

Aus der Klinik für Anaesthesiologie der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. B. Zwißler

Der exakte Volumeneffekt der Vollelektrolytlösung  
Ringer-Laktat unter den Bedingungen der akuten  
normovolämen Hämodilution

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

vorgelegt von  
Tobias Helfen  
aus Wadern

2012

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

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Markus Rehm

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Reinhard Henschler

Priv.-Doz. Dr. med. Robert Dalla Pozza

Mitbetreuung durch den

promovierten Mitarbeiter:

Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Jacob

Dekan:

Prof. Dr. med. Dr. h.c. Maximilian Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung:

26.01.2012

Meinen Eltern in großer Dankbarkeit

<b>1. Einführung</b> .....	<b>6</b>
1.1 Kristalloide oder Kolloide als Volumenersatzmittel? .....	6
1.2 Betrachtungen zur Physiologie von Infusionslösungen .....	7
1.3 Charakterisierung der heute gebräuchlichen Infusionslösungen.....	7
1.3.1 Kristalloide .....	8
1.3.2 Kolloide .....	9
1.4 Die Blutvolumenmessung .....	10
1.5 Der Volumeneffekt von Infusionslösungen .....	13
1.6 Zielsetzung der Studie .....	17
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>18</b>
2.1 Allgemeines.....	18
2.2 Das Patientenkollektiv.....	18
2.3 Die Narkoseführung .....	18
2.4 Die akute normovoläme Hämodilution .....	19
2.5 Der Versuchsablauf .....	20
2.6 Die direkte Messung des Blutvolumens .....	21
2.6.1 Die Messung des Erythrozytenvolumens .....	21
2.6.2 Die Messung des Plasmavolumens .....	27
2.6.3 Die Bestimmung des Hämatokrit .....	33
2.7 Berechnungen .....	34
2.8 Statistik.....	38
<b>3. Ergebnisse</b> .....	<b>39</b>
3.1 Messzeitpunkt vor der akuten normovolämen Hämodilution .....	40
3.1.1 Das Erythrozytenvolumen.....	40
3.1.2 Das Plasmavolumen .....	41
3.1.3 Die $Hkt_{WB-1}$ , $Hkt_{LV-1}$ und f-cell-1-Werte.....	42
3.1.4 Der Blutvolumenstatus und die Urinausscheidung .....	43
3.1.5 Das „virtuelle“ Erythrozytenvolumen .....	44
3.1.6 Der Endothelial Surface Layer (ESL) .....	45
3.2 Messzeitpunkt nach der akuten normovolämen Hämodilution.....	46
3.2.1 Das Erythrozytenvolumen.....	46

3.2.2 Das Plasmavolumen .....	47
3.2.3 Die $Hkt_{WB-2}$ , $Hkt_{LV-2}$ und f-cell-2-Werte.....	48
3.2.4 Der Blutvolumenstatus .....	49
3.2.5 Das „virtuelle“ Erythrozytenvolumen .....	50
3.2.6 Das „virtuelle“ Blutvolumen .....	51
3.2.7 Der Endothelial Surface Layer (ESL) .....	52
3.2.8 Blutentzug und Volumengabe im Rahmen der ANH, Urinausscheidung nach ANH.....	53
3.3 Messzeitpunkt nach der Kolloidinfusion.....	54
3.3.1 Das Erythrozytenvolumen.....	54
3.3.2 Das Plasmavolumen .....	54
3.3.3 Die $Hkt_{WB-3}$ , $Hkt_{LV-3}$ und f-cell-3-Werte.....	55
3.3.4 Der Blutvolumenstatus .....	56
3.3.5 Der Endothelial Surface Layer (ESL) .....	57
3.3.6 Urinausscheidung und Anstieg des interstitiellen Wassergehalts nach Kolloidinfusion.....	58
3.4 Übersicht der gemessenen und berechneten Variablen während der drei Messungen....	59
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>62</b>
4.1 Überblick über die Historie der Volumenersatztherapie.....	62
4.2 Methoden zur Bestimmung der Blutvolumina .....	63
4.3 Die akute normovoläme Hämodilution .....	66
4.4 Die Bedeutung der Blutvolumenkompartimente und des ESL .....	67
4.5 Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung im Kontext der aktuellen Literatur ....	73
<b>5. Zusammenfassung.....</b>	<b>84</b>
<b>6. Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>89</b>
<b>7. Literatur .....</b>	<b>91</b>
<b>8. Danksagung.....</b>	<b>103</b>
<b>9. Lebenslauf.....</b>	<b>104</b>

# 1. Einführung

## 1.1 Kristalloide oder Kolloide als Volumenersatzmittel?

Die Homöostase der Flüssigkeiten im menschlichen Körper ist das Ergebnis komplexer Wechselwirkungen zwischen Kompartimenten und Barrieren. Sie ist die Grundvoraussetzung einer stabilen Hämodynamik.<sup>1</sup> Eine schwere intravasculäre Hypovolämie ist von Nachteil, da sie zu einer reduzierten Herzleistung und konsekutiv zur Gewebshypoperfusion und Organdysfunktionen führt.<sup>2,3</sup> Eine Infusionstherapie sollte Blut- und Flüssigkeitsverluste so zeitnah und adäquat wie möglich ausgleichen. Über die Art, die Zusammensetzung und die Menge der zu verabreichenden Lösungen wird jedoch intensiv diskutiert.<sup>2,4</sup> Während der Ersatz extrazellulärer Verluste durch Urinproduktion und Perspiratio insensibilis durch Kristalloide rational zu sein scheint<sup>2</sup>, sind die Meinungen zur optimalen Erhaltung der kardialen Vorlast im Kontext akuter Blutverluste kontrovers.<sup>5</sup> Physiologische Überlegungen zur vaskulären Barriereeigenschaft weisen auf einen möglichen Vorteil von künstlichen Kolloiden oder natürlichen Proteinen gegenüber Kristalloiden hin. Diese isoonkotischen Lösungen bleiben vermutlich im intravasculären Raum, wohingegen sich Kristalloide gleichmäßig über den gesamten extrazellulären Raum, also zu 80% interstitiell, und nur zu 20% intravasculär verteilen.<sup>2</sup> Kolloide wurden daher bereits als „Volumen“ von den Kristalloiden als „Flüssigkeit“ abgegrenzt.<sup>6</sup> Eine prospektive, randomisierte Studie mit 6.997 schwerkranken Patienten verglich kürzlich die Effektivität eines isoonkotischen Kolloids (4% Humanalbumin) mit der eines Kristalloids zur makrohämodynamischen Stabilisierung bei Intensivpatienten (Saline versus Albumin Fluid Evaluation (SAFE)-Studie). Überraschenderweise konnte kein signifikanter Unterschied in Mortalität oder Komplikationsrate gezeigt werden. Auch die benötigten Mengen beider Lösungen waren nicht signifikant verschieden.<sup>7</sup> Diese Untersuchung wird von einigen Autoren mittlerweile als Indiz dafür gesehen, dass sich die Volumeneffekte von Kristalloiden und Kolloiden nicht relevant unterscheiden.<sup>8</sup> Würde man dieser Annahme konsequent folgen, so hätte dies jedoch Auswirkungen auf seit vielen Jahren praktizierte Infusionsregime nicht nur auf der Intensivstation, sondern auch in der gesamten perioperativen Medizin. So ist es von großer Wichtigkeit, die tatsächlichen Volumeneffekte von Kristalloiden und Kolloiden eindeutig zu charakterisieren. Die vorliegende Untersuchung sollte durch die Anwendung der direkten Blutvolumenmessung die Volumeneffekte, also die tatsächliche Volumenwirksamkeit von Kristalloiden und Kolloiden charakterisieren und differenzieren.

## **1.2 Betrachtungen zur Physiologie von Infusionslösungen**

Da kristalline Lösungen im Gegensatz zu kolloidalen Lösungen keinerlei eigene onkotische Kraft aufweisen, ist deren Verteilungsraum prinzipiell der gesamte Extrazellulärraum. Der Intravasalraum beträgt nur 20% des gesamten Extrazellulärraums. Vor diesem theoretischen Hintergrund sollte man annehmen, dass Kristalloide auf den Intravasalraum eine Volumenwirksamkeit von insgesamt rund 20% aufweisen. Infundiert man 1 Liter, verbleiben somit theoretisch nur 200 ml intravasal. Damit wäre zum Ausgleich eines Blutverlustes auch die 5-fache Menge zu infundieren, um eine Normovolämie aufrecht zu erhalten. Dies bedeutet, dass ein Blutverlust von 1 Liter durch 5 Liter kristalloide Infusionslösung ausgeglichen werden müsste. Dieses Verhältnis ist sehr ineffektiv. Dennoch ist in den USA der Volumenersatz mit Kristalloiden weit verbreitet. In einