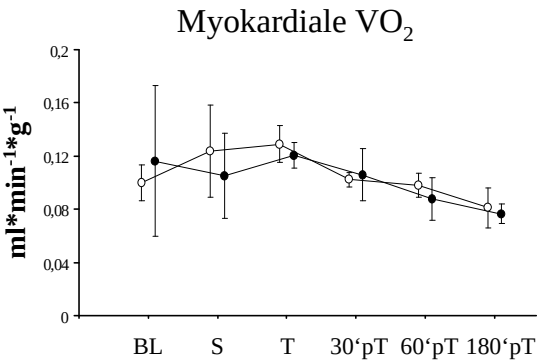


Abb. 25: Myokardiale VO_2

3.5.2 ST-Strecken-Analyse

Die elektrokardiographischen Daten sind weitestgehend mit den metabolischen Ergebnissen in Einklang zu bringen. Ausgehend von einer isoelektrischen ST-Strecke zu Baseline war im Schock in beiden Gruppen eine Subendokardischämie zu beobachten, die sich bis zum letzten Messzeitpunkt 180' pT nur partiell zurückbildete. Zu keinem Zeitpunkt konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen nachgewiesen werden.

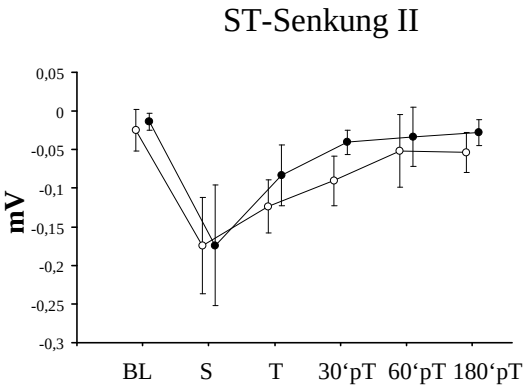


Abb. 26: ST-Senkung in Ableitung II

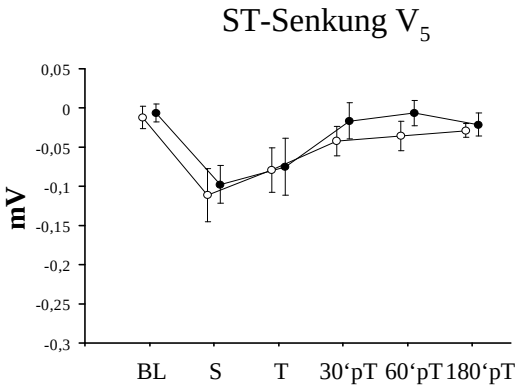


Abb. 27: ST-Senkung in Ableitung V_5

3.5.3 Interstitielles Lactat

Die interstitielle myokardiale Lactatkonzentration betrug im Schock 1,64±0,55 in der PFC-Gruppe und 1,75±0,3 in der HAES-Gruppe, dies entspricht 1093% (PFC) bzw. 514% (HAES) des Baselinewertes. Der durch die Ausbildung der Myokardischämie bedingte Anfall an Lactat überstieg das Metabolisierungspotential des Herzens, die Lactatextraktionsrate betrug im Schock nur 20,2% (PFC) bzw. 17,8% (HAES) des Baselinewertes. In der ersten Stunde nach Therapie fiel die Spitzenkonzentration (Schock) in der PFC-Gruppe um 52% ab, in der HAES-Gruppe betrug der Abfall lediglich 25% des Maximalwertes. Obwohl der Konzentrationsabfall in der PFC-Gruppe früher einsetzte und die Werte bis zum Messzeitpunkt 60'pT tendenziell unter denen der Kontrollgruppe lagen, war dieser Unterschied statistisch zu kei-

nem Zeitpunkt signifikant. In keiner der Gruppen wurden bis zum Versuchsende die Baseline-Werte wieder erreicht. Mitverantwortlich hierfür dürfte gewesen sein, dass nach Therapie die Lactatextraktion trotz eines ausreichendes Sauerstoffangebots nicht ausreichend gesteigert werden konnte. Zwar war sie zum Zeitpunkt 30'pT in der PFC -Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe (20,3±8,7% vs. 10,3±9,9%, $p<0,05$), lag damit aber immer noch deutlich unter den Ausgangsbedingungen.

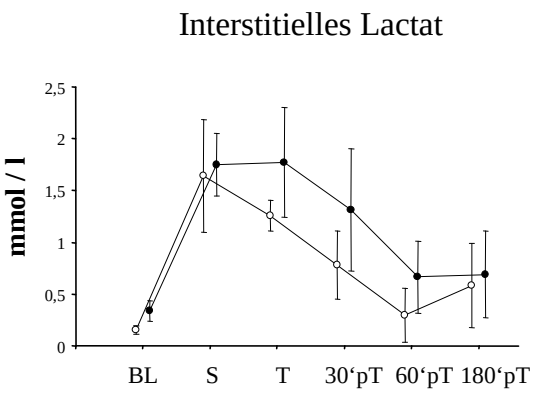


Abb. 28: Myokardiale interstitielle Lactatkonzentration

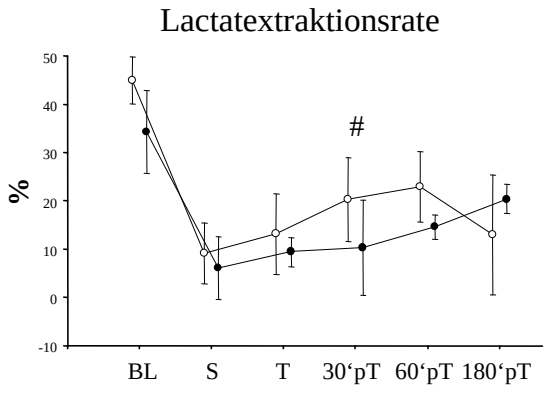


Abb. 29: Myokardiale Lactatextraktionsrate. #=sign. Unterschied, $p<0,05$

3.5.4 Zusammenfassung Myokardoxygenierung

Die Zugabe von Perflubron® hatte einen signifikanten Anstieg des physikalischen Sauerstoffangebots an das Myokard zur Folge. Obwohl der durch Perflubron® zusätzlich angebotene Sauerstoff bevorzugt extrahiert wurde, hatte dies keinen wesentlichen Einfluss auf die Rückbildung der Myokardischämie im Vergleich zur Kontrollgruppe, ausgenommen die erhöhte myokardiale Lactatextraktion zum Zeitpunkt 30'pT.

Myokardoxygenierung I

		Baseline	Schock	post Therapie	30' post Therapie	60' post Therapie	180'post Therapie
mDO_2	*PFC*	0,17 ± 0,03	0,15 ± 0,03	0,27 ± 0,06	0,19 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,13 ± 0,03
[ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$]	*HAES*	0,18 ± 0,07	0,13 ± 0,04	0,27 ± 0,06	0,20 ± 0,05	0,18 ± 0,02	0,11 ± 0,02
$mDO_{2\ Hb}$%	*PFC*	97,9 ± 0,2	97,2 ± 0,2	76,9 ± 2,0	75,8 ± 3,0	75,5 ± 3,4	75,2 ± 2,3
[%]	*HAES*	97,8 ± 0,2	97,0 ± 0,3	81,3 ± 1,6	79,5 ± 0,9	77,9 ± 1,6	76,8 ± 1,9
$mDO_{2\ PFC}$%	*PFC*	0 ± 0	0 ± 0	4,9 ± 1,0 #	4,5 ± 1,0 #	4,2 ± 0,8 #	3,7 ± 0,6 #
[%]	*HAES*	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
$mDO_{2\ phys}$%	*PFC*	2,1 ± 0,2	2,8 ± 0,2	23,1 ± 2,0 #	24,2 ± 3,0 #	24,5 ± 3,4	24,8 ± 2,3
[%]	*HAES*	2,2 ± 0,2	3,0 ± 0,3	18,7 ± 1,6	20,5 ± 0,9	22,1 ± 1,6	23,2 ± 1,9
eDO_2	*PFC*	0,19 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,29 ± 0,06	0,19 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,12 ± 0,04
[ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$]	*HAES*	0,20 ± 0,11	0,12 ± 0,05	0,29 ± 0,08	0,24 ± 0,04	0,18 ± 0,04	0,12 ± 0,02
mVO_2	*PFC*	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,03	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,02
[ml $O_2 \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$]	*HAES*	0,12 ± 0,06	0,11 ± 0,03	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,01
$mVO_{2\ Hb}$%	*PFC*	97,8 ± 0,3	97,3 ± 0,2	57,4 ± 7,1	61,1 ± 6,2	63,2 ± 5,2	66,8 ± 4,4
[%]	*HAES*	97,2 ± 0,2	97,1 ± 0,3	59,4 ± 8,3	61,6 ± 5,5	64,8 ± 4,3	69,6 ± 2,8
$mVO_{2\ PFC}$%	*PFC*	0 ± 0	0 ± 0	7,5 ± 1,1 #	6,7 ± 1,4 #	5,7 ± 1,2 #	4,7 ± 0,9 #
[%]	*HAES*	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
$mVO_{2\ phys}$%	*PFC*	2,2 ± 0,3	2,7 ± 0,2	42,6 ± 7,1	38,9 ± 6,2	36,8 ± 5,2	33,2 ± 4,4
[%]	*HAES*	2,8 ± 0,2	2,9 ± 0,3	40,6 ± 8,3	38,4 ± 5,5	35,2 ± 4,3	30,4 ± 2,8

Tabelle 7 : **Parameter der Myokardoxygenierung** der beiden Versuchsgruppen zu den 6 Messzeitpunkten. Angabe von Median ± Semiinterquartilsabstand. **mDO_2** = myokardiale DO_2. **$mDO_{2\ Hb}$%** = relativer Anteil des Hämoglobins an der myokardialen DO_2. **$mDO_{2\ PFC}$%** = relativer Anteil des Perflubrons an der myokardialen DO_2. **$mDO_{2\ phys}$%** = relativer Anteil des Plasmas an der myokardialen DO_2. **eDO_2** = subendokardiale DO_2. **mVO_2** = myokardiale VO_2. **$mVO_{2\ Hb}$%** = relativer Anteil des Hämoglobins an der myokardialen VO_2. **$mVO_{2\ PFC}$%** = relativer Anteil des Perflubrons an der myokardialen VO_2. **$mVO_{2\ phys}$%** = relativer Anteil des Plasmas an der myokardialen VO_2. # : signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen $p < 0,05$.

Myokardoxygenierung II

		Baseline	Schock	post Therapie	30' post Therapie	60' post Therapie	180'post Therapie
mO_2ER	*PFC*	63 ± 2,3	81 ± 4,5	50 ± 5,5	52 ± 7,7	64 ± 7,8	68 ± 6,8
[%]	*HAES*	62 ± 4,5	82 ± 3,9	40 ± 7,5	51 ± 9,1	55 ± 6,9	70 ± 2,3
mO_2ER_{Hb}	*PFC*	63 ± 2	81 ± 5	37 ± 8	39 ± 11	53 ± 11	59 ± 8
[%]	*HAES*	61 ± 5	82 ± 4	29 ± 10	39 ± 11	46 ± 9	62 ± 3
mO_2ER_{PFC}	*PFC*	0 ± 0	0 ± 0	92 ± 1	93 ± 1	94 ± 1	94 ± 1
[%]	*HAES*	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
mO_2ER_{phys}	*PFC*	75 ± 3	79 ± 2	92 ± 1	93 ± 1	94 ± 1	94 ± 1
[%]	*HAES*	76 ± 3	79 ± 1	91 ± 1	93 ± 1	93 ± 1	95 ± 0
$cvpO_2$	*PFC*	27 ± 1,0	21 ± 2,4	49 ± 7,1	44 ± 8,4	35 ± 3,5	34 ± 6,7
[mmHg]	*HAES*	24 ± 2,0	24 ± 3,0	56 ± 7,1	41 ± 7,1	42 ± 5,2	30 ± 1,9
Lact-ER	*PFC*	45,0 ± 4,9	9,1 ± 6,3	13,1 ± 8,4	20,3 ± 8,7 #	22,9 ± 7,3	13,0 ± 12,4
[mmol · l^{-1}]	*HAES*	34,3 ± 8,6	6,1 ± 6,5	9,4 ± 3,0	10,3 ± 9,9	14,6 ± 2,6	20,4 ± 3,0
Lactat interst.	*PFC*	0,15 ± 0,04	1,64 ± 0,55	1,26 ± 0,15	0,78 ± 0,33	0,30 ± 0,26	0,58 ± 0,41
[mmol · l^{-1}]	*HAES*	0,34 ± 0,10	1,75 ± 0,30	1,77 ± 0,53	1,32 ± 0,59	0,67 ± 0,35	0,69 ± 0,42
ST II	*PFC*	-0,02 ± 0,03	-0,17 ± 0,06	-0,12 ± 0,03	-0,09 ± 0,03	-0,05 ± 0,05	-0,05 ± 0,03
[mV]	*HAES*	-0,01 ± 0,01	-0,17 ± 0,08	-0,08 ± 0,04	-0,04 ± 0,02	-0,03 ± 0,04	-0,03 ± 0,02
ST V_5	*PFC*	-0,01 ± 0,01	-0,11 ± 0,03	-0,08 ± 0,03	-0,04 ± 0,02	-0,04 ± 0,02	-0,03 ± 0,01
[mV]	*HAES*	-0,01 ± 0,01	-0,10 ± 0,02	-0,08 ± 0,04	-0,02 ± 0,02	-0,01 ± 0,02	-0,02 ± 0,01

Tabelle 8 : **Parameter der Myokardoxygenierung** der beiden Versuchsgruppen zu den 6 Messzeitpunkten. Angabe von Median ± Semiinterquartilsabstand. **mO_2ER** = myokardiale O_2-Extraktionsrate. **mO_2ER_{Hb}** = myokardiale Hämoglobin-Extraktionsrate. **mO_2ER_{PFC}** = myokardiale PFC-Extraktionsrate. **mO_2ER_{phys}** = myokardiale Plasma-Extraktionsrate. **$cvpO_2$ =** koronarvenöser Sauerstoffpartialdruck. **Lact-ER** = myokardiale Lactatextraktionsrate. **Lactat interst.** = interstitielles myokardiales Lactat. **ST II** = ST-Streckenveränderung in Ableitung II. **ST V_5** = ST-Streckenveränderung in Ableitung V_5. # : signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen $p < 0,05$.

3.6 Myokardfunktion

3.6.1 Systolische Herzfunktion

Der linksventrikuläre Schlagarbeitsindex lag zu Baseline in beiden Gruppen im Normbereich. Im Schock betrug der LVSWI nur 8% (PFC) bzw. 9% (HAES) des Ausgangswertes. Nach Therapie konnte die Kontrollgruppe ihr Ausgangsniveau übertreffen (119%), die PFC-Gruppe erreichte ihres nicht (75%). Zu den folgenden Messzeitpunkten betrug der LVSWI in der PFC-Gruppe aufgrund zunehmenden Volumenmangels durch transkapilläre Verluste und das Fortbestehen einer Restischämie nur noch 71% (30'pT), 53% (60'pT) und 27% (180'pT) des Baseline-Wertes. Die entsprechenden Werte der HAES-Gruppe lagen bei 82% (30'pT), 57% (60'pT) und 24% (180'pT). Es bestand kein signif ikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Zum Zeitpunkt Baseline war die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit in der Kontrollgruppe signifikant höher. Zu den Zeitpunkten Schock, Therapie, 30'pT und 60'pT war kein signifikanter Unterschied messbar. Zum Zeitpunkt 180'pT lag die PFC -Gruppe bei 78%, die HAES-Gruppe bei 80% ihres Ausgangswertes, dieser Unterschied war allerdings wiederum signifikant ($p<0,05$).

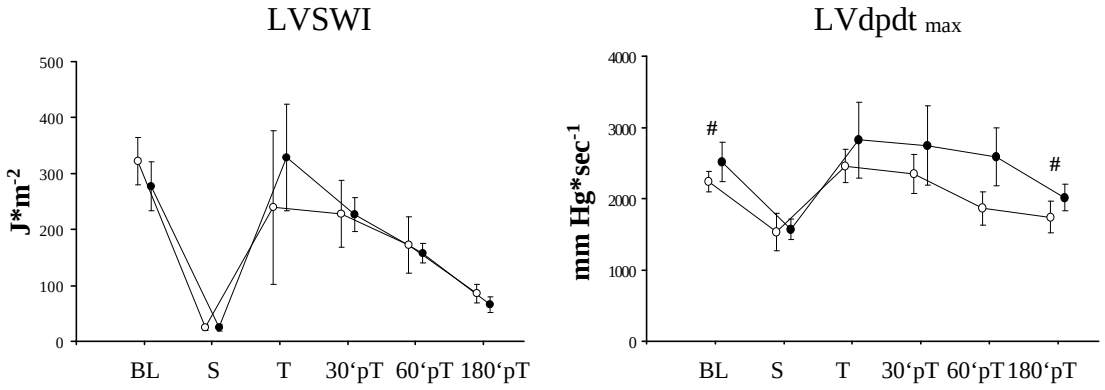


Abb. 30: Linksventrikulärer Schlagarbeitsindex und maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit. #= signifikanter Unterschied, $p<0,05$.

3.6.2 Diastolische Herzfunktion

Die diastolische Herzfunktion ist im Hinblick auf die Detektion einer Myokardischämie sensitiver als die systolische Funktion. Im Schock betrug $LVdpdt_{min}$ nur 42% (PFC) bzw. 47% (HAES) des Ausgangswertes.

Trotz der im Schock vorliegenden Myokardischämie war Tau zu diesem Zeitpunkt in beiden Gruppen nicht verlängert, sondern lag sogar leicht unter dem Ausgangswert. Dies ist v.a. auf die Wirkung endogener Katecholamine und die hohe Herzfrequenz zurückzuführen (siehe Diskussion). Im weiteren Versuchsverlauf lag τ stets unter dem Baselinewert.

Weder bei der maximalen Druckabfallsgeschwindigkeit $LVdpdt_{min}$, noch bei der Relaxationskonstante τ ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen.

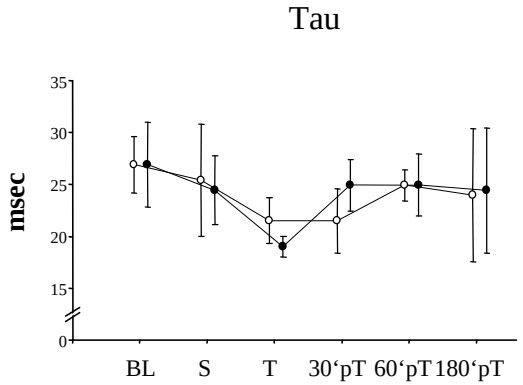


Abb. 31: Diastolische Relaxationskonstante τ

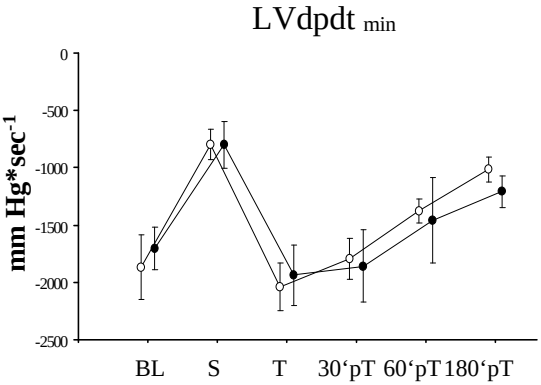


Abb. 32: Maximale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit

3.6.2 Zusammenfassung Myokardfunktion

Die zusätzliche Gabe von PFC konnte keine Verbesserung der systolischen oder diastolischen Herzfunktion bewirken. In Anbetracht der Tatsache, dass Perflubron® die Oxygenierung des Herzens nur geringfügig verbessern konnte, die Rückbildung der Myokardischämie nicht beschleunigte und nach Therapie in beiden Gruppen vergleichbare hämodynamische Vorraus-

setzungen vorherrschten, ist es nicht verwunderlich, dass die Parameter der systolischen und diastolischen Herzfunktion keinerlei Unterschiede zugunsten der PFC-Gruppe aufwiesen.

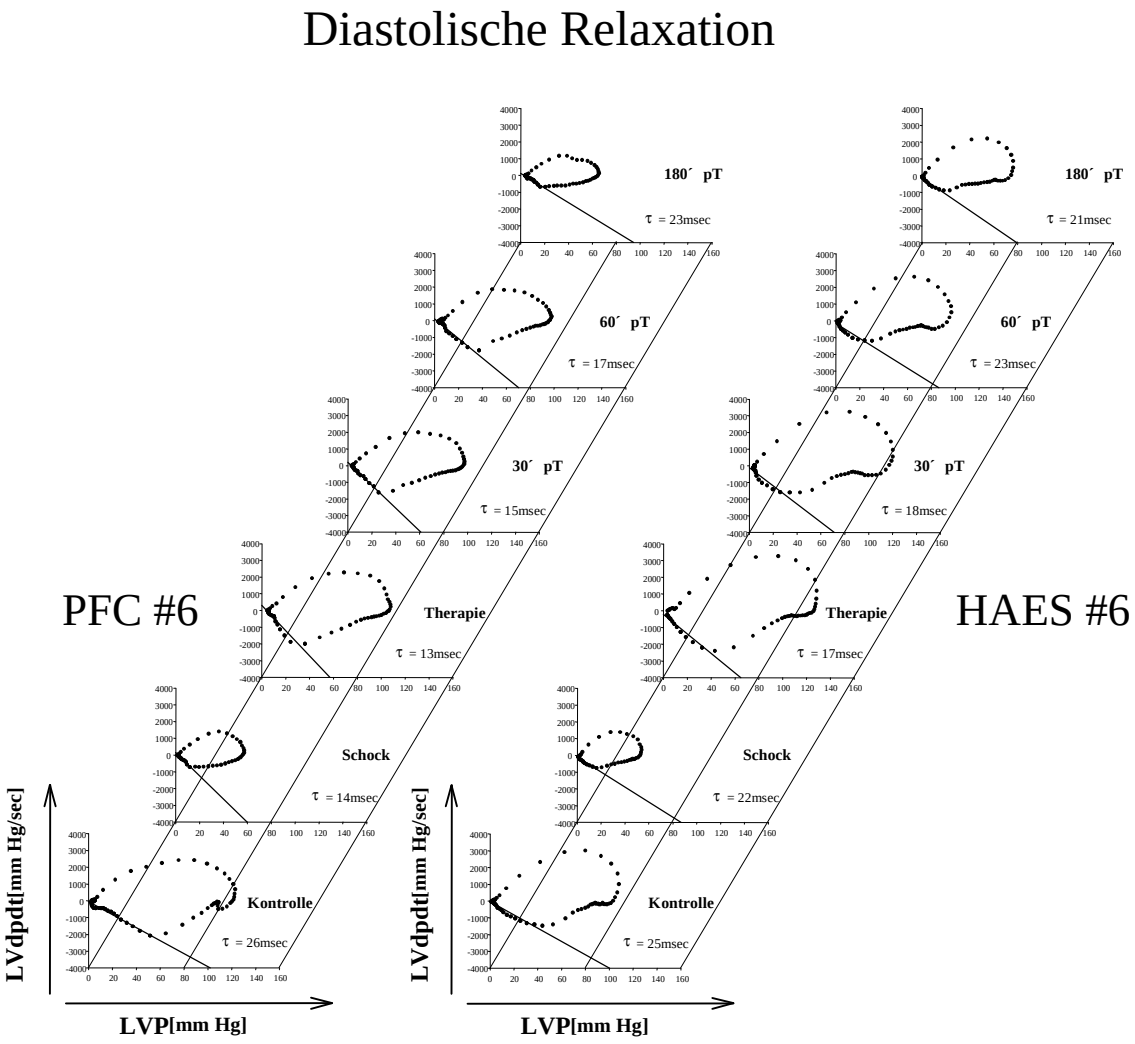


Abb. 33: Die diastolische Relaxationskonstante τ zu den 6 Messzeitpunkten in 2 ausgewählten Experimenten, links ein Tier der PFC-Gruppe, rechts ein Kontrolltier.

Myokardfunktion

		Baseline	Schock	post Therapie	30' post Therapie	60' post Therapie	180'post Therapie
LVP	*PFC*	114 ± 7,1	68 ± 5,3	113 ± 11,4	109 ± 7,1	98 ± 11,0	83 ± 3,0
[mmHg]	*HAES*	112 ± 6,8	66 ± 6,1	122 ± 13,6	121 ± 13,0	103 ± 11,5	86 ± 8,9
$LVdPdt_{max}$	*PFC*	2243 ± 141 #	1532 ± 267	2460 ± 230	2347 ± 271	1863 ± 231	1740 ± 219 #
[$mmHg \cdot s^{-1}$]	*HAES*	2511 ± 277	1567 ± 142	2822 ± 535	2746 ± 553	2591 ± 407	2015 ± 186
LVSWI	*PFC*	322 ± 42	25 ± 5	240 ± 137	228 ± 59	172 ± 50	86 ± 16
[$J \cdot m^{-2}$]	*HAES*	277 ± 44	25 ± 6	329 ± 95	227 ± 30	158 ± 17	66 ± 13,7
SI	*PFC*	24,8 ± 4,9	4,7 ± 0,7	24,1 ± 8,6	20,4 ± 4,5	18,3 ± 3,9	12,0 ± 1,4
[$ml \cdot m^{-2}$]	*HAES*	21,7 ± 1,9	4,3 ± 1,1	27,0 ± 7,2	20,6 ± 5,3	14,5 ± 2,7	8,5 ± 1,6
LVedP	*PFC*	7,0 ± 1,0	2,0 ± 1,4	8,5 ± 1,8	6,5 ± 2,0	6,0 ± 1,0	6,0 ± 1,5
[mmHg]	*HAES*	6,0 ± 0,9	3,0 ± 1,3	12,0 ± 1,8	6,0 ± 2,0	7,0 ± 1,5	4,5 ± 0,6
$LVdPdt_{min}$	*PFC*	-1865 ± 282	-794 ± 135	-2040 ± 210	-1790 ± 178	-1375 ± 105	-1014 ± 109
[$mmHg \cdot s^{-1}$]	*HAES*	-1704 ± 186	-797 ± 205	-1935 ± 264	-1858 ± 316	-1456 ± 371	-1208 ± 137
Tau	*PFC*	27,0 ± 2,8	25,5 ± 5,5	21,5 ± 2,3	21,5 ± 3,1	25,0 ± 1,5	24,0 ± 6,5
[ms]	*HAES*	27,0 ± 4,1	24,5 ± 3,4	19,0 ± 1,0	25,0 ± 2,5	25,0 ± 3,0	24,5 ± 6,1

Tabelle 9: **Parameter der Myokardfunktion** der beiden Versuchsgruppen zu den 6 Messzeitpunkten. Angabe von Median **±** Semiinterquartilsabstand. **LVP** = Linksventrikulärer Spitzendruck. **$LVdPdt_{max}$** = maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit. **LVSWI** = linksventrikulärer Schlagarbeitsindex. **SI** = Schlagvolumenindex. LVedP = Linksventrikulärer enddiastolischer Druck. **$LVdPdt_{min}$** = maximale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit. **Tau** = Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation. # : signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen $p < 0,05$.

4. Diskussion

4.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

1. Der hämorrhagische Schock wurde bis zu einer kumulativen Sauerstoffschuld von 120 ml/kg aufrechterhalten und führte zu den erwarteten Veränderungen der Hämodynamik sowie zur Einschränkung des globalen Sauerstofftransports und der Gewebeoxygenierung. Durch die inadäquate Myokardoxygenierung entwickelte sich eine v.a. subendokardial lokalisierte Ischämie, die systolische und diastolische Funktion waren eingeschränkt. Durch die Therapie, bestehend aus hyperoxischer Beatmung und Volumenrestitution mit HAES 6% plus 4,5 ml/kg Perflubron® 60% (PFC-Gruppe) bzw. NaCl 0,9% (HAES-Gruppe), konnten das Blutvolumen und die Makrohämodynamik wiederhergestellt werden.

2. Die myokardiale und subendokardiale Perfusion waren in der ersten Stunde nach Therapie in der PFC-Gruppe tendenziell niedriger, ohne statistisch signifikant zu sein. Dieser Unterschied war nicht durch den koronaren Perfusionsdruck verursacht, der in beiden Gruppen jederzeit gleich war. Die Ausschöpfung der Koronarreserve fiel in der ersten Stunde nach Therapie sowohl im Myokard als auch im Subendokard in der PFC-Gruppe tendenziell geringer aus, jedoch war auch dieser Unterschied statistisch nicht signifikant.

3. Die Myokardoxygenierung konnte in beiden Gruppen durch Volumentherapie und hyperoxische Beatmung sichergestellt und durch supplementives Perflubron® nicht zusätzlich verbessert werden. Die myokardiale DO_2 und VO_2 waren zu jedem Messzeitpunkt in beiden Gruppen gleichgroß. Allerdings war der Plasmaanteil der DO_2 in der ersten Stunde nach Therapie in der PFC-Gruppe signifikant höher, bedingt durch den signifikant gesteigerten Plasmasauerstoffgehalt. Weder die myokardiale O_2-Extraktionsrate, noch der koronarvenöse pO_2 zeigten signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Obwohl 30’pT

die myokardiale Lactatextraktionsrate der PFC-Gruppe signifikant höher war, resultierte daraus kein Unterschied in der interstitiellen Lactatkonzentration.

Die Rückbildung der Myokardischämie, reflektiert durch ST-Streckenveränderungen und die Endo-Epi-Ratio, wurde durch Perflubron® nicht beschleunigt.

4. Weder die systolische (LVSWI, $LVdpdt_{max}$) noch die diastolische ($LVdpdt_{min}$, Tau) Herzfunktion waren in der PFC-Gruppe besser als in der HAES-Gruppe.

5. Da die Autoregulation des Herzens die Perfusion an den aktuellen Bedarf anpasst, könnte die tendenziell niedrigere Myokardperfusion in der ersten Stunde nach Therapie möglicherweise durch eine PFC-vermittelte Verbesserung der O_2-Utilisation begründet sein. Es wird die Hypothese aufgestellt, dass der durch Perflubron® zusätzlich angebotene Sauerstoff eine geringere Ausschöpfung der Koronarreserve ermöglicht. Dies gilt es in Studien mit höherer Perflubron®-Dosierung und einem Modell mit einer Koronarstenose zu verifizieren.

4.2 Diskussion des experimentellen Modells

4.2.1 Wahl der Spezies

Für die vorliegende Untersuchung wählten wir ein Großtiermodell, da ein Hauptteil der von uns erhobenen Parameter von der Makrohämodynamik abhängig waren. Die häufig für Großtiermodelle gewählten Spezies Schwein und Schaf schieden für unsere Studie aus, da sie, wie alle Paarhufer über eine Vielzahl von intravasalen pulmonale Makrophagen (PIM) verfügen, die nach PFC-Applikation die Emulsionspartikel verstärkt phagozytieren würden.[206] Dies hätte eine Ausschüttung von Thromboxan A_2 und konsekutiv eine pulmonale Vasokonstriktion mit Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes zur Folge.[174] Aus diesem Grund wählten wir den

Beagle-Hund als Versuchstier, bei dem keine PIM vorkommen. Biro berichtete über das Ausbleiben signifikanter hämodynamischer Veränderungen nach Infusion einer 90%-igen Perflubron®-Lösung bei Hunden.[11] Nach Mattrey et. al führte eine Perflubron®-Applikation zu keinen hämodynamischen Veränderungen bei Hunden[122], bei Schweinen[146] blieb die myokardiale Kontraktilität unbeeinflusst. Ausserdem liegt der normale Hb des Hundes mit 14-16 g/dl in einem dem Menschen vergleichbaren Bereich, im Gegensatz zu Schweinen, die einen wesentlich geringeren Hb aufweisen. Viele der bisher durchgeführten präklinischen Studien zu Perflubron® wurden an Hunden durchgeführt, ohne dass spezifische Komplikationen aufgetreten wären.

4.2.2 Einfluss der Splenektomie

Hunde besitzen eine sehr große Milz, die u.a. auch als Speicherort für eine erhebliche Menge an Erythrozyten dient[6] (das Milzgewicht unserer Tiere betrug durchschnittlich 230g). Im Falle einer Notsituation, aus der Biologie auch als *fight and flight* bekannt, kommt es zu einer Aktivierung des Symphatikus und konsekutiv, über α_1-Rezeptoren[140,141] vermittelt, zu einer Milzkontraktion, wodurch zusätzliche Erythrozyten in den Kreislauf ausgeschüttet werden. Dies ist sowohl für den hämorrhagischen Schock[109], als auch für hypoxische Zustände[97] nachgewiesen. Die Tiere sind so in der Lage, ihre O_2-Transportkapazität kurzfristig zu steigern und den Gegebenheiten ihrer Umwelt anzupassen.[159] Dieser Vorgang ist evolutionshistorisch als Schutzmechanismus des Organismus zu interpretieren und beim Menschen nicht mehr nachweisbar. Die experimentelle Induktion des Schocks, der damit verbundene Abfall des Blutdrucks und des Sauerstoffangebots, hätte eine Erythrozytenausschüttung aus der Milz zur Folge und die Untersuchungsergebnisse kaum verwertbar gemacht. Daher wurden alle Tiere mindestens 5 Wochen vor dem Experiment in Vollnarkose splenektomiert. Die postoperative Re-

generation wurde durch orale Eisenpräparate unterstützt, regelmäßige Hb-Kontrollen zeigten eine vollständige Erholung der Tiere vor dem Experiment an.

Mycoplasma haemocanis

Der parasitäre Erreger *Mycoplasma haemocanis* (früher als Haemobartonella canis bezeichnet) ist ein weltweit verbreitetes Bakterium, das bei Hunden zu infektiösen Erkrankungen führen kann. Die Erreger werden am besten mittels Blutausstrich und Giemsafärbung nachgewiesen, eine kulturelle Anzüchtung ist bisher nicht gelungen. Die gram-negativen Erreger heften sich an die Oberfläche von Erythrozyten, dringen in sie ein und können so schwerwiegende Veränderungen der Zellmembran hervorrufen und schliesslich zur Anämie führen.[185] Die meisten Infektionen verlaufen latent und bleiben klinisch inapparent, meist sind nichtsplenektomierte Hunde betroffen, sie dienen als asymptomatische Träger, selten kann der Erreger im Blut nachgewiesen werden. Schwere Verläufe sind v.a. im Rahmen einer vorbestehender Immunsuppression, bei begleitenden mikrobiellen oder viralen Infektion und nach Splenektomie beschrieben.[16,63,81,106,202] Die akute Manifestation umfasst neben einer schweren Anämie auch Störungen der Blutgerinnung, des Weiteren auch Allgemeinsymptome wie Inappetenz, Lethargie, Fieber und Gewichtsverlust. Die Standardtherapie beinhaltet die Gabe von Oxytetracyclin (20-40mg/kg KG) oder Doxycyclin (5-10mg/kg KG), eine vollständige Elimination des Erregers gelingt dennoch häufig nicht.[81,90] Der Infektionsverlauf ist schwer vorherzusagen und reicht von vollständiger Erholung bis zur Erregerpersistenz oder spätem Krankheitsrückfall.[16]

Fallbericht[90]

Am 49. Tag nach Splenektomie erkrankte ein Hund (#1279) unserer Studie, die ersten Symptome waren Inappetenz, Apathie und ein reduzierter Allgemeinzustand. Die klinische Unter-

suchung zeigte blasse Konjunktiven und Fieber von 39,8°C, die Blutuntersuchung ergab einen Hb-Wert von 3,8g/dl. Im Verdacht des Vorliegens einer autoimmun vermittelten Anämie im Rahmen einer Infektion, behandelten wir das Tier mit 200ml allogenen Erythrozyten, gepoolt aus dem Blut der übrigen Tiere, 100mg Methylprednisolon zur Unterdrückung einer Transfusionsreaktion und Oxytetracyclin 40mg/kg per die. Prednison wurde in einer Dosis von 2mg/kg für 4 weitere Tage fortgeführt und anschliessend ausgeschlichen.

Wenige Wochen später erkrankte ein zweites Tier (#1295) mit ähnlichen Symptomen. Da die Anämie nicht lebensbedrohlich ausfiel (Hb 6,1g/dl), wurde dieser Hund nur mit Oxytetracyclin und Prednison behandelt. Beide Tiere erholten sich in den nächsten Wochen vollständig von der Erkrankung, da das Blutbild keine Auffälligkeiten mehr zeigte, wurden beide Tiere in die Studie eingeschlossen, die Experimente verliefen ohne besondere Vorkommnisse.

Zur Prophylaxe weiterer Infektionen erhielten alle weiteren Tiere unserer Studie nach der Splenektomie Oxytetracyclin und Prednison für 6 Wochen, es waren keine Krankheitsfälle mehr zu beobachten.

Zum Versuchszeitpunkt waren alle Tiere asymptomatisch und die Blutwerte lagen allesamt im Normbereich. Während den Experimenten traten keine Zwischenfälle auf, die auf eine Erkrankung zurückzuführen gewesen wären, sodass letztlich nicht geklärt werden kann, ob die inapparente Infektion mit Mycoplasma haemocanis einen Einfluss auf den Ablauf der Experimente oder die Resultate unserer Untersuchung hatte.

Während der Planungsphase einer weiteren Versuchsreihe konnten wir unter den neu erworbenen Tieren eine hohe Durchseuchungsrate mit Mycoplasma haemocanis feststellen.[90]

Eine daraufhin initiierte Studie konnte durch Stichproben nachweisen, dass die Durchseuchungsrate bei vielen Hundezüchtern auf mehreren Kontinenten höher als erwartet ist.[92] Ob das Modell des splenektomierten Hundes noch eine Zukunft in der Forschung hat, muss daher Gegenstand dringlicher Diskussionen werden.

4.2.3 Einfluss der Anästhesie

Für die Anästhesie der Tiere kombinierten wir das Opioid Fentanyl mit dem Benzodiazepin Midazolam, zur Relaxation wurde Pancuronium verabreicht (balanced anesthesia). Für Pancuronium ist bekannt, dass es keinen Einfluss auf die Distribution des regionalen Blutflusses hat, als Nebenwirkung ist aber eine moderate Tachykardie aufgrund der vagolytischen Wirkung beschrieben.[160] In unseren Experimenten fiel die Tachykardie mit Frequenzen zwischen 140 und 150/min zu Baseline sehr ausgeprägt aus. Zwar konnten die Tiere im Schock ihre Frequenz noch weit steigern (220/min), letztlich lässt sich aber nicht klären, ob und in welchem Ausmaß die Tachykardie zu Baseline die Kompensationsfähigkeit der Tiere und die Ergebnisse unserer Studie beeinflusst hat. Während den Splenektomien, für die das kurzwirksame Atracurium zur Muskelrelaxation verwendet wurde, waren die Hunde normofrequent. Die Dosis der Anästhetika wurde dem unterschiedlichen Bedarf der Tiere angepasst, um eine möglichst gleichmäßige Narkosetiefe zu gewährleisten. Während der Schockphase wurde die Dosis verringert, um bei reduziertem Blutvolumen gleichmässige Wirkstoffkonzentrationen zu gewährleisten. Wir verzichteten bewusst auf Barbiturate und inhalative Narkotika wie Isofluran, da die beschriebene negativ inotrope Wirkung dieser Medikamente einen unerwünschten Einfluss auf die Parameter der Herzfunktion (LVdpdt, Tau) gehabt hätte.[25,75,103]
Die Tiere wurden mit einem PEEP von 5 mmHg beatmet, um der Entwicklung von basalen Atelektasen und der damit verbundenen Störung der Lungenventilation und –perfusion vorzubeugen.

4.2.4 Induktion des experimentellen Schocks

Experimentelle Untersuchungen zum hämorrhagischen Schock werden schon seit über 100 Jahren durchgeführt, die Standardisierung eines Schockmodells war viele Jahrzehnte Streitpunkt zwischen den Wissenschaftlern und ist es bis heute geblieben. Früh hatte sich gezeigt,

dass gleiche Noxen in verschiedenen Individuen unterschiedliche Manifestationen hervorriefen, eine Folge stark variierender Kompensationsfähigkeit. Fronek formulierte 4 Vorraussetzungen, die ein optimales Schockmodell erfüllen sollten: 1) Reproduzierbarkeit, 2) Vorhersagbarkeit, 3) ökonomische Durchführbarkeit und 4) Nähe zur klinischen Realität, letzteres sollte sich als schwierigst zu erfüllen erweisen.[53] Es wurden viele verschiedene Modelle der Schockinduktion entwickelt und beschrieben: Modelle mit einer kontrollierten Blutung (druck-, volumen- oder O_2-Schuld-gesteuert) werden als solche bezeichnet, da nach Erreichen der definierten Schocktiefe bzw. nach Beginn der Therapie kein weiterer Blutverlust mehr stattfindet. Ihnen gegenüber stehen Modelle einer unkontrollierten Blutung mit nach Therapie anhaltendem Blutverlust.

Modell der unkontrollierten Blutung

Im klinischen Szenario eines Schocks infolge eines Traumas wird es in der Realität selten der Fall sein, dass die Verletzungen, die einen so erheblichen Blutverlust hervorrufen, am Unfallort in dem Maße versorgt werden, daß die Blutung gestillt ist. Dies gilt im Besonderen für die Situation in den USA, wo ein Großteil der Trauma- und Schockpatienten Verletzungen großer Blutgefäße durch penetrierende Stich- oder Schußverletzungen aufweisen. Es wurden daher Schockmodelle[10,64,114,120,173,174] entwickelt, die zusätzlich zum kontrollierten Blutentzug der Schockinduktion eine definierte Verletzung von Blutgefäßen oder parenchymatösen Organen beinhalten. Dies führt zu einer auch nach Therapie anhaltenden Blutung, die vom Untersucher nicht mehr beeinflusst werden kann, sie werden daher als Modelle der *unkontrollierten Blutung* bezeichnet. Sie kommen der klinischen Realität wesentlich näher als die kontrollierten Modelle (siehe unten) und eignen sich bevorzugt zur Untersuchung der Auswirkung der Volumentherapie und verschiedener Volumenersatzmittel auf das Ausmaß der Blutung und die Mortalität, sowie präklinisch anzustrebenden Zielparametern der Therapie. Stern et al unter-

suchten 1995 den Einfluss von Perflubron® als Supplement zur *hypotensive resuscitation* in einem unkontrollierten Modell. Letzlich war die Aussagekraft dieser Untersuchung hinsichtlich der Effizienz von Perflubron® stark eingeschränkt, da ein geringerer Flüssigkeitsbedarf in der Verum-Gruppe zu einem höheren Hämatokrit und konsekutiv höherem arteriellem Sauerstoffgehalt geführt hatte.[174] Aus diesem Grund haben wir für unsere Untersuchung ein kontrolliertes Schockmodell gewählt; wie bereits erwähnt kann die Steuerung dieser Modelle entweder über ein definiertes Druckniveau, einen festgelegten Blutverlust oder eine zu erreichende Sauerstoffschuld gesteuert werden, Vor- und Nachteile dieser einzelnen Modelle werden im Folgenden diskutiert.

Druck-Kontrolliertes Modell

In diesen Modellen wird der Schock durch manuellen oder spontanen Blutverlust bis auf einen vorgegebenen mittleren arteriellen Druck erzeugt, und auf diesem Druckniveau für einen vorher bestimmten Zeitraum aufrechterhalten. Ursprung der druckkontrollierten Modelle ist das sogenannte Modell von Wiggers[203], er beschrieb die Kombination einer längeren moderaten Hypotension (40-60mmHg für 90 Minuten) und einer kürzeren schweren Hypotension (30-40mmHg für 45 Minuten) als zuverlässig, um einen irreversiblen Schock zu produzieren, dessen Letalität also trotz Therapie 100% betrug. Die relativ einfache Durchführung der druckkontrollierten Modelle führte zu einer hohen Reproduzierbarkeit, nichtsdestotrotz unterschieden sich die Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen teilweise erheblich. Dies ist vorwiegend auf die unterschiedliche Sensibilität der Versuchstiere gegenüber einer Hypotension zurückzuführen, der gleiche arterielle Mitteldruck führte meist zu völlig verschiedenen Blutverlusten und Herzzeitvolumina. Letztlich liess dies kaum Rückschlüsse über die Einschränkung der Gewebeperfusion bzw. das Ausmaß der dadurch bedingten Gewebehypoxie, dem zentralen Endpunkt jeden Schockgeschehens, zu. Ein weiterer Kritikpunkt war die aufgrund

der langen Schockdauer geringe Vergleichbarkeit zur klinischen Realität (der hämorrhagische Schock beim Menschen) und schwerwiegender noch die Ausschaltung der individuellen Kompensationsmechanismen.[53]

Ziel vieler Untersuchungen war damals, den Zeitpunkt der Dekompensation zu bestimmen, bzw. ab wann der Schock in ein irreversibles Stadium übergegangen war. Im Hinblick darauf wurde das Wiggers-Modell von vielen Forschern hinsichtlich des Druckniveaus oder der Schockdauer modifiziert, wegweisend war letzlich die Vorgehensweise, es den Versuchstieren zu ermöglichen, während des Schocks selbst Volumen aus dem Blutreservoir zu rekrutieren („re-uptake"), um den Druck aufrechtzuerhalten. Es zeigte sich, dass der Beginn dieses re-uptake den Zeitpunkt der Dekompensation widerspiegelte, in Anbetracht des heutigen Wissens über die Pathophysiologie der Mikrozirkulation und der schockspezifischen Vasomotion ist dies leicht nachzuvollziehen. Ausserdem zeigte sich, daß nicht die Schockdauer oder die Menge des maximalen Blutverlusts, sondern der prozentuale Anteil des re-uptake daran, mit der Letalität korrelierte und folgerichtig zur Einteilung verschiedener Schweregrade herangezogen werden konnte. Erstmals schien nicht nur die Schwere des Schocks, sondern nun auch die Prognose nach Therapie vorhersagbar. Mehrere Autoren folgerten, daß die Menge des uptake die Volumensequestration und den Grad der Gewebehypoxie und –zerstörung widerspiegelt, dies wurde durch den Nachweis einer hohen Korrelation von uptake und Azidoseparametern erhärtet.[85,162,187]

Volumen-Kontrolliertes Modell

Experimentelle Schockmodelle, die über das entzogene Volumen gesteuert werden, gehen v.a. auf Walcott zurück. Der Grundgedanke dieser Modelle lag in der Frage, wieviel Blutvolumen man einem Individuum entnehmen muss, damit ein Schock eintritt und ab welchem Volumen dieser irreversibel wird, bzw. wieviel Blutvolumen zum Überleben nötig ist. Früh wurde of-

fensichtlich, daß die Entnahme eines bestimmten Anteils des Blutvolumens zu sehr stark variierenden Resultaten führte, erst recht wenn das Blutvolumen nicht gemessen, sondern über das Gewicht geschätzt wurde.[192] Der Grund hierfür lag wiederum in der unterschiedlichen Kompensationsfähigkeit der Tiere, respektive ihrer Fähigkeit, Flüssigkeit nach intravasal zu verschieben. Walcott konnte 1944 zeigen, dass der Verlust von mehr als 40% des zirkulierenden Blutvolumens von den Tieren nicht mehr kompensiert werden konnte und zum Tode führte[191], hierbei muss noch erwähnt werden, dass die Tiere in dieser Studie keine Therapie erhielten, also ausschliesslich ihre eigene Kompensationsfähigkeit über den Ausgang des Experiments bestimmte. Lawson beschrieb die Methode des *bleeding volume*, die zu homogeneren Resultaten führte.[105] Das *bleeding volume* ist als das maximale Volumen definiert, das ein Tier durch eine einmalige schnelle Blutung verlieren kann.[192] Anschliessend wird sofort ein vorher festgelegter Anteil des *bleeding volume* zurückgegeben, durch unterschiedliche Mengen sollten verschiedene Schweregrade des Schocks erzeugt werden können. Die Rückgabe von nur 25% führte zu einer 100%igen Letalität und wurde daher als sicher in der Erzeugung eines irreversiblen Schocks angesehen.

Zwar konnten mit volumenkontrollierten Schockmodellen sowohl der Einfluss der Schockdauer auf die Mortalität untersucht als auch Aussagen über das entziehbare Blutvolumen und die Auswirkung der individuellen Kompensation auf die Hämodynamik getroffen werden, jedoch konnten auch sie eine homogene Schocktiefe in verschiedenen Individuuen, gekennzeichnet durch ein vergleichbares Maß an Gewebehypoxie, nicht gewährleisten.

<u>O_2-Schuld-Kontrolliertes Modell</u>

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, besteht im Schock, gleich welcher Genese, ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und –angebot, das konsekutiv zur Gewebehypoxie und –schädigung führt, dies stellt letzlich das pathogenetische Endergebnis eines Schocks dar. Es

liegt daher nahe, den Schweregrad eines Schocks über das Ausmaß der Hypoxie zu definieren, experimentelle Modelle sollten ergo bei den Versuchstieren vergleichbare Gewebehypoxien erzeugen. Jene Untersuchungen, die durch einen vorgegebenen Blutverlust oder ein fixiertes arterielles Druckniveau für eine bestimmte Zeit standardisiert sind, können genau dies nicht erfüllen, da von der Makrohämodynamik keine ausreichend verlässliche Aussage über die Gewebeperfusion und Mikrozirkulation getroffen werden kann. Die unterschiedliche Sensibilität gegenüber einer Hypotension bzw. die individuelle Kompensationsfähigkeit, Perfusion und Metabolismus aufrechtzuerhalten, führt dazu, dass, um ein bestimmtes Maß an Hypoxie zu erzeugen, stärkere Individuuen einer längeren Schockphase unterzogen werden müssen, als schwächere, die dieses Stadium bereits nach kürzerer Zeit erreichen. Wie kann nun Hypoxie quantifiziert werden? Bruner et al konnten bereits 1940 ein Absinken der Sauerstoffaufnahme im Schock nachweisen und postulierten die Kumulation einer Sauerstoffschuld, die nach Therapie bzw. in der Erholungsphase abgebaut werden musste.[17] Crowell und Smith untersuchten 1963 den Zusammenhang zwischen der Sauerstoffschuld und der Letalität nach hämorrhagischem Schock an 100 Hunden. Es zeigte sich, daß eine Sauerstoffschuld von weniger als 100 ml/kg subletal war, wohingegen 140 ml/kg in fast allen Fällen zum Tode führte (vgl. Abb. 11). Betrug die Sauerstoffschuld 120 ml/kg ergab sich eine Letalität von 50% (LD_{50}), ein angemessener Wert einen Schockgrad zu definieren.[26,66] Ähnliche Ergebnisse konnten 1991 Dunham und Siegel vorweisen, in ihren Experimenten betrug die Sauerstoffschuld für eine LD_{50} 113,5 ml/kg. Ausserdem konnten sie nachweisen, daß metabolische Azidoseparameter wie die Lactatkonzentration oder der Basenüberschuß sowohl mit der kumulativen Sauerstoffschuld als auch mit der Letalität korrelierten, und somit als Prädiktoren im hämorrhagischen Schock herangezogen werden können.[41] Shoemaker et al zeigten 1988, dass das Ausmaß der Sauerstoffschuld und die Dauer ihrer Persistenz bestimmende Faktoren im postoperativen Verlauf von chirurgischen Hochrisikopatienten sind.[165] In unserer Studie sollte

der Einfluss des künstlichen Sauerstoffträgers Perflubron® untersucht werden; es liegt nahe, dass das Hauptaugenmerk auf Parameter des Sauerstofftransports und der Gewebeoxygenierung gelegt wurde. Wir wählten daher ein O_2-Schuld-kontrolliertes Modell, da es aus unserer Sicht die höchste Vergleichbarkeit unter den Experimenten gewährleistet und eine annähernd gleich schwerwiegende Gewebehypoxie produziert, ein Fakt der in der Untersuchung einer möglichen Effizienz eines künstlichen Sauerstoffträgers von erheblicher Bedeutung ist. Auch in unseren Experimenten wurde wieder beeindruckend deutlich, wie erheblich die einzelnen Tiere hinsichtlich ihrer Kompensationsfähigkeit variieren, dies zeigte sich im Ausmaß der VO_2-Abnahme nach Schockinduktion, was wiederum die Schockdauer bis zum Erreichen der kumulativen O_2-Schuld von 120 ml/kg bestimmte. In Abbildung 34 sind exemplarisch zwei Versuche abgebildet, die die Variabilität im Verlauf der VO_2 und der O_2-Schuld-Kumulation darstellen, die kürzeste Schockdauer betrug 68 Minuten, die längste 4 Stunden 5 Minuten.

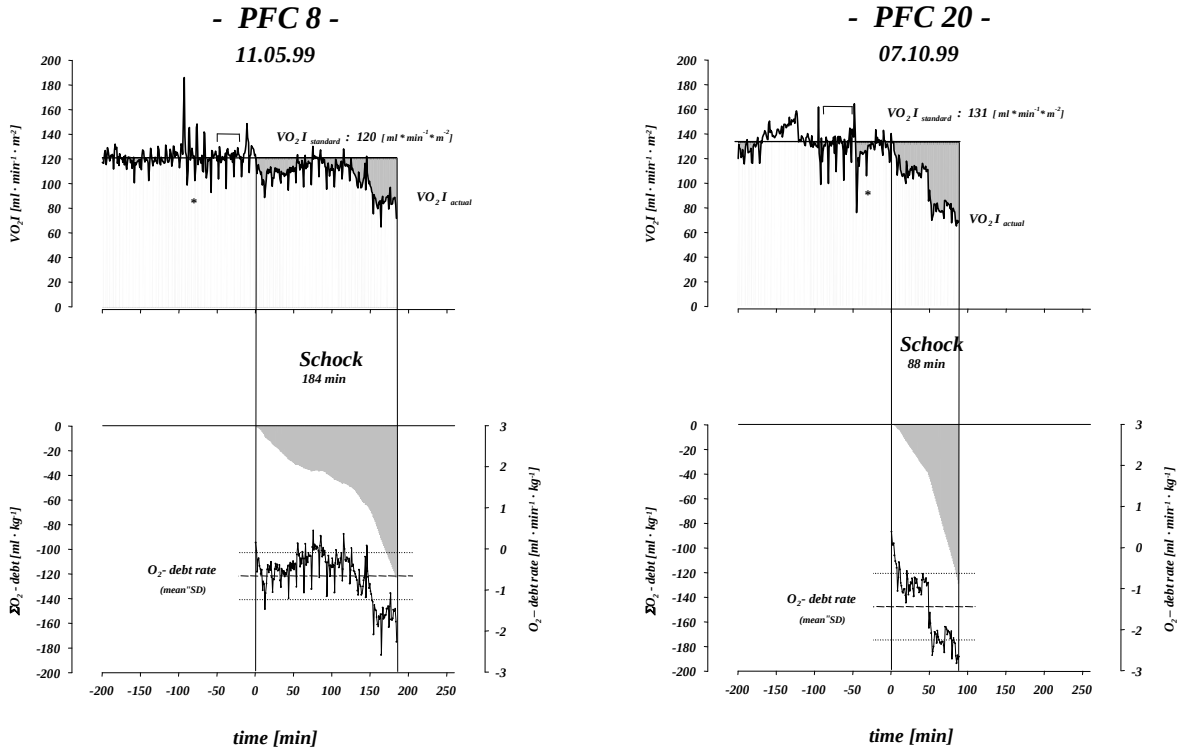


Abb. 34: Unterschiedlicher Verlauf von VO_2 und O_2-Schuld während der Schockphase in zwei Experimenten.

Dennoch bestand zum Schockende, wie aus Tab. 3 und den Abb. 35a u. b ersichtlich wird, hinsichtlich Blutverlust, eingegangener O_2-Schuld, mittlerem arteriellem Druck und mittlerer O_2-Schuld-Kumulationsrate kein Unterschied zwischen beiden Gruppen.

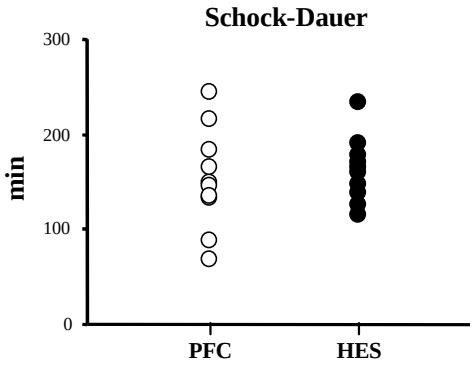


Abb. 35a: Einzelfalldarstellung der Schockdauer bis zum Erreichen der kumulativen O_2-Schuld

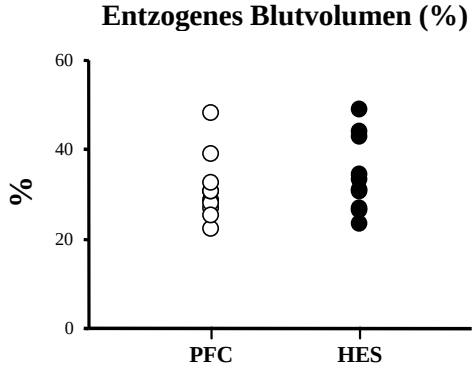


Abb. 35b: Einzelfalldarstellung des entzogenen Blutvolumens (in % des Baselinewertes)

4.2.5 Potentielle Interaktionen durch Perflubron®

Da die PFC-Mizellen durch Phagozytose aus der Zirkulation eliminiert werden, wäre es denkbar, dass es hierdurch zu einer Aktivierung intravasaler Leukozyten und konsekutiv zu einer Einschränkung der Mikrozirkulation kommen könnte. Nolte et al[136] untersuchten den Einfluss von Perflubron® auf die Mikrozirkulation nach akuter normovolämischer Hämodilution mit verschiedenen Plasmaersatzmitteln. Es zeigte sich, dass Hydroxyethylstärke (HAES), Gelatine und Humanalbumin kompatibel mit Perflubron® sind, und zu keiner Veränderung der Mikrozirkulation oder der Leukozyten-Endothel-Interaktion führen. Die Gabe von Perflubron® nach Hämodilution mit Dextran 60 hatte jedoch eine Einschränkung der Mikrozirkulation zur Folge, die wahrscheinlich auf eine spezifische Interaktion der beiden Substanzen zurückzuführen ist. Nolte et al konnten des Weiteren nachweisen, das die alleinige Infusion von 3,6g/kg KG Perflubron® die Mikrozirkulation nicht beeinflusste.

4.3 Diskussion der Methoden

4.3.1 Fluoreszierende Mikrosphären

Die Methode injizierbarer Mikrosphären stellt seit ihrer Erstbeschreibung durch Rudolf und Heymann 1967 den Goldstandard in der Bestimmung des regionalen Blutflusses dar. Lange Jahre wurden hierfür radioaktive Mikrosphären verwendet, die neben hohen Kosten und einer kurzen Haltbarkeit vor allem die gesundheitliche Gefährdung der Untersucher und ihrer Umwelt durch die radioaktive Strahlung zum Nachteil hatten. Seit ca. 10 Jahren werden deshalb vermehrt fluoreszierende Mikrosphären eingesetzt, die allerdings zur Messung ihrer Fluoreszenz komplett aus der Organprobe herausgelöst werden müssen, was einen komplizierten und zeitintensiven Faktor darstellt. Die Vergleichbarkeit radioaktiver und fluoreszierender Mikrosphären ist in mehreren Studien nachgewiesen worden.[1,59,177] Um eine optimale Durchmischung im arteriellen Blut zu erreichen, injizierten wir die Mikrosphären in den linken Vorhof. Die Dichte der Mikrosphären gleicht mit 1,05 g/ml der Dichte der Erythrozyten (1,10 g/ml), da sie einen Durchmesser von ca. 15µm aufweisen, verteilen sie sich im Blutstrom annähernd wie die Erythrozyten. Um eine homogene Kapillarverteilung sicherzustellen, wurde die Referenzprobe über 3 Minuten mit einer Rate von 3,24ml/min abgezogen. Dies gewährleistete ausserdem, dass eine ausreichend hohe Anzahl von Mikrosphären in der Referenzprobe erscheint, wodurch die Ergebnisse des regionalen Blutflusses nicht verfälscht werden.[19]
Die Validität des zur Probenanalyse eingesetzten Roboters wurde in einer eigenen Untersuchung nachgewiesen.[178]
Um den statistischen Fehler möglichst klein zu halten, wurden Proben, die weniger als 400 Mikrosphären enthielten, nicht in die Datenauswertung aufgenommen.[19]
Die in unseren Experimenten eingesetzten Mikrosphären enthalten Tween als Stabilisator, der in Abhängigkeit seiner Konzentration zu transienten Blutdruckabfällen führen kann. Wir verwendeten mit 2% eine geringe Konzentration, bei der hypotensive Reaktionen nicht zu erwar-

ten sind. In keinem unserer Experimente konnten Kreislaufreaktionen während oder nach Injektion der Mikrosphären beobachtet werden.

Die Ergebnisse der Bestimmung des regionalen Blutflusses wurden zur Bestimmung der Endo-Epi-Ratio (EER) herangezogen, die einen etablierten Indikator einer Subendokardischämie darstellt. Da die myokardiale Perfusion stets vom aktuellen Bedarf an Substraten und Sauerstoff abhängig ist, ist eine alleinige Reduktion des subendokardialen Blutflusses nicht ausreichend, um eine Subendokardischämie zu detektieren, da die geringere Perfusion theoretisch auch auf einem geringerem Sauerstoffbedarf beruhen könnte. Die subepikardialen Bezirke werden im Gegensatz zum Subendokard auch in der Systole perfundiert. Im Falle einer ausgeprägten Tachykardie oder vorbestehenden Hypertrophie sind sie weniger von einer Einschränkung ihrer Durchblutung gefährdet und können ihre Perfusion aufrechterhalten. Der subepikardiale Blutfluss stellt daher ein Maß für den Bedarf des Herzens dar, erst wenn das Verhältnis von subendo- zu subepikardialer Perfusion (EER) fällt, liegt eine relevante Einschränkung der Durchblutung des Subendokards mit der Gefahr einer Ischämie vor. Brazier und Buckberg generierten eine subendokardiale Ischämie sowohl durch normovolämische Hämodilution[14], als auch durch Tachykardie im Modell einer Aortenstenose.[15] Die Innenschichtischämie wurde anhand eines intraventrikulär abgeleiteten EKGs verifiziert. Es zeigte sich in beiden Experimenten, dass die endokardialen ST-Veränderungen signifikant zunahmen, wenn die Endo-Epi-Ratio unter 1 fiel. Darüberhinaus konnte bei progressiver Hämodilution das HZV kompensatorisch nicht mehr weiter gesteigert werden.[14] Die epikardialen EKG-Ableitungen zeigten zu diesem Zeitpunkt noch keine signifikanten Änderungen, daraus lässt sich schliessen, dass die EER im Hinblick auf die Detektion einer Innenschichtischämie sensitiver ist als ein Oberflächen-EKG. Dies bestätigen Ergebnisse von Mirvis, hier traten ST-Veränderungen erst auf, wenn die EER unter 0,7 fiel.[132]

4.3.2 Mikrodialyse

Die myokardiale Lactatproduktion ist ein etablierter Parameter des anaeroben Metabolismus und korreliert mit dem Ausmaß der Ischämie. Um die Lactatkonzentration im myokardialen Interstitium zu messen, verwendeten wir die Methode der Mikrodialyse, die seit Jahren etabliert ist und vorwiegend in der Neurobiologie zur Bestimmung der Neurotransmitterfreisetzung eingesetzt wird. Verschiedene Gruppen haben bereits nachgewiesen, daß die Mikrodialyse auch am Herzen zur Bestimmung von Metaboliten verwendet werden kann[2,182], als sinnvoller Ischämie-Indikator hat sich u.a. das Lactat erwiesen.[126,204,205]

Der Katheter der Mikrodialyse wird im zu untersuchenden Gewebe plaziert und fungiert dort als künstliche Blutkapillare und kann so die chemische Zusammensetzung der interstitiellen Flüssigkeit widergeben.[126,180] Alle Substanzen der Extrazellulärflüssigkeit mit einem Molekulargewicht kleiner 20 kD diffundieren durch die semipermeable Membran in die Perfusionsflüssigkeit im Inneren des Katheters, bzw. aus diesem ins Interstitium, werden durch den kontinuierlichen Perfusatfluss abtransportiert und als Probe viertelstündlich gesammelt. Die Konzentration einer Substanz im Dialysat ist vom Perfusatfluss, von der Länge der Dialysemembran und ihrer Beschaffenheit, sowie vom Diffusionskoeffizienten im Gewebe abhängig. Der relative Anteil der Dialysatkonzentration an der Konzentration im Interstitium wird als *recovery* bezeichnet und kann 100% erreichen, falls die Membran lang und der Perfusatfluss gering genug sind. Wir verwendeten einen Katheter mit einer 20mm langen Sonde, die vom Perfusat mit einer Rate von 15µl/min durchspült wurde. Experimente zur Bestimmung der recovery von Lactat haben wir selbst nicht durchgeführt. Wikström et al untersuchten Substratkonzentrationen während einer Koronarokklusion und ermittelten für Lactat eine recovery von 74% bei mit uns übereinstimmenden Daten der Membranlänge und des Perfusatflusses.[205] Die von uns erhobenen Daten sind als Dialysatkonzentration angegeben und wurden nicht in eine theoretische interstitielle Konzentration umgerechnet, da die recovery von vielen Fakto-

ren beeinflusst wird. So kann u.a. nicht mit Sicherheit vorhergesagt werden, wie sich eine Veränderung der Herzfrequenz oder der intrakavitären Drücke auf den Flüssigkeitstransport im Inneren der Sonde ausübt.[126] Die relative recovery bleibt aber in vivo konstant, solange sich die Perfusionsbedingungen nicht verändern. Daher sollte gewährleistet sein, daß die von uns erhobenen Daten nur geringen intra- und interindividuellen Schwankungen unterliegen und eine Vergleichbarkeit gegeben ist. Durch die Plazierung des Mikrodialysekatheters kommt es meist zu einem Mikrotrauma, das vorübergehend die Gewebefunktion und Durchblutung stört und zu einer initial geringeren Konzentration der dialysierten Substanzen führt. Nach einer gewissen Stabilisierungsphase kann sich ein erneutes Gleichgewicht ausbilden und es können verlässliche Konzentrationen gemessen werden.[180] Um dies zur Baseline zu gewährleisten, wurde der Mikrodialysekatheter baldmöglichst nach Sternotomie und Perikarderöffnung plaziert, in der Auswertung der Lactatkonzentrationen zeigten sich stets stabile Verläufe lange vor der ersten Messung (BL).

4.3.3 Myokardfunktion

4.3.3.1 Systolische Herzfunktion

Am Herzen kommt es duch das Einwirken einer Ischämie oder Hypoxie zu einer Einschränkung der myokardialen Funktion.[38,55,184,198] Zur Beurteilung der systolischen Herzfunktion wurden der linksventrikuläre Schlagarbeitsindex LVSWI und die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit $LVdpdt_{max}$ herangezogen.

Der LVSWI ist ein Maß für die vom linken Ventrikel geleistete Arbeit; er wird, wie aus der Formel seiner Berechnung (2.5) hervorgeht, bestimmt durch Schlagvolumen und den arteriellen Mitteldruck, welche wiederum vom Volumenstatus und dem peripheren Widerstand beeinflusst sind.

Die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit $LVdpdt_{max}$ korreliert zwar eng mit der links-

ventrikulären Kontraktilität und wird allgemein als Parameter der systolischen Myokardfunktion angesehen, ist allerdings von hämodynamischen Gegebenheiten wie dem diastolischen Aortendruck (afterload), dem enddiastolischen Füllungsdruck (preload) und der Herzfrequenz abhängig.[58,118,193] Sollen aus Änderungen der $LVdpdt_{max}$ Rückschlüsse auf die Kontraktilität gezogen werden, müssen demnach hämodynamische Veränderungen ausgeschlossen sein bzw. bei der Beurteilung in Betracht gezogen werden. Für den Vergleich der Kontraktilität in der vorliegenden Untersuchung hiesse dies, dass Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nur dann als solche anerkannt werden könnten, wenn zum entsprechenden Zeitpunkt die hämodynamischen Vorraussetzungen vergleichbar sind. Wie aus Tab. 4 ersichtlich wird, ist die Hämodynamik in beiden Gruppen vergleichbar und die lastabhängigen Parameter deshalb valide. Im Hinblick auf die Ergebnisse wäre es sicherlich angemessener gewesen, einen vorlast-unabhängigen Parameter der systolischen Myokardfunktion zu untersuchen, der nicht von der Hämodynamik beeinflusst wird. Eine solche Methode stellt die Conductance-Messung dar, hierbei wird allerdings während der Messung mithilfe eines Fogarty-Katheters in der Vena cava inferior der venöse Rückstrom zum Herzen vermindert und so der Einfluss der Vorlast auf die Kontraktilitätsmessung minimiert. Dieses Manöver wäre in der Endphase eines Schocks sicherlich nicht durchführbar gewesen, da es mit großer Wahrscheinlichkeit zur kardialen Dekompensation geführt hätte. Aus diesem Grund entschieden wir uns gegen die Conductance-Methode.

4.3.3.1 Diastolische Herzfunktion

Die diastolische Herzfunktion ist im Hinblick auf die Empfindlichkeit gegenüber einer Ischämie wesentlich sensitiver als die systolische Funktion.[108,123] Während der diastolischen Relaxation des Herzmuskels kommt es durch die Aktivierung eines komplexen Enzymsystems zur Abspaltung des Calciums vom Troponin und zur Verlagerung der Myofibrillen.[104] Dies stellt

einen energieabhängigen Prozess dar, der einen erheblichen Anteil des myokardialen Sauerstoffverbrauchs in Anspruch nimmt und daher durch Ischämie beeinträchtigt werden kann. Für die maximale Druckabfallsgeschwindigkeit $LVdpdt_{min}$, einen anerkannten Parameter der linksventrikulären Relaxation, konnte gezeigt werden, daß sie während einer Ischämie verringert ist.[123,142,164,195] Allerdings reflektiert $LVdpdt_{min}$ nur einen singulären Punkt des linksventrikulären Druckabfalls und wird ausserdem von hämodynamischen Parametern wie dem systolischen Aortendruck, der ventrikulären Inotropie, dem endsytolischen Ventrikelvolumen und dem Schlagvolumen beeinflusst.[24,87,199,201] Da eine Ischämie selbst und vor allem ein hämorrhagischer Schock zu drastischen Veränderungen der Hämodynamik führen, ist die Aussagekraft von $LVdpdt_{min}$ zur Beurteilung der diastolischen Funktion in unserer Studie eingeschränkt.

Daher wählten wir Tau (τ), die Zeitkonstante der volumenunabhängigen Relaxation, als weiteren Parameter der diastolischen Funktion. Der linksventrikuläre Druckabfall von $LVdpdt_{min}$ bis zur Öffnung der Mitralklappe verläuft exponentiell und kann durch die Zeitkonstante τ quantifiziert werden. Weiss et al konnten 1976 zeigen, dass τ unabhängig von systolischem Druck, endsystolischem Volumen oder der enddiastolischen Faserlänge ist, geringfügig durch die Herzfrequenz beeinflusst wird und prinzipiell eine Funktion der sytolischen Faserverkürzung darstellt.[54,201] Es konnte nachgewiesen werden, dass τ vom Schlagvolumen unbeeinflusst bleibt und dass positiv inotrope Substanzen eine Verkürzung, ß-Blocker dagegen eine Verlängerung von τ bewirken.[52,87]

In mehreren Untersuchungen zeigte sich, dass τ durch eine Ischämie ansteigt[27,113,142] und somit als Parameter einer ischämiebedingten diastolischen Dysfunktion dienen kann.

4.4 Ergebnisse

4.4.1 Experimenteller Schock – Vergleichbarkeit der Gruppen

Die Hämodynamik der beiden Versuchsgruppen wies zu Baseline keine Unterschiede auf und lag mit Ausnahme der Tachykardie, die durch die vagolytische Wirkung des Relaxans Pancuronium zu erklären ist, und dem, infolge chirurgischer Präparation und Volumenzufuhr, mässig erniedrigten Hämatokrit, durchweg im Normbereich.

Der hämorrhagische Schock wurde durch einen kontrollierten Blutentzug bis auf einen arteriellen Mitteldruck von 45 mmHg erzeugt und bis zum Aufbau einer kumulativen Sauerstoffschuld von 120 ml/kg aufrechterhalten. Um eine optimale Vergleichbarkeit zu gewährleisten, erfolgte die Zuteilung zu den Therapiegruppen randomisiert erst während der Schockphase.

Das im Schock entzogene Blutvolumen sowie der initiale Blutvolumenindex zu Baseline waren in beiden Gruppen gleich, ebenso der O_2-Bedarf (≈ Standard-VO_2). Beide Gruppen unterschieden sich weder im Mittel der Schockdauer noch in der sich daraus errechneten mittleren Kumulationsrate (Tab.3). Im Schock waren die Makrohämodynamik (Tab.4) und der globale Sauerstofftransport (Tab.5) gleichermaßen eingeschränkt. Weder die myokardiale Perfusion (Tab.6), noch die Myokardoxygenierung (Tab.7+8) oder die Herzfunktion (Tab.9) zeigten Unterschiede zwischen beiden Gruppen.

Zusammenfassend kann von einer optimalen Vergleichbarkeit der beiden Gruppen ausgegangen werden.

4.4.2 Hämodynamik

Die Induktion des hämorrhagischen Schocks führte zu den erwarteten Veränderungen der hämodynamischen Parameter. Die Abnahme des zirkulierenden Blutvolumens hatte einen Abfall des Herzzeitvolumens zur Folge, kompensatorisch stiegen der systemische vaskuläre Widerstand, als Zeichen einer generalisierten peripheren Vasokonstriktion, und die Herzfrequenz

stark an. Durch die Volumentherapie konnte das Blutvolumen wiederhergestellt werden und entsprach nahezu dem Ausgangswert, beide Gruppen waren normovolämisch. Dies erstaunt in Anbetracht der Tatsache, dass die Flüssigkeitszufuhr zur Deckung des Grundbedarfs während des Schocks auf ein Minimum reduziert worden war und die Verluste durch perspiratio insensibilis während maschineller Beatmung sowie bei geöffnetem Thorax und Abdomen nicht unerheblich gewesen sein dürften. Wahrscheinlich wurde dieses Defizit durch die vermehrte Resorption interstitieller Flüssigkeit und die hormonell gesteigerte Salz- und Wasserresorption (1.1.3.1) während des Schocks ausgeglichen. Wie erwartet, hatte die supplementive Gabe von Perflubron® keinen Einfluss auf die Hämodynamik oder das Blutvolumen, da Perflubron® isoonkotisch ist und somit gegenüber der Kontrollgruppe, die NaCl 0,9% erhielt, keinen Vorteil bot. Auch in anderen Studien zeigte sich, dass die Gabe von Perflubron® keine hämodynamischen Auswirkungen nach sich zog.[11,60,174] Habler berichtete dagegen über einen tendenziellen Anstieg des Herzzeitvolumenindex nach Perflubron®-Gabe in hämodiluierten Hunden[68], in den Untersuchungen von Johnson et al war ein Anstieg des mittleren arteriellen Blutdruckes nach Injektion von 3ml/kg Perflubron® 90% zu verzeichnen.

Die von uns im Mittel verabreichten 64 ml waren im Therapievolumen bereits enthalten und wurden nicht zusätzlich als „top load“ gegeben, da sich während der Pilotphase dieser St udie gezeigt hatte, daß teilweise nur geringe Blutverluste von 200-300ml erreicht wurden und die „top load“ -Gabe somit eine Hypervolämie erzeugt hätte.

Durch die Normovolämie konnten auch die übrigen hämodynamischen Parameter stabilisiert werden, der arterielle Mitteldruck stieg an und die Herzfrequenz sank, beide Parameter erreichten jedoch nicht ihr Ausgangsniveau. Das Herzzeitvolumen war direkt nach Therapie über den Ausgangswert gesteigert, bedingt durch einen starken Abfall des systemischen vaskulären Widerstandsindex. Dies ist in erster Linie ein direkter Effekt der Hämodilution, der aber möglicherweise durch die postischämische Vasodilatation verstärkt wurde. Durch die

Volumentherapie sank der Hämatokrit von 23% auf 15% (PFC), respektive von 24% auf 16% (HAES), dies bewirkt eine Abnahme der Blutviskosität und konsekutiv des peripheren Strömungswiderstands, was es dem Herzen ermöglicht, bei gleicher Vorlast ein höheres Schlagvolumen auszuwerfen. Allerdings zeigte sich in unseren Daten, dass der Schlagvolumenindex nach Therapie das Ausgangsniveau nicht erreichte, im Gegenzug blieb die Herzfrequenz erhöht und gewährleistete so das höhere Herzzeitvolumen. Im weiteren Verlauf sank das Herzzeitvolumen, bei währenddessen stabilem Mitteldruck, langsam aber kontinuierlich ab. Grundsätzlich ist das Herzzeitvolumen von 1) der Herzfrequenz, 2) der Kontraktilität, 3) der Vorlast und 4) der Nachlast abhängig. Die Herzfrequenz blieb bis Versuchsende stabil, ebenso zeigte die maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit keine erhebliche Funktionseinschränkung. Eine Abnahme des zirkulierenden Blutvolumens ist als Grund ebenfalls auszuschliessen, bis 60'pT lag der Blutvolumenindex in beiden Gruppen über 70ml/kg KG, der zentralvenöse Druck war in diesem Zeitraum zwar niedrig, lag aber im Bereich der Ausgangswerte. Tatsächlich stieg der systemische Widerstand, als Parameter der myokardialen Nachlast, ab 30'pT wieder an. Ob dies allerdings die Ursache für das abnehmende Herzzeitvolumen war, kann letztlich nicht mit Sicherheit geklärt werden, da der SVRI in dieser Untersuchung nicht gemessen sondern lediglich berechnet wurde, und wie aus der Formel in 2.5 ersichtlich wird, das Herzzeitvolumen selbst für seine Berechnung herangezogen wurde. Nachdem die Tiere in der ersten Stunde nach Therapie eine weitgehend stabile Hämodynamik aufrechterhalten konnten, verschlechterte sich die Kreislaufsituation bis zum letzten Messzeitpunkt 180'pT drastisch. Der arterielle Mitteldruck fiel in beiden Gruppen unter 60 mmHg, das Herzzeitvolumen sank unter 50% des Wertes direkt nach Therapie. Verursacht wurde diese zirkulatorische Verschlechterung durch eine erneute Abnahme des zirkulierenden Volumens, der Blutvolumenindex sank in der PFC-Gruppe von 74ml/kg (pT) auf 55ml/kg (180'pT), respektive von 76 ml/kg (pT) auf 49 ml/kg (180'pT) in der HAES-Gruppe. Da nach Therapie

die Flüssigkeitszufuhr zur Deckung des Grundbedarfes exakt wie während der Präparationsphase mit 15ml/kg/h isotonischer Kochsalzlösung weitergeführt wurde und kein Grund eines plötzlich erhöhten Bedarfs vorlag, konnte nur ein Verlust an Flüssigkeit dieses Defizit erzeugt haben. Renale Verluste im Sinne eines polyurischen Nierenversagens traten nicht auf, ebenso wurden sichtbare Blutungen im Präparationsbereich ausgeschlossen. Auffällig waren dagegen zunehmende seröse intraabdominelle und –peritoneale Flüssigkeitsansammlungen, die unserer Ansicht nach auf eine Permeabilitätssteigerung im Sinne eines *capillary leakage* zurückzuführen sind und eine Folge des Ischämie-Reperfusionsschadens darstellen. Die erneute Hypovolämie hatte zur Folge, dass die Versuchstiere in einen „zweiten Schock" fielen, welcher natürlich erneut zur Einschränkung der Gewebeoxygenierung und Organfunktion führte. Dieser Aspekt muss in der Analyse der Ergebnisse zum Zeitpunkt 180'pT berücksichtigt werden.

4.4.3 Myokardiale Perfusion

Die koronare Perfusion wird jederzeit dem jeweiligen myokardialen Sauerstoffbedarf durch Veränderungen des vaskulären Koronarwiderstandes angepasst. Die beiden Hauptmechanismen dieser Steuerung sind die Autoregulation und die metabolische Vasodilatation. Autoregulation bedeutet hierbei strenggenommen nur die Fähigkeit des Herzens, die Perfusion im Falle hämodynamischer Veränderungen konstant zu halten, dies ist für einen koronaren Perfusionsdruck im Bereich von ca. 70-130 mmHg gegeben. Die Anpassung an den metabolischen Bedarf wird durch eine Vielzahl endogener Faktoren wie den myokardialen Gewebe-pO_2, Adenosin, Prostaglandine und K^+ vermittelt.[37] Im Ruhezustand ist die subendokardiale Perfusion etwas höher als die subepikardiale Perfusion, die Endo-Epi-Ratio beträgt ca. 1,1-1,2.[49] Ursache ist ein um ca. 20% höherer Sauerstoffverbrauch im Subendokard.[200]

Im Schock fiel der koronare Perfusionsdruck von über 60 mmHg in beiden Gruppen auf 29 mmHg. Der myokardiale Blutfluss konnte durch eine maximale Vasodilatation, erkennbar an

der drastischen Abnahme des koronarvaskulären Widerstandes, aufrechterhalten werden. Im Subendokard war der Blutfluss im Schock jedoch leicht vermindert, da hier der kritische Perfusionsdruck, bei dem die Fähigkeit zur Autoregulation aufgehoben wird, höher ist, als im restlichen Myokard.[67,156] Obwohl die numerische Verringerung des subendokardialen Blutflusses scheinbar nur gering ausfällt, liegt die Endo-Epi-Ratio in beiden Gruppen deutlich unter 1 und signalisiert eine subendokardiale Ischämie, verursacht v.a. durch einen erhöhten myokardialen O_2-Bedarf. Nach Therapie stieg der koronare Perfusionsdruck in beiden Gruppen auf 54 mmHg, blieb damit unter dem Ausgangswert, ermöglichte aber eine Steigerung der myokardialen Perfusion um den Faktor 2,3 (PFC) bzw. 2,9 (HAES). Die nach Therapie tendenziell niedrigere Perfusion in der PFC-Gruppe wird auch aus den Fluss-Summenhistogrammen (Abb. 21) ersichtlich. Darüberhinaus lässt sich erkennen, dass die Therapie eine Verbreiterung der Histogramme nach sich zog, dies kennzeichnet eine Zunahme der Heterogenität der myokardialen Perfusion. Im Gegensatz dazu sehen die Histogramme zu den Zeitpunkten Baseline und Schock einer Normalverteilung sehr ähnlich, was mit einer physiologischen Heterogenität der kardialen Perfusion vereinbar ist. Die kontinuierliche Abnahme der Perfusion im weiteren Versuchsablauf zieht eine Linksverschiebung der Histogramme nach sich, die erneute Formänderung repräsentiert die eingetretene Redistribution der myokardialen Perfusion.

Die in der ersten Stunde nach Therapie tendenziell niedrigere Perfusion in der PFC-Gruppe könnte durch folgende Faktoren bedingt sein:

1. höherer Perfusionsdruck (fehlende Autoregulation)
2. hyperoxische Vasokonstriktion (Einschränkung der metabolischen Regulation)
3. geringerer Sauerstoffbedarf (metabolische Regulation)
4. erhöhter arterieller Sauerstoffgehalt (metabolische Regulation)
5. verbesserte Sauerstoff-Utilisation (metabolische Regulation)

ad 1) Hämodynamische Unterschiede fallen als Ursache des geringen Perfusionsunterschiedes ausser Betracht, da beide Gruppen zu allen Messzeitpunkten vergleichbare Werte aufwiesen. Der CPP liegt zwar nach Therapie unter dem kritischen Perfusionsdruck für das Subendokard, ist aber in beiden Gruppen identisch.

ad 2) Die tendenziell geringere Perfusion der PFC-Gruppe könnte durch eine stärkere koronare Vasokonstriktion bedingt sein. Im Rahmen einer hyperoxischen Beatmung kommt es zur Vasokonstriktion von arteriolären Gefässen, dieser Effekt ist sowohl für periphere Gewebe [8,21,40] als auch für Koronarien[7,29,101] nachgewiesen. Die Gefässkonstriktion wird nicht über das zentrale Nervensystem vermittelt[5,7], sondern stellt eine direkte Folge der lokalen Einwirkung von hohen Sauerstoffpartialdrücken dar.[5] Hierunter kommt es im Endothel zu einer vermehrten Bildung des Vasokonstriktors 20-Hydroxy-eicosa-tetra-en-Säure (20-HETE) aus Arachidonsäure.[70] Gleichzeitig werden vasodilatierende Substanzen wie Prostaglandine[127] und NO[148], dessen Bioverfügbarkeit ausserdem herabgesetzt ist[73], vermindert freigesetzt.
Es ist denkbar, dass der in der PFC-Gruppe nach Therapie signifikant höhere pO_2 (631 vs 570 mmHg, $p<0,05$, pT) eine stärker ausgeprägte koronare Vasokonstriktion ausgelöst hat, welche wiederum die Perfusion der PFC-Gruppe (bei vergleichbarem CPP) stärker einschränkte. Hierzu passt die Beobachtung, dass die tendenziellen Unterschiede in der Perfusion nur an den Messzeitpunkten pT und 30'pT auftraten, zu denen auch der pO_2 erhöht war (vgl. Tab. 5 u.6, Abb. 19-21). Des Weiteren war der koronarvaskuläre Widerstand (CVRI) in der PFC-Gruppe zu den entsprechenden Zeitpunkten ebenfalls leicht erhöht (vgl. Tab. 6, nicht signifikant). Allerdings muss an dieser Stelle einschränkend festgestellt werden, dass der koronarvaskuläre Widerstand nicht direkt gemessen, sondern aus den Daten der Hämodynamik und der myokardialen Perfusion berechnet wurde. Da Perfusion und Gefässwiderstand zwei voneinander abhängige Parameter darstellen, kann letztlich nicht gesagt werden, ob der (berechnete) höhere Widerstand Folge oder Ursache der (gemessenen) geringeren Perfusion ist.

ad 3) Der myokardiale Sauerstoffbedarf kann nicht direkt gemessen werden, ist aber vorwiegend von der geleisteten Arbeit, und somit von der Nachlast und der Herzfrequenz, abhängig. Die Nachlast wird am besten durch die linksventrikuläre Wandspannung reflektiert, Sarnoff beschrieb daher den *Tension-Time-Index* (TTI) als Parameter des myokardialen Sauerstoffbedarfs.[158] Buckberg et al definierten den *systolic pressure time index* (SPTI) als Sauerstoffbedarf, dieser ist als die Fläche unter der linksventrikulären Druckkurve in der Systole definiert.[18] Weder der TTI noch der SPTI wurden in unserer Untersuchung ermittelt. Vereinfachend kann aber auch der linksventrikuläre systolische Druck als Parameter der Nachlast und damit des myokardialen Sauerstoffbedarfs herangezogen werden. Tatsächlich ist in der PFC-Gruppe der LVP und die Herzfrequenz geringfügig niedriger als in der Kontrollgruppe (nicht signifikant) und könnte einen etwas geringeren Sauerstoffbedarf der PFC-Gruppe andeuten.

ad 4) Da die Koronarperfusion jederzeit dem Bedarf angepasst wird, könnte bei einem höheren arteriellen Sauerstoffgehalt die Perfusion entsprechend gedrosselt werden, um trotzdem ein angemessenes O_2-Angebot ans Myokard bereitzustellen. Dies ist in unserer Untersuchung jedoch nicht zu beobachten, die Hb-Konzentrationen und der CaO_2 der beiden Gruppen unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt wesentlich voneinander. Die myokardiale DO_2 ist nach Therapie in beiden Gruppen nahezu identisch. Dass ein erhöhter arterieller Sauerstoffgehalt eine Minderung der Koronarperfusion ermöglicht, konnte eine andere Untersuchung unserer Arbeitsgruppe zeigen. Kemming et al hämodiluierten Schweine bis zum kritischen Hämatokrit, der mit dem Auftreten einer Myokardischämie definiert ist, und beatmeten anschliessend hyperoxisch (FiO_2 1.0); der arterielle Sauerstoffgehalt wurde durch eine Steigerung des plasmatisch gelösten Sauerstoffs signifikant erhöht. Die myokardiale Perfusion wurde unter hyperoxischer Beatmung signifikant gedrosselt (bei konstantem koronarem Perfusionsdruck), die myokardiale DO_2 blieb im Zusammenspiel aus gesteigertem Sauerstoffgehalt und verminderter Perfusion unverändert.[89]

ad 5) Vorrausgesetzt der Sauerstoffbedarf ist in beiden Gruppen gleich, so könnte bei identischer myokardialer DO_2, wie in unserer Untersuchung vorliegend, eine durch Perflubron® verbesserte Utilisation des angebotenen Sauerstoffs die Myokardoxygenierung optimieren und den zur Deckung des Bedarfs benötigten Koronarfluss senken.

Zwei Mechanismen können diesen Effekt erklären[46]:

1) Steigerung des konvektiven Sauerstofftransports im Plasma
2) Erleichterte Sauerstoffdiffusion zwischen Erythrozyt und Gewebe

ad 1) Wie bereits in 1.2 erwähnt, hängt die Menge des in PFC gelösten Sauerstoffs von dessen Blutkonzentration und dem arteriellen pO_2 ab und betrug nach Therapie 0,5ml O_2/dl, diese Menge von Sauerstoff reflektierte 5% der myokardialen DO_2 und 7% der myokardialen VO_2. Allerdings ist selbst für viel geringere PFC-Konzentrationen eine biologische Wirksamkeit nachgewiesen, die durch die Lokalisation der PFC-Emulsionspartikel in der Blutströmung erklärt wurden, sie befinden sich nämlich in der äußersten Schicht nahe den Gefäßwänden.[86,176] Die Diffusion von Sauerstoff ins umliegende Gewebe erfolgt somit zuerst aus den PFC-Partikeln, anschliessend aus dem Plasma und zuletzt aus den Erythrozyten. Falls nun die Durchflußgeschwindigkeit der Kapillaren erhöht ist, z.B. als Folge der Hämodilution, verringert sich der Zeitraum in dem der Sauerstoff aus dem Blut ans Gewebe abgegeben werden kann. In diesem Kontext wird die Wirksamkeit auch geringer PFC-Mengen in der Gewebeoxygenierung verständlich.

Ad 2) Darüberhinaus kann PFC die Diffusionsbarriere zwischen Erythrozyt und Gewebe modulieren, dieser Mechanismus ist unter dem Begriff der *erleichterten Diffusion* oder *facilitated diffusion* bekannt. Die Diffusion der O_2-Moleküle erfolgt nach Dissoziation vom Hämoglobin

entlang dem Partialdruck bis ins Mitochondrium der Gewebezelle, die Gesamtmenge des diffundierenden Sauerstoffs (O_2-Flux) ist hierbei von der Konduktivität bzw. dem Diffusionswiderstand abhängig. Nach Federspiel[48] wird die Konduktivität v.a. durch den Abstand zwischen den Erythrozyten (*spacing*) und dem Verhältnis zwischen Erythrozytendurchmesser und Kapillargrösse (*clearance*) bestimmt. Das Plasma selbst ist aufgrund der geringen Löslichkeit für Sauerstoff für einen erheblichen Anteil am Diffusionswiderstand verantwortlich, nach Hämodilution fällt dies noch stärker ins Gewicht.[48] Eggleton et al konnten in einem mathematischen Modell nachweisen, dass die durch PFC-Gabe gesteigerte Sauerstofflöslichkeit des Plasmas eine Abnahme des intrakapillären O_2-Widerstandes zur Folge hatte.[42] Dieser Effekt war unter der Annahme, dass die PFC-Partikel sich bevorzugt in der äussersten Gefässschicht nahe dem Endothel aufhalten[86], noch ausgeprägter.

Die erhöhte Sauerstofflöslichkeit des Plasmas nach PFC-Gabe führt folglich zu einer verbesserten Diffusion des Sauerstoffs aus den Erythrozyten ins Plasma und anschliessend weiter ins Gewebe. Hogan[79] untersuchte in diesem Kontext die Sauerstoffaufnahme am maximal arbeitenden Skelettmuskel des Hundes vor und nach Verabreichung von 6g/kg KG einer 90%-igen Perflubron®-Lösung. Die Gabe von Perflubron® bewirkte zwar eine Zunahme der maximalen Sauerstoffaufnahme des Muskels, die Steigerung entsprach aber lediglich der Zunahme des konvektiven Sauerstofftransportes im Blut, Hogan konnte letztendlich den Effekt der erleichterten Diffusion in seiner Untersuchung nicht bestätigen. Dies gelang dagegen in Tierexperimenten, in denen, da unter Raumluft durchgeführt, die durch PFC transportierte Sauerstoffmenge bedeutungslos war.[155,167] Auch am isoliert schlagenden Herzen im Langendorff-Modell konnte die Wirksamkeit von PFC nachgewiesen werden. Wird der pO_2 und damit der arterielle Sauerstoffgehalt erniedrigt, kommt es zu einer Steigerung der Koronarperfusion, um das Sauerstoffangebot dem (konstanten) Sauerstoffbedarf anzupassen (metabolische Regulation). Wurde dem Perfusat dagegen vor Absenken des pO_2 Perflubron® zugesetzt, blieb die

kompensatorische Flussteigerung aus.[12] Der gleiche Effekt könnte also in unserer Untersuchung für die tendenziell niedrigere Koronarperfusion verantwortlich sein.

4.4.4 Myokardoxygenierung

Wie bereits vorher erläutert, wird die Oxygenierung des Herzens durch Veränderungen der koronaren Perfusion dem jeweiligen Bedarf angepasst. Im Schock konnte die myokardiale DO_2 weitestgehend aufrechterhalten werden, da trotz eines erheblich erniedrigten koronaren Perfusionsdruckes der myokardiale Blutfluss durch eine maximale Vasodilatation annähernd gleich blieb. Die myokardiale VO_2 blieb im Schock unverändert, dies wurde durch eine Steigerung der myokardialen Extraktionsrate auf 81% (PFC) bzw. 82% (HAES) sichergestellt, die Werte liegen demnach nur knapp unter der von Daniell beschriebenen maximalen Extraktionsrate von 84%.[28] Obwohl die VO_2 konstant über 8-10 ml $O_2 \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ lag, ein Wert der als Ruhebedarf beschrieben ist[77], bildete sich eine Myokardischämie aus (Tab. 10), da im Schock nun ein Missverhältnis zwischen O_2-Bedarf (gesteigert) und O_2-Angebot (konstant) vorlag. Der Zustand der insuffizienten Bedarfsdeckung wurde durch die im Schock auftretende Redistribution der regionalen Myokardperfusion zusatzlich aggraviert. Die aufgrund der Tachykardie stark reduzierte diastolische Perfusionsdauer (vgl. Abb. 2) führte in Verbindung mit dem erniedrigten koronaren Perfusionsdruck zu einer Umverteilung des myokardialen Blutflusses von subendo- zu subepikardialen Gebieten. Die schockbedingte Redistribution des myokardialen Blutflusses stellt den entscheidenden pathophysiologischen Faktor in der Entwicklung der subendokardialen Ischämie dar, da hier die Kompensationsmechanismen als erstes erschöpft werden. In unseren Experimenten führte die stärkere Perfusionseinschränkung im Subendokard zu einem Abfall der subendokardialen DO_2. Selbst die maximale Vasodilatation konnte hier den Bedarf nicht mehr decken, da der kritische Perfusionsdruck im Subendokard höher liegt und somit die Koronarreserve früher ausgeschöpft wird.[20] Der sensi-

tivste Parameter einer subendokardialen Ischämie ist die EER, die in 17 von 18 Tieren unter dem kritischen Wert 1 lag, die Senkung der ST-Strecke war weniger häufig ausreichend negativ (Tab. 10).

Die interstitielle Lactatkonzentration stieg als Ausdruck der Zunahme des anaeroben Metabolismus stark an, im Gegenzug sank die myokardiale Lactatextraktion, beides die Minderversorgung des Myokards kennzeichnend.

Anzahl der ischämischen Tiere						
		Schock	**Therapie**	**30' pT**	**60' pT**	**180' pT**
ST II [mV]	*PFC*	8 / 10	5 / 10	4 / 10	3 / 9	1 / 9
	HAES	6 / 10	3 / 10	1 / 9	0 / 9	1 / 8
ST V_5 [mV]	*PFC*	6 / 10	3 / 10	1 / 10	0 / 9	0 / 9
	HAES	5 / 10	3 / 10	0 / 9	0 / 9	0 / 8
EER	*PFC*	8 / 9	2 /10	4 /10	3 / 9	8 / 9
	HAES	9 / 9	3 / 9	3 / 9	3 / 9	7 / 8

Tabelle 10: Anzahl der ischämischen Tiere der beiden Versuchsgruppen zu 5 Messzeitpunkten. Angabe der ischämischen Tieren im Verhältnis zur Gesamtzahl der Gruppe. **ST II** = ST-Strecken-senkung in Ableitung II. **ST V_5** = ST-Streckensenkung in Ableitung V_5. **EER** = Endo-Epi-Ratio.

Der starke Anstieg der myokardialen und subendokardialen DO_2 nach Therapie ist, da der arterielle Sauerstoffgehalt eher noch geringfügig abfiel, auf die starke Perfusionssteigerung zurückzuführen. Der signifikant höhere Anteil des Plasmas an der DO_2 in der PFC-Gruppe (pT und 30'pT) geht auf den erhöhten Plasmaanteil des arteriellen Sauerstoffgehalts zurück, der Anteil von PFC betrug in dieser Zeit 4-5%. Im weiteren Verlauf bis 60'pT fiel die DO_2 proportional der koronaren Perfusion ab. Da in dieser Zeit der koronare Perfusionsdruck konstant blieb, ist dieser Abfall als metabolische Regulation zu interpretieren, d.h. dass der Sauerstoffbedarf des Herzens gedeckt werden konnte und die initiale höhere DO_2 dem Abbau der im Schock eingegangenen kardialen O_2-Schuld diente. Dies wird auch an den Ischämieparametern (Tab.10) ersichtlich, die EER lag in der ersten Stunde in beiden Gruppen über 1 und kennzeichnet folglich eine ausreichende Deckung des kardialen O_2-Bedarfs. Die tendenziell

frühere Abfall der interstitiellen Lactatkonzentration und die zum Zeitpunkt 30'pT signifikant höhere myokardiale Lactatextraktionsrate sind möglicherweise Ausdruck einer geringfügig besseren Oxygenierung in der PFC-Gruppe.

Die Rückbildung der Ischämie und der Abbau der Sauerstoffschuld hätten eine initial gesteigerte myokardiale VO_2 erwarten lassen, erstaunlicherweise blieb sie in unserer Untersuchung auch nach Therapie weitestgehend unverändert, der von Perflubron® transportierte Sauerstoff wurde zu über 90% ans Gewebe abgegeben und war damit an 6-7% der myokardialen VO_2 beteiligt. Es fiel auf, dass die myokardiale O_2-Extraktionsrate nach Therapie mit nur 40-50% deutlich unter dem physiologischen Wert (50-60%) lag. Daraus könnte man schliessen, dass zur Deckung des Bedarfs nicht mehr Sauerstoff aufgenommen werden musste und die Gewebeoxygenierung bereits optimal war. Der relativ hohe koronarvenöse pO_2 kann ebenfalls als Verbesserung der Myokardoxygenierung interpretiert werden. Wieso kam es dann nicht zu einer weiteren Drosselung der koronaren Perfusion? Eine mögliche Erklärung könnte die Zunahme der kapillaren Durchflußgeschwindigkeit im Rahmen der Hämodilution sein. Hierdurch kommt es zu einer Abnahme der Transitzeit und konsekutiv zu einer erschwerten Sauerstoffextraktion aus dem Blut ins Gewebe. Andererseits führt der erniedrigte Hämatokrit nach Hämodilution zu einer Vergrösserung des intererythrozytären Abstands, was eine Zunahme des intrakapillären O_2-Diffusionswiderstandes nach sich zieht.[48] Zwar wurden von uns zu späteren Messzeitpunkten wieder Extraktionswerte über 60% gemessen, was obiger Theorie entgegenspräche, allerdings konnten auch zum Messzeitpunkt 180'pT, als die Tiere wieder hypovolämisch und ischämisch (EER < 1, erneuter Anstieg des interstitiellen Lactats) waren, bei eingeschränkter Myokardperfusion nicht mehr als 70% des angebotenen Sauerstoffs ausgeschöpft werden, was den Verdacht einer eingeschränkten Sauerstoffextraktion erhärtet.

In der PFC-Gruppe war die O_2-Extraktion direkt nach Therapie (50% vs. 40%) und eine Stunde nach Therapie (64% vs. 55%) etwas höher als in der Kontrollgruppe (zu beiden Zeit-

punkten statistisch nicht signifikant), ohne dass dies jedoch zu einer insgesamt höheren myokardialen VO_2 geführt hat. Die Ausschöpfung des hämoglobingebundenen Sauerstoffs betrug zum Zeitpunkt pT 37±8% (PFC) bzw. 29±10% (HAES), dieser Unterschied war nicht signifikant. Möglicherweise stellt diese Tendenz den messbaren Nachweis der durch Perflubron® vermittelten erleichterten Diffusion des Sauerstoffs aus den Erythrozyten über das Plasma ins Gewebe dar.[42] Die Modulierung der Diffusionsbarriere durch Perflubron® könnte vor allem im Kontext der durch die Hämodilution eingeschränkten Transitzeit relevante Bedeutung in der Sicherstellung der Gewebeoxygenierung erhalten.
Zusammenfassend kann gesagt werden, dass Perflubron® in der von uns gewählten Dosierung nur marginale Effekte auf die Myokardoxygenierung hatte.

4.4.5 Myokardfunktion

Die myokardiale Funktion im Schock und nach Therapie ist vorwiegend von der ausreichenden Versorgung des Herzens mit Energiesubstraten und Sauerstoff abhängig, entscheidend sind hierbei der koronare Perfusionsdruck und der daraus resultierende Blutfluß.[28,62] Weitere Faktoren sind die kardiale Vor- und Nachlast, eine bestehende Azidose[39] kann sich in Abhängigkeit von der sympathischen Aktivität negativ auf die Kontraktilität auswirken.
Die maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit ($LVdpdt_{max}$) war zu Baseline in der Kontrollgruppe signifikant höher. Da $LVdpdt_{max}$ ein vorlastabhängiger Parameter ist, könnte der Unterschied durch unterschiedliche Füllungsdrücke verursacht worden sein, der linksventrikuläre enddiastolische Druck war aber in beiden Gruppen gleich (7,0 vs. 6,0 für PFC vs. HAES, n.s.). Auch 180'pT war $LVdpdt_{max}$ in der Kontrollgruppe signifikant höher als in der Verumgruppe, der LVedP war wiederum vergleichbar (6,0 vs. 4,5 für PFC vs. HAES, n.s.). Die Werte für $LVdpdt_{max}$ hatten zu diesem Zeitpunkt in etwa ihr Baseline-Niveau erreicht, wir messen daher diesem Unterschied keine weitere Bedeutung zu.

Im Schock kam es zu der erwarteten Einschränkung der systolischen und diastolischen Funktionsparameter, die diastolische Relaxationskonstante τ sank allerdings geringfügig ab, was an sich eine Verbesserung der Relaxation kennzeichnet. Es ist bekannt, dass eine Erhöhung der Herzfrequenz, respektive eine Verkürzung der Diastolendauer, zu einer Verkleinerung von τ führt. Ebenso ist nachgewiesen, dass positiv inotrope Substanzen, wie Norepinephrin oder Isoproterenol, die diastolische Relaxation beschleunigen.[52,87,201] Da es im Schock durch die sympathikoadrenerge Reaktion (SAR) zu einer starken Ausschüttung endogener Katecholamine kommt, könnte dies, in Zusammenhang mit der ausgeprägten Tachykardie, die erwartete ischämiebedingte Verlängerung von τ aufgehoben haben. Pape et al untersuchten den Einfluss des künstlichen Sauerstoffträgers DClHb auf die diastolische Relaxation nach hämorrhagischem Schock. Sie konnten im Schock, analog zu unseren Ergebnissen, ebenfalls keine Einschränkung der diastolischen Herzfunktion anhand von τ nachweisen.[143] Darüberhinaus führte die Gabe von DClHb initial sogar zu einer signifikant längeren diastolischen Relaxation, was die Autoren auf die durch DClHb ausgelöste Vasokonstriktion zurückführten. Zwar war der Unterschied 60 Minuten nach Therapie nicht mehr nachweisbar, dennoch musste die Hypothese, der künstliche Sauerstoffträger DClHb könnte die diastolische Herzfunktion verbessern, verworfen werden.

In unserer Untersuchung sank τ direkt nach Therapie in beiden Gruppen und signalisiert eine Verbesserung der diastolischen Funktion, dieser Effekt war aber bereits 30’pT aufgehoben. Auch die übrigen kardialen Funktionsparameter normalisierten sich nach Therapie wieder und zeigten keine signifikanten Unterschiede.

In Betracht der dargelegten Ergebnisse der Perfusion und Myokardoxygenierung ist es nicht verwunderlich, dass Perflubron® die Herzfunktion nicht verbessern konnte. In unserer Studie war die Myokardoxygenierung bereits in der Kontrollgruppe ausreichend wiederhergestellt, die Effekte durch die supplementive Gabe von Perflubron® blieben marginal.

Nach Therapie war der CPP ausreichend hoch, um dem Herzen die Autoregulation bzw. metabolische Regulation zu ermöglichen, der O_2-Bedarf war stets gedeckt und die Ischämie konnte beseitigt werden. Unter diesen Vorraussetzungen ist ein Persistieren einer eingeschränkten Herzfunktion ebenso wenig zu erwarten wie eine Verbesserung über die Ausgangsbedingungen hinaus.

Stern et al[174] untersuchten die Wirkung von supplementiv verabreichtem Perflubron® im Modell einer unkontrollierten Blutung. Die Tiere wurden durch eine definierte Aortenläsion bis zu einem Druck von 5 mmHg entblutet und anschliessend mit kristalloider Kochsalzlösung therapiert. Allen Versuchstieren wurde soviel Volumen infundiert, um einen Mitteldruck von 40 mmHg aufrechtzuerhalten, die Tiere der Verumgruppe erhielten zusätzlich 6ml/kg Perflubron®. In dieser Studie konnte zwar gezeigt werden, dass $LVdpdt_{max}$ in der Verum-Gruppe ab 90 Minuten nach Therapie tendenziell höher lag, allerdings hatte das Therapiekonzept, da die PFC-Gruppe einen geringeren Volumenbedarf aufwies, zu einem höheren Hämatokrit und folglich gesteigertem arteriellen Sauerstoffgehalt in der PFC-Gruppe geführt, was die Aussagefähigkeit der Studie und die Vergleichbarkeit mit unseren Daten stark einschränkt.

Im Gegensatz zu den hier vorgestellten Daten, konnte Perflubron® die Myokardfunktion in einer Untersuchung von Habler et al signifikant verbessern: Habler hämodiluierte Hunde bis zu einem Hämatokrit von 20%, verabreichte dann einer Versuchsgruppe 1,8g/kg Perflubron® und führte die Hämodilution unter einer FiO_2 von 1,0 bis zum Hämatokrit 9% fort. Obwohl zu diesem Zeitpunkt die PFC-Konzentration nur mehr 0,5 g/dl betrug und damit weit unter den Konzentrationen in unserer Schockstudie lag (2,2 g/dl), war die systolische und diastolische Herzfunktion gegenüber der Kontrollgruppe ohne Perflubron® signifikant besser, im übrigen ohne eine nachweisbare Verbesserung der Myokardoxygenierung.[68]

4.5 Kein Benefit von Perflubron® auf Myokardoxygenierung und Herzfunktion nach hämorrhagischem Schock – nur eine Frage der Dosis ?

Die Fähigkeit von Perflubron®, die Oxygenierung des Myokards[12,36,50] und die Herzfunktion[33-35,112,115,134,138,175] zu verbessern, konnte anhand vieler tierexperimenteller Modelle belegt werden. Dass supplementiv verabreichtes Perflubron® in der Therapie des hämorrhagischen Schocks grundsätzlich wirksam sein kann, zeigen unsere Daten für den globalen Sauerstofftransport und die Gewebeoxygenierung des Darmes (noch unveröffentliche Daten). In der ersten Stunde nach Therapie war die Sauerstoffaufnahme (VO_2) in der PFC-Gruppe signifikant höher und ermöglichte somit eine schnellere Reduktion der im Schock eingegangenen O_2-Schuld. Die Oxygenierung der Darmmucosa war in der PFC-Gruppe verbessert, erkennbar am höheren Gewebe-pO_2-Median und einer geringeren Anzahl hypoxischer pO_2-Werte. Warum konnten wir jedoch am Herzen keine relevante Wirkung von Perflubron®, sondern lediglich marginale Unterschiede, nachweisen?

1) Eine mögliche Erklärung ist eine zu geringe PFC-Konzentration im Blut, sie betrug nach Therapie 2,2 g/dl und sank bis zum letzten Messzeitpunkt bis auf 1,7 g/dl ab. Die daraus resultierende Sauerstofftransportkapazität war zu gering, um im Vergleich mit der Kontrollgruppe signifikante Verbesserungen zu bewirken. Dies kann allerdings nicht alleine für die nicht nachweisbare Wirkung verantwortlich gemacht werden.

2) Der fehlende Benefit durch Perflubron® wird zum Teil auch in Anbetracht der Tatsache verständlich, dass die Standardtherapie in unserem Modell, bestehend aus Restitution des Blutvolumens mittels kolloidaler Flüssigkeit und Beatmung mit reinem Sauerstoff, äusserst effektiv war. Die Hämodynamik und Herzfunktion konnten erfolgreich wiederhergestellt werden, die Oxygenierung des Herzens war stets gesichert, die im Schock entwickelte Myo-

kardischämie bildete sich zurück. Welchen Einfluss hierbei alleine die Beatmung mit reinem Sauerstoff hat, verdeutlichen Untersuchungen von Meier et al. In einer Schockstudie wurden Schweine einem hämorrhagischen Schock unterzogen (MAP 35-40 mmHg für 60 Minuten), die Therapie beinhaltete die Gabe von HAES 6% in der Menge des entzogenen Plasmavolumens, sowie die Beatmung mit Raumluft (Kontrollgruppe) bzw. 100% Sauerstoff (Therapiegruppe). Nach einer sechstündigen Beobachtungszeit waren 5 von 7 Kontrolltieren (71%) verstorben, alle wiesen Zeichen einer eingeschränkten Gewebeoxygenierung auf. Dagegen überlebten alle Tiere, die hyperoxisch beatmet worden waren ($p<0,05$), die Gewebeoxygenierung blieb aufrechterhalten.[124] In einer anderen Studie wurden Schweine zunächst bis zum kritischen Hämatokrit normovolämisch hämodiluiert und anschliessend normoxisch (Kontrolle) oder hyperoxisch beatmet. Auch hier war die Mortalität der Hyperoxiegruppe mit 14% vs 100% (FiO_2 0,21) signifikant geringer.[125] Kemming et al konnten nachweisen, dass durch hyperoxische Beatmung nach Hämodilution bis zum kritischen Hämatokrit sowohl die periphere Gewebehypoxie aufgehoben, als auch die Myokardoxygenierung und Herzfunktion aufrechterhalten werden kann.[89,91]

In Anbetracht dieser Ergebnisse wird deutlich, wie immens effektiv, aber auch wie dringend notwendig, das „Medikament" Sauerstoff für den Organismus ist.

3) Es ist anzunehmen, dass bei wesentlich niedrigeren Hämoglobinkonzentrationen nach Therapie, und folglich gefährdeteren Kontrolltieren, die Effekte von supplementivem Perflubron® signifikant werden, da bei geringerem Gesamtsauerstoffgehalt im Blut der relative Anteil von PFC natürlich steigen würde. Die optimale Therapie der Kontrolltiere kann die fehlende Effizienz in unserer Untersuchung teilweise erklären, stellt andererseits selbst ein Teilergebnis unserer Experimente dar.

Um die möglicherweise signifikante Wirkung höherer PFC-Konzentrationen zu untersuchen,

planten wir die Durchführung einer dritten Versuchsreihe, die als Hochdosisgruppe 5,4g/kg Perflubron® erhalten sollte. Nach neuesten Erkenntnissen kann diese Dosis ohne zu erwartende toxische Effekte appliziert werden. Während der Planungsphase dieser Hochdosisgruppe haben wir allerdings bei den neu erworbenen Versuchstieren eine Durchseuchung mit Mycoplasma canis (vgl. 4.2.2) nachgewiesen, was uns zum Abbruch der zusätzlich geplanten Studie veranlasste, da ein Einfluss der Erreger auf den Verlauf und Ausgang der Experimente weder vorhersagbar, noch sicher auszuschliessen war.

Dass die verabreichte Dosis von 2,7g/kg zu gering war, um signifikant wirksam zu sein, ist wohl auch erheblich dadurch bedingt, dass die von Alliance Pharmaceuticals Corp. bestimmte PFC-Konzentration nur ca. 60% des erwarteten Wertes (berechnet aus der applizierten PFC-Menge und dem Blutvolumen) entsprach (Abb. 36).

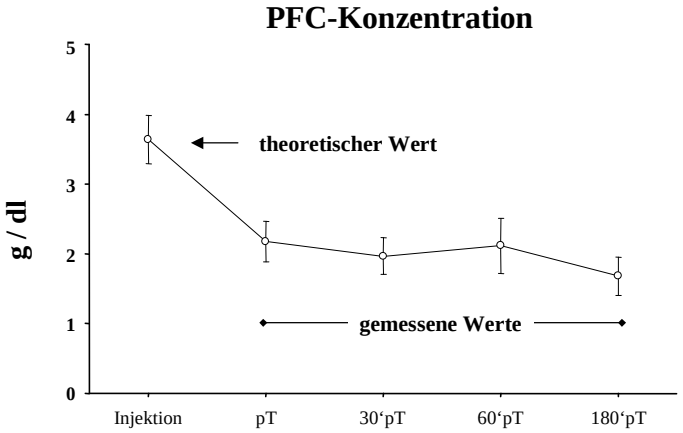


Abb. 36:

Verlauf der PFC-Konzentration im Vollblut. Der Wert zum Zeitpunkt *Injektion* wurde aus der applizierten Menge und dem aktuellen Blutvolumen errechnet. Die Werte zu den weiteren Zeitpunkten wurden durch Gaschromatographie bestimmt. Zwischen Injektion und erster Blutabnahme lagen ca. 15 Minuten.

Für diese Differenz kommen folgende Ursachen in Betracht:

1. Messfehler während der gaschromatographischen Analyse
2. Systematischer Anwendungsfehler
3. Gesteigerte Elimination des PFC durch Zellen des RES

Ad 1) Die gaschromatographische Analyse wurde wiederholt durchgeführt und ergab vergleichbare Ergebnisse. Im Übrigen ist diese Methode seit längerem von Alliance Pharmaceuticals Corp. zur Bestimmung der PFC-Konzentration etabliert und hatte stets zuverlässige und plausible Daten geliefert. Es kann demnach nicht von einem Messfehler ausgegangen werden.

Ad 2) Die Substanz wurde nach Anlieferung in unserem Institut unverzüglich kühl gelagert. Vor Injektion wurde das Perflubron® passiv auf Zimmertemperatur erwärmt und während dieser Zeit vorsichtig geschwenkt, um eine homogene Durchmischung der PFC-Mizellen zu gewährleisten. Auch nach Abfüllen in die Injektionsspritzen wurde die Schwenkung bis zur endgültigen Injektion fortgeführt, um einer erneuten Aggregation der Mizellen vorzubeugen. Retrospektiv ist uns in der Behandlung der Substanz kein Fehler aufgefallen, der zu einer Schädigung oder Funktionseinschränkung des Perflubron® geführt haben könnte. Während der Planung der letztlich nicht durchgeführten Hochdosisgruppe untersuchten wir in zwei Pilotversuchen, ob die Verdoppelung der Dosis auf 5,4g/kg überhaupt zu höheren und somit potentiell wirksameren PFC-Konzentrationen führen würde (Abb. 37). Zu diesem Zweck wurden bei zwei Tieren, die in Allgemeinanästhesie künstlich beatmet wurden, ein arterieller und venöser Gefäßzugang in der Leiste geschaffen. Nach einmaliger Messung des Blutvolumens, verabreichten wir 5,4g/kg Perflubron® und entnahmen über drei Stunden arterielle Proben zur

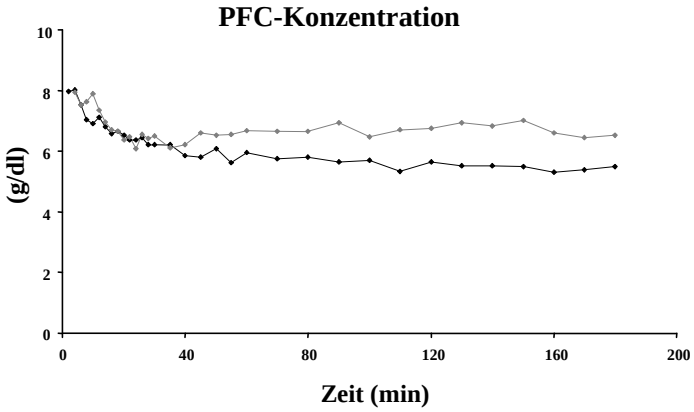


Abb. 37:

Verlauf der PFC-Konzentration im Vollblut. Die beiden Kurven stellen die zwei Pilotversuche der Hochdosisgruppe mit 5,4 g/kg dar.

späteren Konzentrationsbestimmung. Die Probenentnahme erfolgte in den ersten 30 Minuten in zweiminütigen, in den nächsten 30 Minuten in fünfminütigen und für die restliche Zeit in 10-minütigen Abständen. Die gaschromatographische Analyse durch Alliance Pharmaceuticals Corp. ergab, dass wir in beiden Pilotexperimenten 100% des applizierten Perflubron® im Blut wiederfanden und dass die Blutspiegel über den dreistündigen Beobachtungszeitraum nur langsam, der intravasalen Halbwertszeit von 4-5 Stunden entsprechend, abfielen. Aufgrund dieser beiden Pilotversuche kann man einen Messfehler oder einen systematischen Fehler während des Experiments wohl endgültig ausschliessen und muss davon ausgehen, dass die fehlenden 40% der Substanz in den ersten 15 Minuten nach Injektion aus der Zirkulation eliminiert und damit wirkungslos wurden. Da die beiden Pilottiere weder der vollständigen chirurgischen Präparation noch dem hämorrhagischem Schock unterzogen wurden, liegt der Verdacht nahe, dass diese Faktoren eine entscheidende Rolle gespielt haben könnten.

Ad 3) Der starke Konzentrationsabfall könnte letztlich durch massive Phagozytose des injizierten Perflubron® verursacht worden sein. Der hämorrhagische Schock stellt für den Organismus ein schädigendes Ereignis im Sinne eines globalen Ischämie-Reperfusionsschadens dar, in dessen Folge es u.a. zu einer ausgeprägten inflammatorischen Abwehrreaktion, inklusive der Ausschüttung einer Vielzahl von Entzündungsmediatoren, kommt, welche wiederum eine entscheidende Rolle in der möglichen Entwicklung eines SIRS oder Multiorganversagens spielen.[147] Es werden vermehrt Metaboliten des Arachidonsäurestoffwechsel wie Prostazyklin, Thromboxan A_2 und Leukotriene freigesetzt, letztere führen u.a. zu einer vermehrten Zytokinfreisetzung aus Monozyten. Prostaglandin E_2 (PGE_2), das v.a. aus peritonealen Makrophagen und hepatischen Kupffer-Zellen sezerniert wird, ist entscheidend an der Entwicklung einer Immunsuppression nach hämorrhagischem Schock beteiligt, da es infolge der erhöhten PGE_2-Spiegel zu einer verminderten Proliferation von T-Zellen, geringeren Produktion von

Interleukin-2 (IL-2) und Tumor-Nekrose-Faktor α (TNFα) und zu einer Abnahme der Antigenpräsentation durch MHC-II-Proteine kommt. Bereits früh in der Schockphase ist eine Aktivierung des Komplementsystems zu beobachten. Die Freisetzung von TNFα und Interleukin-6 (IL-6) ist gesteigert, die von IL-2 und der Interferone dagegen vermindert.[147]

Es wäre demnach denkbar, daß Makrophagen durch die TNFα-Sekretion aktiviert werden und die Elimination der Perflubron®-Mizellen dadurch beschleunigt ist. Rhee et al konnten nachweisen, dass Monozyten und TNFα während eines hämorrhagischen Schocks vermehrt ins Blut abgegeben werden, die Anzahl zirkulierender phagozytierender Zellen wäre demnach zum Zeitpunkt der Therapie erhöht. Es ist bekannt, dass der Schock zu einer Aktivierung und Hyperphagozytose der Kupffer-Zellen in der Leber führt, die ca. 70% der körpereigenen Phagozyten repräsentieren.[82,161]

Die Standardisierung des Schocks über die kumulative O_2-Schuld führte in unseren Versuchen zu sehr langen Schockzeiten, während deren die oben dargelegten Prozesse sicher angelaufen waren. Die Verlaufsanalyse der PFC-Konzentration in unserer Studie (Abb. 36) zeigt einen steilen Abfall in den ersten 15 Minuten (Zeitspanne zwischen Injektion und erster Blutabnahme), ab der ersten gaschromatographischen Messung (pT) dagegen einen sehr stabilen Verlauf. Unter der Annahme einer homogenen Verteilung des gesamten Perflubron® in der Zirkulation impliziert Abb. 36, dass ca. 40% des PFC innerhalb der ersten 15 Minuten phagozytiert wurden, anschliessend jedoch eine sehr viel geringere Eliminationsrate zu beobachten ist. Es hätte folglich zu einer initialen Sättigung des RES kommen müssen, was bei der Dosis von 2,7g/kg eigentlich nicht zu erwarten ist. Dieser Umstand lässt die Hypothese einer beschleunigten Elimination aufgrund einer Aktivierung der Makrophagen zugegebenermassen zweifelhaft erscheinen. Welche Ursache letztlich für die geringen PFC-Konzentrationen in unseren Experimenten verantwortlich ist, kann an dieser Stelle nicht geklärt werden.

Die vorliegende Untersuchung stellt die einzige Schockstudie dar, in der PFC-Konzentratio-

nen gaschromatographisch gemessen wurden und somit ein Vergleich mit der applizierten Menge erlaubt. Alle bisherigen Untersuchungen bestimmten lediglich den Fluorokrit, der, analog dem Hämatokrit, als relativer Anteil des PFC an einer Blutsäule nach Zentrifugation gemessen werden kann. Henry et al konnten allerdings zeigen, dass vom Fluorokrit nicht zuverlässig auf die Blutkonzentration geschlossen werden kann und somit berechnete Parameter des Sauerstofftransports und der Gewebeoxygenierung potentiell fehlerhaft sind.[72] Es ist also durchaus möglich, dass auch in den bisher durchgeführten Studien zur Anwendung von Perfluorocarbonen in der Schocktherapie ein vergleichbarer Verlust der Substanz aufgetreten ist, dies aber wegen der nicht durchgeführten Konzentrationsmessung bisher nie aufgefallen ist. Sollte sich in weiteren Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Perfluorocarbonen tatsächlich herausstellen, dass die Bioverfügbarkeit nach hämorrhagischem Schock so stark eingeschränkt ist, wie es unsere Ergebnisse nahelegen, würde dies eine Schocktherapie mit Perfluorocarbonen sehr in Frage stellen.

5. Zusammenfassung

Der hämorrhagische Schock stellt ein lebensbedrohliches Ereignis dar, da die Minderversorgung der Organe mit Sauerstoff zur Entwicklung einer Gewebehypoxie und konsekutiv zu funktionellen und strukturellen Organschäden führt. Das Herz spielt eine zentrale Rolle in der schockspezifischen Pathophysiologie und ist besonders vom Auftreten einer Ischämie bzw. Funktionsverlust bedroht. Wir vermuteten deshalb, daß die supplementive Gabe von 2,7g/kg Perflubron® 60% der Standardtherapie, bestehend aus kolloidalem Volumenersatz und Beatmung mit reinem Sauerstoff, überlegen sein könnte.

Ziel unserer Studie war es, die Wirkung von Perflubron® 60% auf die Myokardoxygenierung und Herzfunktion nach hämorrhagischem Schock im tierexperimentellen Modell des splenektomierten, anästhesierten Hundes zu untersuchen.

Zu diesem Zweck wurden 24 Beagle-Hunde unter Raumluft einem druckpassiven Blutentzug bis zu einem arteriellen Mitteldruck von 45 mmHg unterzogen und anschliessend auf diesem Druckniveau gehalten, bis eine mittlere Gesamtsauerstoffschuld von 120 ml/kg erreicht war. Die Therapie erfolgte randomisiert und geblindet und beinhaltete neben der Beatmung mit reinem Sauerstoff den Ersatz des im Schock entzogenen Blutvolumens durch HAES 6% inklusive 4,5ml/kg Perflubron® 60% (PFC-Gruppe) oder 4,5ml NaCl 0,9% (HAES-Gruppe). Neben dem Blutvolumen wurden hämodynamische Parameter für die Berechnung der systolischen und diastolischen Herzfunktion aufgezeichnet. Die Myokardoxygenierung wurde anhand der arteriellen und koronarvenösen Blutgase sowie mittels der interstitiellen Lactatkonzentration (Mikrodialyse) bestimmt. Zur Beurteilung der Myokardischämie dienten die ST-Streckenanalyse und die Endo-Epi-Perfusions-Ratio. Die regionale Perfusion des Myokards wurde mithilfe fluoreszierender Mikrosphären gemessen.

Die Ergebnisse der Kontrollgruppe zeigen, dass die Therapie bestehend aus Volumenrestitution mit Kolloiden und der Beatmung mit reinem Sauerstoff effektiv in der Wiederherstellung der Makrohämodynamik und der Herzfunktion ist. Der Sauerstoffbedarf des Herzens konnte gedeckt werden, die im Schock entwickelte Myokardischämie bildete sich zurück.

Die supplementive Gabe von Perflubron® 60% bewirkte weder eine signifikante Verbesserung der Myokardoxygenierung noch der Herzfunktion, noch wurde die Rückbildung der Myokardischämie beschleunigt. Allerdings ist die Koronarperfusion in der ersten Stunde nach Therapie tendenziell niedriger (statistisch nicht signifikant). Da die Koronarperfusion dem Sauerstoffbedarf angepasst wird, sind die niedrigeren Flusswerte möglicherweise auf die Wirkung von Perflubron® zurückzuführen, eine verbesserte Utilisation des angebotenen Sauerstoffs durch Perflubron® wäre eine plausible Erklärung.

Die fehlende Effektivität von Perflubron® 60% in unserer Untersuchung ist möglicherweise durch zu geringe Wirkstoffkonzentrationen im Blut bedingt, da nur ca. 60% der erwarteten Substanzmenge im Blut gemessen wurde. Die Ursache des starken Konzentrationsabfall von Perflubron® im Plasma kann in dieser Untersuchung letztlich nicht geklärt werden, ist aber möglicherweise durch die Pathophysiologe des Schocks selbst bedingt.

Wir folgern, dass am Herzen kein benefizieller Effekt von supplementiv verabreichtem Perflubron® auftrat. Eine Ursache hierfür liegt in der ineffektiv niedrigen PFC-Konzentration im Blut; ob eine höhere Dosis eine signifikante Verbesserung bewirken kann, ist ungewiss. Die von uns verabreichte niedrige Dosis ermöglichte eine tendenziell geringere myokardiale Perfusion und Ausschöpfung der Koronarreserve. Dies lässt als Ausblick vermuten, dass Perflubron® bei eingeschränkter Koronarreserve der alleinigen Standardtherapie überlegen sein könnte. Ziel weiterführender Untersuchungen muß es demnach sein, die Effektivität von höherdosiertem Perflubron® in Modellen mit einer Koronarstenose nachzuweisen.

6. Abkürzungsverzeichnis

AOP_{dia}	diastolischer Aortendruck
AOP_{sys}	systolischer Aortendruck
BV	Blutvolumen
BVI	Blutvolumenindex
CaO_2	arterieller Gesamtsauerstoffgehalt
$CaO_{2\ Hb}$	arterieller Sauerstoffgehalt Hämoglobin
$CaO_{2\ PFC}$	arterieller Sauerstoffgehalt Perflubron®
$CaO_{2\ phys}$	arterieller Sauerstoffgehalt physikalisch
$CaO_{2\ Plasma}$	arterieller Sauerstoffgehalt Plasma
CcO_2	koronarvenöser Gesamtsauerstoffgehalt
$CcO_{2\ Hb}$	koronarvenöser Sauerstoffgehalt Hämoglobin
$CcO_{2\ PFC}$	koronarvenöser Sauerstoffgehalt Perflubron®
$CcO_{2\ phys}$	koronarvenöser Sauerstoffgehalt physikalisch
$CcO_{2\ Plasma}$	koronarvenöser Sauerstoffgehalt Plasma
CPP	koronarer Perfusionsdruck
CvO_2	gemischtvenöser Sauerstoffgehalt
$cvpO_2$	koronarvenöser Sauerstoffpartialdruck
CVP	zentralvenöser Druck
CVRI	koronarvaskulärer Widerstandsindex
DO_2I	Sauerstoffangebotsindex
DO_2I_{phys}	physikalischer Anteil der DO_2I
DO_2I_{phys} %	relativer physikalischer Anteil der DO_2I
eDO_2	subendokardiales Sauerstoffangebot
EER	Endo-Epi-Ratio

FiO_2	inspiratorische Sauerstoffkonzentration
$Flow_{myoc}$	myokardiale Perfusion
$Flow_{myoc}$%	myokardiale Koronarreserve
$Flow_{endo}$	subendokardiale Perfusion
$Flow_{endo}$%	subendokardiale Koronarreserve
$Flow_{epi}$	subepikardiale Perfusion
Hb	Hämoglobinkonzentration
HR	Herzfrequenz
Hkt	Hämatokrit
HZV	Herzzeitvolumen
HZVI	Herzzeitvolumenindex
ICG	Indocyanin-Grün
KG	Körpergewicht
KO	Körperoberfläche
$Lact_{art}$	arterielle Lactatkonzentration
$Lact_{cv}$	koronarvenöse Lactatkonzentration
Lact-ER	myokardiale Lactatextraktionsrate
Lact interst.	interstitielle myokardiale Lactatkonzentration
$LVdpdt_{max}$	maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit
$LVdpdt_{min}$	maximale linksventrikuläre Druckabfallsgeschwindigkeit
LVedP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVP	linksventrikulärer Spitzendruck
LVSWI	linksventrikulärer Schlagarbeitsindex
MAP	mittlerer arterieller Druck
mDO_2	myokardiales Sauerstoffangebot

$mDO_{2\ Hb}$	Hämoglobinanteil an mDO_2
$mDO_{2\ Hb}$ %	relativer Hämoglobinanteil an mDO_2
$mDO_{2\ PFC}$	Perflubron®-Anteil an mDO_2
$mDO_{2\ PFC}$ %	relativer Perflubron®-Anteil an mDO_2
$mDO_{2\ phys}$	physikalischer Anteil an mDO_2
$mDO_{2\ phys}$ %	relativer physikalischer Anteil an mDO_2
mO_2ER	myokardiale Sauerstoffextraktionsrate
mO_2ER_{Hb}	myokardiale Sauerstoffextraktionsrate des Hämoglobins
mO_2ER_{PFC}	myokardiale Sauerstoffextraktionsrate des Perflubron®
mO_2ER_{phys}	myokardiale physikalische Sauerstoffextraktionsrate
mVO_2	myokardialer Sauerstoffverbrauch
$mVO_{2\ Hb}$	Hämoglobinanteil an mVO_2
$mVO_{2\ Hb}$ %	relativer Hämoglobinanteil an mVO_2
$mVO_{2\ PFC}$	Perflubron®-Anteil an mVO_2
$mVO_{2\ PFC}$ %	relativer Perflubron®-Anteil an mVO_2
$mVO_{2\ phys}$	physikalischer Anteil an mVO_2
$mVO_{2\ phys}$ %	relativer physikalischer Anteil an mVO_2
paO_2	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PAP	pulmonalarterieller Druck
PEEP	positiver end-exspiratorischer Druck
PFC	Perflubron®-Konzentration im Vollblut
PVRI	pulmonalvaskulärer Widerstandsindex
SaO_2	arterielle Sauerstoffsättigung
ScO_2	koronarvenöse Sauerstoffsättigung
SI	Schlagvolumenindex

ST II	ST-Streckensenkung in Ableitung II
ST V_5	ST-Streckensenkung in Ableitung V_5
SV	Schlagvolumen
SVRI	systemischer vaskulärer Widerstandsindex
Tau (τ)	Zeitkonstante der isovolumetrischen Relaxation
VO_2I	Sauerstoffverbrauchsindex
VO_2I_{phys}	physikalischer Anteil der VO_2I
VO_2I_{phys} %	relativer physikalischer Anteil der VO_2I

7. Literaturverzeichnis

1. Abel FL, Cooper RH, Beck RR. Use of fluorescent latex microspheres to measure coronary blood flow distribution. *Circulatory Shock*. 1993;41:156-161.

2. Akiyama T, Yamazaki T, Ninomiya I. In vivo monitoring of myocardial interstitial norepinephrine by dialysis technique. *Am J Physiol*. 1991;261:H1643-H1647.

3. Alam HB, Uy GB, Miller D, et al. Comparative analysis of hemostatic agents in a swine model of lethal groin injury. *J Trauma*. 2003;54:1077-1082.

4. Alderson P BFLCLWPALLRISG. Human albumin solution for resuscitation and volume expansion in critically ill patients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;4:CD001208.

5. Bachofen M, Gage A, Bachofen H. Vascular response to changes in blood oxygen tension under various blood flow rates. *Am J Physiol.* 1971;220:1786-1792.

6. Barcroft J, Stephens JG. Observations upon the size of the spleen. *J Physiol*. 1927;64:1-22.

7. Baron JF, Vicaut E, Hou X, et al. Independent role of arterial O_2 tension in local control of coronary blood flow. *Am J Physiol*. 1990;258:H1388-H1394.

8. Bergofsky E, Bertun P. Response of regional circulations to hyeroxia. *J Appl Physiol.* 1966;21:567-572.

9. Bickell WH, Wall MJ, Jr., Pepe PE et al. Immediate versus delayed fluid resuscitation for hypotensive patients with penetrating torso injuries. *N Engl J Med*. 1994;331:1105-1109.

10. Bickell W, Bruttig S, Mollnamow A. The detrimental effects of intravenous crystalloid after aortotomy in swine. *Surgery*. 1991;110:529-536.

11. Biro GP. Central hemodynamics and blood flow distribution during infusion of perflubron emulsion or its vehicle: Effects in anesthetized dogs. *Art Cells Blood Subs Immob Biotech.* 1994;22:1343-1353.

12. Biro GP, Masika M, Korecky B. Oxygen delivery and performance in the isolated, perfused rat heart: comparison of perfusion with aqueous and perfluorocarbon-containing media. *Adv Exp Med Biol.* 1989;248:509-516.

13. Braun RD, Linsenmeier RA, Goldstick TK. New perfluorocarbon emulsion improves tissue oxygenation in cat retina. *J Appl Physiol.* 1992;72:1960-1968.

14. Brazier J, Cooper N, Maloney JV, et al. The adequacy of myocardial oxygen delivery in acute normovolemic anemia. *Surgery*. 1974;75:508-516.

15. Brazier JR, Buckberg GD. Effects of tachycardia on the adequacy of subendocardial oxygen delivery in experimental aortic stenosis. *Am Heart J*. 1975;90:222-230.

16. Brodey RS, Schalm OW. Hemobartonellosis and thrombocytopenic purpura in a dog. *JAVMA*. 1963;143:1231-1236.

17. Bruner H, Butzengeiger JH. Oxygen consumption after hemorrhage and reinfusion. *Arch Kreislaufforsch*. 1940;6:34.

18. Buckberg GD, Fixler DE, Archie JP, et al. Experimental subendocardial ischemia in dogs with normal coronary arteries. *Circ Res*. 1972;30:67-81.

19. Buckberg GD, Luck JC, Payne B, et al. Some sources of error in measuring regional blood flow with radioactive microspheres. *J Appl Physiol*. 1971;31[4]:598-604.

20. Canty JM, Giglia J, Kandath D. Effect of tachycardia on regional function and transmural myocardial perfusion during graded coronary pressure reduction in conscious dogs. *Circulation*. 1990;82:1815-1825.

21. Carrier O, Walker JR. Role of oxygen in autoregulation of blood flow in isolated vessels. *Am J Physiol*. 1964;206:951-954.

22. Chaudry IH, Baue AE. Overview of Hemorrhagic Shock. In: Cowely RA, ed. *Pathophysiology of Shock, Anoxia, and Ischemia*. Baltimore: Williams & Wilkins. 1982; 203-219.

23. Clark LC, Gollan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science*. 1966;152:1755-1756.

24. Cohn PF, Liedtke AJ, Serur J, et al. Maximal rate of pressure fall (peak negative dP-dt) during ventricular relaxation. *Cardiovasc Res*. 1972;6:263-267.

25. Conzen P, Hobbhahn J, Goetz A, et al. Myocardial contractility, blood flow, and oxygen consumption in healthy dogs during anesthesia with isoflurane or enflurane. *J Cardiothorac Anesth*. 1989;3:70-77.

26. Crowell JW, Smith EE. Oxygen deficit and irreversible hemorrhagic shock. *Am J Physiol*. 1964;206:313-316.

27. Dalmas S, Marsch SC, Philbin DM, et al. Effects and interactions of myocardial ischaemia and alterations in circulating blood volume on canine left ventricular diastolic function. *Br J Anaesth*. 1996;76:419-427.

28. Daniell HB. Coronary flow alterations on myocardial contractility, oxygen extraction, and oxygen consumption. *Am J Physiol.* 1973;225:1020-1025.

29. Daniell HB, Bagwell EE. Effects of high oxygen on coronary flow and heart force. *Am J Physiol.* 1968;214:1454-1459.

30. de Felippe jr J, Timoner J, Velasco I, et al. Treatment of refractory hypovolemic shock by 7,5% sodium chloride injection. *Lancet.* 1980;November 8:1002-1004.

31. Deakin CD, Allt-Graham J. Pre-hospital management of trauma patients: field stabilisation or scoop and run? *Clin Intensive Care*. 1993;4:24-27.

32. Deitch EA. Multiple Organ failure. *Ann Surg.* 1992;216:117-134.

33. del Balzo U, Harrel RA, Hedley SK, et al. Perflubron emulsion improves postischemic functional recovery in the isolated perfused rabbit heart. *FASEB J.* 1994;8:A559.

34. del Balzo U, Strnat C, Harrel R, et al. Perflubron emulsion: Effect on postischemic ventricular function in the isolated rabbit heart. *J Invest Med.* 1996;44:415A.

35. del Balzo U, Strnat C, Harrel R, et al. Myocardial protection with perflubron emulsion cardioplegia. *FASEB J.* 1995;9:A622.

36. del Balzo U, Strnat C, Harrel R, Flaim SF. Effects of perflubron emulsion on cardiac function and oxygenation in the supply-limited isolated, Langendorff perfused heart. *J Invest Med.* 1996;44:415A.

37. Dole WP. Autoregulation of the coronary circulation. *Prog Cardiovasc Dis*. 1987;29:293-323.

38. Downey JM. Myocardial contractile force as a function of coronary blood flow. *Am J Physiol.* 1976;230:1-6.

39. Downing SE, Talner NS, Gardner TH. Influences of hypoxemia and acidemia on left ventricular function. *Am J Physiol.* 1966;210:1327-1334.

40. Duling BR. Oxygen sensitivity of smooth muscle. *Am J Physiol.* 1974;227: 42-49.

41. Dunham CM, Siegel JH, Weireter L, et al. Oxygen debt and metabolic acidemia as quantitative predictors of mortality and the severity of the ischemic insult in hemorrhagic shock. *Crit Care Med.* 1991;19:231-243.

42. Eggleton CD, Roy TK, Popel AS. Predictions of capillary oxygen transport in the presence of fluorocarbon additives. *Am J Physiol.* 1998;275:H2250-H2257.

43. Erni D, Banic A, Wheatley AM, et al. Haemorrhage during anaesthesia and surgery: continuous measurement of microcirculatory blood flow in the kidney, liver, skin and skeletal muscle. *Eur J Anaesth*. 1995;12:423-429.

44. Evgenov OV, Pacher P, Williams W, et al. Parenteral administration of glipizide sodium salt, an inhibitor of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels, prolongs short-term survival after severe controlled hemorrhage in rats. *Crit Care Med*. 2003;31:2429-2436.

45. Faithfull NS. Artificial oxygen carrying blood substitutes. *Adv Exp Med Biol*. 1992;317:55-72.

46. Faithfull NS. Oxygen delivery from fluorocarbon emulsions – Aspects of convective and diffusive transport. *Biomat Art Cells Immob Biotech.* 1992;20:797-804.

47. Faithfull NS. Second generation Fluorocarbons. *Adv Exp Med Biol.* 1992;317:441-452.

48. Federspiel WJ, Popel AS. A theoretical analysis of the effect of the particulate nature of blood on oxygen release in capillaries. *Microvasc Res*. 1986;32:164-189.

49. Feigl EO. Coronary Physiology. *Physiol Rev*. 1983;63:1-205.

50. Flaim S. Efficacy of Perflubron-Based Emulsion as a Temporary Oxygen Carrier. *Red blood cell substitutes. Basic principles and clinical applications.* Edited by Rudolph AS, Rabinovici R, Feuerstein GZ. New York, Marcel Dekker, Inc. 1998; 79-117.

51. Flaim S. Medical and Therapeutic Applications of Perfluorocarbon-Based Products. *Red blood cell substitutes. Basic principles and clinical applications.* Edited by Rudolph AS, Rabinovici R, Feuerstein GZ. New York, Marcel Dekker, Inc. 1998; 437-464.

52. Frederiksen JW, Weiss JL, Weisfeldt ML. Time constant of isovolumic pressure fall: determinants in the working left ventricle. *Am J Physiol.* 1978;235:H701-H706.

53. Fronek A. Peripheral factors in irreversible hemorrhagic shock. *Physiologist.* 1976;19:541-551.

54. Gaasch WH, Blaustein AS, Andrias CW, et al. Myocardial relaxation. II. Hemodynamic determinants of rate of left ventricular isovolemic pressure decline. *Am J Physiol.* 1980;239:H1-H6.

55. Gallagher KP, Kumada T, Koziol JA, et al. Significance of regional wall thickening abnormalities relative to transmural myocardial perfusion in anesthetized dogs. *Circulation.* 1980;62:1266-1274.

56. Geyer RP. Whole animal perfusion with fluorocarbon dispersion. *Fed Proc.* 1970;29:1758-1763.

57. Geyer RP, Monroe RG, Taylor K. Survival of rats totally perfused with a fluorocarbon-detergent preparation. *Organ Perfusion and Preservation*. Norman JC, ed. New York: Appleton Century Crofts. 1968; 85-96.

58. Gleason WL, Braunwald E. Studies on the first derivative of the ventricular pressure pulse in man. *J Clin Invest*. 1962;41:80-91.

59. Glenny RW, Bernard S, Brinkley M. Validation of fluorescent-labeled microspheres for measurement of regional organ perfusion. *J Appl Physiol*. 1993;74:2585-2597.

60. Goodin TH, Grossbard EB, Kaufman RJ, et al. A perfluorochemical emulsion for prehospital resuscitation of experimental hemorrhagic shock: a prospective, randomized, controlled study. *Crit Care Med.* 1994;22:680-689.

61. Gould SA, Rosen AL, Sehgal LR, et al. Fluosol-DA as a red cell substitute in acute anaemia. *N Engl J Med*. 1986;314:1653-1656.

62. Granata L, Huvos A, Pasque A, et al. Left coronary hemodynamics during hemorrhagic hypotension and shock. *Am J Physiol*. 1969;216:1583-1589.

63. Gretillat S. Haemobartonellosis canis (Kiküth, 1928) in the blood of dogs with parvovirus disease. *J Small Anim Pract*. 1981;22:647-653.

64. Gross D, Landau EH, Klin B, et al. Treatment of uncontrolled hemorrhagic shock with hypertonic saline solution. *Surg Gynecol Obstet.* 1990;170:106-112.

65. Guo J, White JA, Batjer HH. Intravenous perflubron emulsion administration improves the recovery of auditory evoked potentials after temporary brain stem ischemia in dogs. *Neurosurgery*. 1995;36:350-356.

66. Guyton AC, Crowell JW. Dynamics of the heart in shock. *Fed Proc*. 1961;20 (Suppl. 9):51-60.

67. Guyton RA, McClenathan JH, Newman GE, et al. Significance of subendocardial S-T segment elevation caused by coronary stenosis in the dog. Epicardial S-T segment depression, local ischemia and subsequent necrosis. *Am J Cardiol*. 1977;40:373-380

68. Habler O, Kleen M, Hutter J, et al. IV Perflubron emulsion versus autologous transfusion in severe normovolemic anemia: effects on left ventricular perfusion and function. *Res Exp Med (Berl).* 1998;197:301-318.

69. Habler O, Kleen MS, Hutter JW, et al. Hemodilution and iv perflubron emulsion as an alternative to blood transfusion: effects on tissue oxygenation during profound hemodilution in anesthetized dogs. *Transfusion* 1998;38:145-55.

70. Harder DR, Narayanan J, Birks EK, et al. Identitification of a putative microvascular oxygen sensor. *Circ Res.* 1996;79:54-61.

71. Hein LG, Albrecht M, Dworschak M, et al. Long-term observation following traumatic-hemorrhagic shock in the dog: a comparison of crystalloidal vs. colloidal fluids. *Circ Shock.* 1988;26:353-364.

72. Henry CJ, Tyler JW, Fields T, et al. Accuracy of fluorocrit in determination of blood perflubron concentration. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* 1998;26:285-292.

73. Heymann SN, Goldfarb M, Darmon D, et al. Tissue oxygenation modifies nitric oxide bioavailibility. *Microcirc.* 1999;6:199-203.

74. Hirasawa H, Odaka M, Tabata Y, et al. Tissue blood flow in brain, liver, renal cortex, and renal medulla in experimental hemorrhagic shock. *Crit Care Med.* 1977;5:141-145.

75. Hobbhahn J, Conzen P, Forst H, et al. Einfluß von Inhalations-Anästhetika auf das Myokard. *Anaesthesist.* 1989;38 Suppl.:S561-S596.

76. Hoffman JI, Buckberg GD. Pathophysiology of subendocardial ischaemia. *Br Med J.* 1975;1:76-79.

77. Hoffman JIE. Transmural myocardial perfusion. *Prog Cardiovasc Dis.* 1987;29:429-464.

78. Hoffmann JN, Vollmar B, Laschke MW et al. Hydroxyethyl starch (130 kD), but not crystalloid volume support, improves microcirculation during normotensive endotoxemia. *Anesthesiology.* 2002;97:460-470.

79. Hogan MC, Willford DC, Keipert PE, et al. Increased plasma O_2 solubility improves O_2 uptake of in situ dog muscle working maximally. *J Appl Physiol.* 1992;73(6):2470-2475.

80. Holt JP, Rhode EA, Kines H. Ventricular volumes and body weight in mammals. *Am J Physiol.* 1968;215:704-715.

81. Hoskins JD. Canine haemobartonellosis, canine hepatozoonosis, and feline cytauxzoonosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1991;21:129-140.

82. Hunt JP, Hunter CT, Brownstein MR, et al. Alteration in Kupffer cell function after mild hemorrhagic shock. *Shock*. 2001;15:403-407.

83. Jeroukhimov I, Jewelewicz D, Zaias J, et al. Early injection of high-dose recombinant factor VIIa decreases blood loss and prolongs time from injury to death in experimental liver injury. *J Trauma*. 2002;53:1053-1057.

84. Jesch F, Klövekorn WP, Sunder-Plassmann L, et al. Importance of uptake in experimental hemorrhagic shock. *Res Exp Med (Berl)*. 1972;157:267-269.

85. Jesch F, Sunder-Plassmann L, Meßmer K. Importance of uptake in experimental hemorrhagic shock. A contribution to standardize shock models. *Res Exp Med (Berl)*. 1973;159:141-151.

86. Kameneva MV, Borovetz HS, Antaki JF, et al. Effect of perfluorochemical emulsion on hemorheology and shear induced blood trauma. Possible mechanisms and future applications. *Adv Exp Med Biol*. 1997;411:383-390.

87. Karliner JS, LeWinter MM, Mahler F, et al. Pharmacologic and hemodynamic influences on the rate of isovolumic left ventricular relaxation in the normal conscious dog. *J Clin Invest.* 1977;60:511-521.

88. Keipert PE, Faithfull NS, Roth DJ, et al. Supporting Tissue Oxygenation during Acute Surgical Bleeding using a Perfluorochemical-based Oxygen Carrier. *Adv Exp Med Biol.* 1996;388:603-609.

89. Kemming G, Meisner FG, Kleen M, et al. Hyperoxic ventilation at the critical haematocrit. *Resuscitation*. 2003;56:289-297.

90. Kemming G, Messick JB, Müller W, et al. Can we continue research in splenectomized dogs ? Mycoplasma haemocanis: old problem new insight. *Eur Surg Res.* 2004;36(4):198-205.

91. Kemming GI, Meisner FG, Meier J, et al. Hyperoxic ventilation at the critical hematocrit: effects on myocardial perfusion and function. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2004;48:951-959.

92. Kemming GI, Messick JB, Enders G, et al. Mycoplasma haemocanis infection--a kennel disease? *Comp Med*. 2004;54:404-409.

93. Kerins DM. Role of the perfluorocarbon Fluosol-DA in coronary angioplasty. *Am J Med Sci.* 1994;307:218-221.

94. Kim SH, Stezoski SW, Safar P, et al. Hypothermia and minimal fluid resuscitation increase survival after uncontrolled hemorrhagic shock in rats. *J Trauma*. 1997;42:213-222.

95. Komori M, Takada K, Tomizawa Y et al. Effects of colloid resuscitation on peripheral microcirculation, hemodynamics, and colloidal osmotic pressure during acute severe hemorrhage in rabbits. *Shock*. 2005;23:377-382.

96. Kramer G, Perron P, Lindsey D, et al. Small-volume resuscitation with hypertonic saline dextran solution. *Surgery*. 1986;100:239-245.

97. Kramer K, Luft UC. Mobilization of red cells and oxygen from the spleen in severe hypoxia. *Am J Physiol*. 1951;165:215-228.

98. Kreimeier U, Brückner U, Niemczyk S, et al. Hyperosmotic saline dextran for resuscitation from traumatic-hemorrhagic shock hypotension: Effect on regional blood-flow. *Circ Shock*. 1990;32:83-99.

99. Kreimeier U, Christ F, Frey L, et al. Small-volume resuscitation for hypovolemic shock. Concept, experimental and clinical results. *Anaesthesist* 1997;46:309-328.

100. Kwan I, Bunn F, Roberts I. Timing and volume of fluid administration for patients with bleeding. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;CD002245.

101. Lammerant J, De Schryver SC, Becsei I, et al. Response of the coronary circulation to hyperoxia in the anesthetized intact dog. *Arch Int Pharmacodyn Ther*. 1968;173:244-253.

102. Lang K, Boldt J, Suttner S et al. Colloids versus crystalloids and tissue oxygen tension in patients undergoing major abdominal surgery. *Anesth Analg*. 2001;93:405-409.

103. Lang RM, Marcus RH, Neumann A, et al. A time-course study of the effects of pentobarbital, fentanyl, and morphine chloralose on myocardial mechanics. *J Appl Physiol*. 1992;73:143-150.

104. Langer GA. Ion fluxes in cardiac excitation and contraction and their relation to myocardial contractility. *Physiol Rev*. 1968;48:708-757.

105. Lawson H. The measurement of bleeding volume in the dog for studies of blood substitutes. *Am J Physiol*. 1944;140:420-430.

106. Lester SL, Hume JB, Phipps B. Haemobartonella canis infection following splenectomy and transfusion. *Can Vet J*. 1995;36:444-445.

107. Levy PS, Kim SJ, Eckel PK, et al. Limit to cardiac compensation during acute normovolemic hemodilution: influence of coronary stenosis. *Am J Physiol.* 1993;265:H340-H349.

108. Lew WYW. Evaluation of left ventricular diastolic function. *Circulation.* 1989;79:1393-1397.

109. Lewis RN, Werle JM, Wiggers CJ. The behavior of the spleen in hemorrhagic hypotension and shock. *Am J Physiol*. 1943;138:205-211.

110. Lowe KC. Second-generation perfluorocarbon emulsion blood substitutes. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* 2000;28:25-38.

111. Lynn M, Jerokhimov I, Jewelewicz D, et al. Early use of recombinant factor VIIa improves mean arterial pressure and may potentially decrease mortality in experimental hemorrhagic shock: a pilot study. *J Trauma*. 2002;52:703-707.

112. Manning JE, Batson DE, Payne FB, et al. Selective aortic arch perfusion during cardiac arrest: enhanced resuscitation using oxygenated perflubron emulsion, with and without aortic arch epinephrin. *Annals of Emergency Medicine* 1997;29:580-587.

113. Marsch SC, Dalmas S, Philbin DM, et al. Post-ischemic diastolic dysfunction. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 1994;8:611-617.

114. Marshall HP, Jr., Capone A, Courcoulas AP, et al. Effects of hemodilution on long-term survival in an uncontrolled hemorrhagic shock model in rats. *J Trauma*. 1997;43:673-679.

115. Martin SM, Laks H, Drinkwater DC, et al. Perfluorochemical reperfusion limits myocardial reperfusion injury after prolonged hypothermic global ischemia. *Biomater Artif Cells Immob Biotechnol*. 1992;20:985-989.

116. Martinowitz U, Kenet G, Lubetski A, et al. Possible role of recombinant activated factor VII (rFVIIa) in the control of hemorrhage associated with massive trauma. *Can J Anaesth.* 2002;49:S15-S20.

117. Martinowitz U, Kenet G, Segal E, et al. Recombinant activated factor VII for adjunctive hemorrhage control in trauma. *J Trauma*. 2001;51:431-438.

118. Mason DT. Usefulness and limitations of the rate of rise of intraventricular pressure (dp/dt) in the evaluation of myocardial contractility in man. *Am J Cardiol*. 1969;23:516-527.

119. Matsuoka T, Hildreth J, Wisner DH. Uncontrolled hemorrhage from parenchymal injury: is resuscitation helpful? *J Trauma.* 1996;40:915-921.

120. Matsuoka T, Wisner DH. Resuscitation of uncontrolled liver hemorrhage: effects on bleeding, oxygen delivery, and oxygen consumption. *J Trauma*. 1996;41:439-445.

121. Mattox K, Maningas P, Moore E, et al. Prehospital hypertonic saline / dextran infusion for post-traumatic hypotension. *Ann Surg.* 1991;213:482-491.

122. Mattrey RF, Hilpert PL, Long CD, et al. Hemodynamic effects of intravenously administered lecithin-based perfluorocarbon emulsions in dogs. *Crit Care Med*. 1989;17:652-656.

123. McLaurin LP, Rolett EL, Grossman W. Impaired left ventricular relaxation during pacing-induced ischemia. *Am J Cardiol.* 1973;32:751-757.

124. Meier J, Kemming GI, Kisch-Wedel H, et al. Hyperoxic ventilation reduces six-hour mortality after partial fluid resuscitation from hemorrhagic shock. *Shock.* 2004;22:240-247.

125. Meier J, Kemming GI, Kisch-Wedel H, et al. Hyperoxic ventilation reduces 6-hour mortality at the critical hemoglobin concentration. *Anesthesiology*. 2004;100:70-76.

126. Mertes PM. Cardiac microdialysis. *Adv Pharmacol*. 1998;42:544-547.

127. Messina EJ, Sun D, Koller A et al. Increases in oxygen tension evoke arteriolar constriction by inhibiting endothelial postaglandin synthesis. *Microvasc Res.* 2003;48:151-160.

128. Meßmer K. Hämodynamik des Schocks. *Langenbecks Arch Chir*. 1974;337:157-164.

129. Meßmer K. Notwendigkeit neuer Therapiekonzepte für den hämorrhagischen Schock. *Anaesthesist.* 2004;53:1149-1150.

130. Meßmer K. Die Grundlagen der modernen Schocktherapie. *Münch Med Wochenschr.* 1970;112:357-365.

131. Meßmer K, Brendel W. Pathophysiologische Aspekte des hypovolämischen, kardiogenen und bakteriotoxischen Schocks. *Med Welt* 1971;22:1159-1163.

132. Mirvis DM, Ramanathan KB, Wilson JL. Regional blood flow correlates of ST segment depression in tachycardia-induced myocardial ischemia. *Circulation*. 1986;73:365-373.

133. Mitsuno T, Ohanagi H, Nahito R. Clinical studies of a perfluorochemical whole blood substitute Fluosol-DA. *Ann Surg.* 1982;195:60-69.

134. Mosca RS, Rohs TJ, Waterford RR, et al. Perfluorocarbon supplementation and postischemic cardiac function. *Surgery.* 1996;120:197-204.

135. Nolte D, Bayer M, Lehr HA, et al. Attenuation of postischemic microvascular disturbances in striated muscle by hyperosmolar saline dextran. *Am J Physiol*. 1992;263:H1411-H1416.

136. Nolte D, Pickelmann S, Lang M, et al. Compatibility of different colloid plasma expanders with perflubron emulsion. *Anesthesiology*. 2000;93:1261-1270.

137. Norio H, Takasu A, Kawakami M, et al. Rapid body cooling by cold fluid infusion prolongs survival time during uncontrolled hemorrhagic shock in pigs. *J Trauma*. 2002;52:1056-1061.

138. Ogilby JD, Noma S, DiLoretto G, et al. Preservation of myocardial function during ischemia with intracoronary perfluorooctylbromide (Oxygent). *Biomat Artif Cells Artif Org.* 1992;20:973-977.

139. Ohyanagi H, Saitoh Y. Development and clinical application of perfluorochemical artificial blood. *J Artif Org.* 1986;9:363-368.

140. Ojiri Y, Noguchi K, Chibana T et al. Effects of adrenergic stimulants on the splenic diameter, haemoglobin content and haematocrit in anaesthetized dogs: determination of the adrenoceptor subtype responsible for changes in the splenic diameter. *Acta Physiol Scand.* 1993;149(1):31-39.

141. Ojiri Y, Noguchi K, Shiroma N, et al. Uneven changes in circulating blood cell counts with adrenergic stimulation to the canine spleen. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2002;29:53-39.

142. Palacios I, Newell JB, Powell WJ, Jr. Effects of acute global ischemia on diastolic relaxation in canine hearts. *Am J Physiol*. 1978;235:H720-H727.

143. Pape A, Kemming G, Meisner F, et al. Diaspirin cross-linked hemoglobin fails to improve left ventricular diastolic function after fluid resuscitation from hemorrhagic shock. *Eur Surg Res*. 2001;33:318-326.

144. Paxian M, Keller SA, Huynh TT, et al. Perflubron emulsion improves hepatic microvascular integrity and mitochondrial redox state after hemorrhagic shock. *Shock*. 2003;20:449-457.

145. Paxian M, Rensing H, Geckeis K, et al. Perflubron emulsion in prolonged hemorrhagic shock: influence on hepatocellular energy metabolism and oxygen-dependent gene expression. *Anesthesiology*. 2003;98:1391-1399.

146. Peck WW, Mattrey RF, Slutsky RA, et al. Perfluoroctylbromide. Acute hemodynamic effects, in pigs, of intravenous administration compared with the standard ionic contrast media. *Invest Radiol*. 1984;19:129-132.

147. Peitzman AB, Billiar TR, Habrecht BG, et al. Hemorrhagic shock. *Curr Probl Surg*. 1995;32:925-1002.

148. Pries AR, Heide J, Ley K, et al. Effect of oxygen tension on regulation of arteriolar diameter in skeletal muscle in situ. *Microvasc Res.* 2000;49:289-299.

149. Prueckner S, Safar P, Kentner R, et al. Mild hypothermia increases survival from severe pressure-controlled hemorrhagic shock in rats. *J Trauma*. 2001;50:253-262.

150. Raab S, Thein E, Harris AG, et al. A new sample-processing unit for the fluorescent microsphere method. *Am J Physiol*. 1999;276:H1801-H1806.

151. Raedler C, Voelckel WG, Wenzel V, et al. Treatment of uncontrolled hemorrhagic shock after liver trauma: fatal effects of fluid resuscitation versus improved outcome after vasopressin. *Anesth Analg*. 2004;98:1759-66.

152. Riess JG. Fluorocarbon-based in vivo oxygen transport and delivery systems. *Vox Sanguis* 1991;61:225-239.

153. Riess JG. Overview of progress in the fluorocarbon approach to in vivo oxygen delivery. *Biomat Artif Cells Artif Org.* 1992;20:183-202.

154. Riess JG, Krafft MP. Advanced fluorocarbon-based systems for oxygen and drug delivery, and diagnosis. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* 1997;25:43-52.

155. Rockwell S, Kelley M, Irvin CG, et al. Preclinical evaluation of Oxygent as an adjunct to radiotherapy. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol*. 1992;20:883-893.

156. Rouleau J, Boerboom LE, Surjadhana A, et al. The role of autoregulation and tissue diastolic pressures in the transmural distribution of left ventricular blood flow in anesthetized dogs. *Circ Res*. 1979;45:804-815.

157. Sargent JW, Sefel RJ. Properties of perfluorinated liquids. *Fed proc.* 1970;19:1699-1703.

158. Sarnoff SJ, Braunwald E, Welch GH, et al. Hemodynamic determinants of oxygen consumption in the heart with special reference to the tension-time-index. *Am J Physiol*. 1958;192:148.

159. Sato N, Shen Y-T, Kiuchi K, et al. Splenic contraction-induced increases in arterial O_2 reduce requirement for CBF in conscious dogs. *Am J Physiol*. 1995;268:H491-H503.

160. Saxena PR, Dhasmana KM, Prakash O. A comparison of systemic and regional hemodynamic effects of d-tubocurarine, pancuronium, and vecuronium. *Anesthesiology*. 1983;59:102-108.

161. Schlag G, Redl H, Hallström S. The cell in shock: The origin of multiple organ failure. *Resuscitation.* 1991;21:137-180.

162. Schoenberg MH, Smedegard G, Gerdin B, et al. Hemorrhagic shock in the dog. I. Correlation between survival and severity of shock. *Res Exp Med (Berl).* 1985;185:21-33.

163. Scott MG, Kucik DF, Goodnough LT, et al. Blood substitutes: evolution and future applications. *Clin Chem.* 1997;43:1724-1731.

164. Serur JR, Galyean JR, Urschel CW, et al. Experimental myocardial ischemia: dynamic alterations in ventricular contractility and relaxation with dissociation of speed and force in the isovolumic dog heart. *Circ Res.* 1976;39:602-607.

165. Shoemaker WC, Appel PL, Kram HB. Tissue oxygen debt as a determinant of lethal and nonlethal postoperative organ failure. *Crit Care Med.* 1988;16:1117-1120.

166. Sloviter HA, Petkovic M, Ogoshi S, et al. Dispersed fluorochemichals as substitutes for erythrocytes in intact animals. *J Appl Physiol.* 1969;27:666-668.

167. Sostman HD, Rockwell S, Sylvia AL, et al. Evaluation of BA1112 rhabdomyosarcoma oxygenation with microelectrodes, optical spectrophotometry, radiosensitivity, and magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med.* 1991;20:253-267.

168. Spahn D, Waschke K, Standl T, et al. Oxygent™ reduces allogeneic blood transfusions in noncardiac surgery: A phase 3 study. *Eur J Anaesth.* 2001;18:A204.

169. Spahn DR, van Bremt R, Theilmeier G, et al. Perflubron emulsion delays blood transfusions in orthopedic surgery. European Perflubron Emulsion Study Group. *Anesthesiology.* 1999;91(5):1195-1208.

170. Spence RK. Perfluorocarbons in the twenty-first century: clinical applications as transfusion alternatives. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* 1995;23:367-380.

171. Spence RK, McCoy S, Costabile J, et al. Fluosol DA-20 in the treatment of severe anemia: randomized, controlled study of 46 patients. *Crit Care Med.* 1990;18:1227-1230.

172. Stadlbauer KH, Wagner-Berger HG, Raedler C, et al. Vasopressin, but not fluid resuscitation, enhances survival in a liver trauma model with uncontrolled and otherwise lethal hemorrhagic shock in pigs. *Anesthesiology.* 2003;98:699-704.

173. Stern SA, Dronen SC, Birrer P, et al. Effect of blood pressure on hemorrhage volume and survival in a near-fatal hemorrhage model incorporating a vascular injury. *Ann Emerg Med.* 1993;22:155-163.

174. Stern SA, Dronen SC, McGoron AJ, et al. Effect of supplemental perfluorocarbon administration on hypotensive resuscitation of severe uncontrolled hemorrhage. *Am J Emerg Med.* 1995;13:269-275.

175. Symons JD, Sun X, Flaim SF, et al. Perflubron emulsion improves tolerance to low-flow ischemia in isolated rabbit hearts. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1999;34:108-115.

176. Tangelder GJ, Teirlinck HR, Slaaf DW, et al. Distribution of blood platelets flowing in arterioles. *Am J Physiol.* 1985;248:H318-H323.

177. Thein E, Raab S, Harris AG, et al. Comparison of regional blood flow values measured by radioactive and fluorescent microspheres. *Eur Surg Res.* 2002;34:215-223.

178. Thein E, Raab S, Harris AG, et al. Validierung eines Roboters zur Bestimmung der regionalen Perfusion mittels fluoreszierender Mikrosphären. *Biomed Tech.* 1998;43:536-537.

179. Tisherman SA. Suspended animation for resuscitation from exsanguinating hemorrhage. *Crit Care Med.* 2004;32:S46-S50.

180. Ungerstedt U. Microdialysis--principles and applications for studies in animals and man. *J Intern Med.* 1991;230:365-373.

181. van Rossem K, Vermarien H, Faithfull NS, et al. Effects of perflubron emulsion and 100% oxygen breathing on local tissue pO_2 in brain cortex of unanaesthetized rabbits. *Adv Exp Med Biol.* 1997;411:403-409.

182. Van Wylen DG, Willis J, Sodhi J, et al. Cardiac microdialysis to estimate interstitial adenosine and coronary blood flow. *Am J Physiol.* 1990;258:H1642-H1649.

183. Vassar MJ, Perry CA, Holcroft JW. Analysis of potential risks associated with 7.5% sodium chloride resuscitation of traumatic shock. *Arch Surg.* 1990;125:1309-1315.

184. Vatner SF. Correlation between acute reductions in myocardial blood flow and function in conscious dogs. *Circ Res.* 1980;47:201-207.

185. Venable JH, Ewing SA. Fine-structure of Haemobartonella canis (Rickettsiales: Bartonellacea) and its relation to the host erythrocyte. *J Parasitol.* 1968;54:259-268.

186. Vercellotti GM, Hammerschmidt DE, Craddock PR, et al. Activation of plasma complement by perfluorocarbon artificial blood: probable mechanism of adverse pulmonary reactions in treated patients and rational for corticosteroid prophylaxis. *Blood* 1982;59:1299-1304.

187. Vivaldi E, Macinelli S, Gunther B. Experimental hemorrhagic shock in dogs: standardization. *Res Exp Med (Berl).* 1983;182:127-137.

188. Voelckel WG, Raedler C, Wenzel V, et al. Arginine vasopressin, but not epinephrine, improves survival in uncontrolled hemorrhagic shock after liver trauma in pigs. *Crit Care Med.* 2003;31:1160-1165.

189. Voelckel WG, von Goedecke A, Fries D, et al. Die Behandlung des hämorrhagischen Schocks. Neue Therapiepoptionen. *Anaesthesist.* 2004;53:1151-1167.

190. Wahr JA, Trouwborst A, Spence RK, et al. A pilot study of the effects of a perflubron emulsion, AF 0104, on mixed venous oxygen tension in anesthetized surgical patients. *Anesth Analg.* 1996;82:103-107.

191. Walcott WW. Blood Volume In Experimental Hemorrhagic Shock. *Am J Physiol.* 1944;143:247-253.

192. Walcott WW. Standardization of experimental hemorrhagic shock. *Am J Physiol.* 1945;143:254-261.

193. Wallace AG, Skinner SJr, Mitchell JH. Hemodynamic determinants of the maximal rate of rise in left ventricular pressure. *Am J Physiol.* 1963;205:30-36.

194. Waschke KF, Riedel M, Albrecht DM, et al. Effects of a perfluorocarbon emulsion on regional cerebral blood flow and metabolism after fluid resuscitation from hemorrhage in conscious rats. *Anesth Analg.* 1994;79:874-882.

195. Watanabe T, Shintani F, Fu LT, et al. Maximal rate of the left ventricular pressure fall (peak negative dP/dt) in early stage of myocardial ischemia following experimental coronary occlusion. *Jpn Heart J.* 1975;16:583-591.

196. Waxman K, Tremper KK, Cullen BF, et al. Perfluorocarbon infusion in bleeding patients refusing blood transfusions. *Arch Surg.* 1984;119:721-724.

197. Weil MH, Henning RJ. New concepts in the diagnosis and fluid treatment of circulatory shock. Thirteenth annual Becton, Dickinson and Company Oscar Schwidetsky Memorial Lecture. *Anesth Analg.* 1979;58:124-132.

198. Weintraub WS, Hattori S, Agarwal JB, et al. The relationship between myocardial blood flow and contraction by myocardial layer in the canine left ventricle during ischemia. *Circ Res.* 1981;48:430-438.

199. Weisfeldt ML, Scully HE, Frederiksen J, et al. Hemodynamic determinants of maximum negative dP/dt and periods of diastole. *Am J Physiol*. 1974;227:613-621.

200. Weiss HR, Neubauer JA, Lipp JA, et al. Quantitative determination of regional oxygen consumption in the dog heart. *Circ Res*. 1978;42:394-401.

201. Weiss JL, Frederiksen JW, Weisfeldt ML. Hemodynamic Determinants of the Time-Course of Fall in Canine Left Ventricular Pressure. *J Clin Invest.* 1976;58:751-760.

202. West HJ. Haemobartonellosis in the dog. *J Small Anim Pract*. 1979;20:543-549.

203. Wiggers CJ, Werle JM. Exploration of a method for standardizing hemorrhagic shock. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1942;49:604-606.

204. Wikström BG, Ronquist G, Waldenström A. Dynamics of myocardial metabolism in the preconditioned porcine heart studied using continuous microdialysis. *Eur Heart J*. 1995;16:563-569.

205. Wikström G, Ronquist G, Nilsson S et al. Continuous monitoring of energy metabolites using microdialysis during myocardial ischaemia in the pig. *Eur Heart J*. 1995;16:339-347.

206. Winkler GC. Pulmonary intravascular macrophages in domestic animal species: Review of structural and functional properties. *Am J Anat.* 1988;181:217-234.

207. Wright FL, Hua HT, Velmahos G, et al. Intracorporeal use of the hemostatic agent QuickClot in a coagulopathic patient with combined thoracoabdominal penetrating trauma. *J Trauma*. 2004;56:205-208.

208. Zhao K, Liu J, Jin C. The role of membrane potential and calcium kinetic changes in the pathogenesis of vascular hyporeactivity during severe shock. *Chin Med J.* 2000;113:59-64.

209. Zhao KS, Huang X, Liu J, et al. New approach to treatment of shock--restitution of vasoreactivity. *Shock.* 2002;18:189-192.

8. Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Dr. h.c. mult. Konrad Meßmer für die Überlassung des Themas meiner Promotion und die Aufnahme an das Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Ich bedanke mich bei Herrn Professor Dr. med. Oliver Habler für die Aufnahme in die Arbeitsgruppe und die stetige Unterstützung bei der Durchführung unserer Studie.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Gregor Kemming für die exzellente Betreuung und die unermüdliche Geduld während der gesamten Zeit.

Ich danke auch den Mitgliedern unserer Arbeitsgruppe, Herrn PD Dr. med. Martin Kleen, Herrn Dr. med. Franz Meisner, Frau Dr. med. Hille Kisch-Wedel, Herrn Dr. med. Jochen Tilmanns, Herrn Dr. med. Jens Meier und Herrn Dr. med. Daniel Bottino.

Bei meinem Co-Doktoranden Herrn Christoph Wojtczyk bedanke ich mich für die gute und kollegiale Zusammenarbeit.

Schliesslich danke ich allen Mitarbeitern des Institutes, insbesondere Frau Alke Schropp, Herrn Dr. med. vet. Eckhart Thein, Frau Silvia Münzing, sowie Frau Brigitte Blount und ihren Mitarbeitern.

Letztlich möchte ich mich ganz herzlich bei meinen Eltern Barbara und Gert für die Unterstützung während meines Studiums und meiner Promotion bedanken.

9. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name:	Packert
Vorname:	Kristian
Geburtsdatum / -ort:	21.11.1974, München
Adresse:	Passauerstrasse 144 81369 München
Familienstand:	ledig

Schulbildung:

1981 – 1985	Volksschule Wolfratshausen-Waldram
1985 – 1994	Gymnasium Geretsried Abschluss: Allgemeine Hochschulreife (Note 1,2)

Zivildienst:

1994– 1995	Rettungsdienst Bayerisches Rotes Kreuz Wolfratshausen

Hochschulbildung:

1995 – 2002	Studium der Humanmedizin an der Ludwig- Maximilians-Universität München
10/2002	3. Staatsexamen (Gesamtnote 1,3)
ab 11/1998	Doktorand am Institut für Chirurgische Forschung der Ludwig-Maximilians-Universität München (Direktor: Emeritus Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. K. Meßmer)

Beruflicher Werdegang:

01/2003 – 06/2004	Arzt im Praktikum Klinik für Anaesthesiologie am Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München
seit 07/2004	Assistenzarzt Klinik für Anaesthesiologie am Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität München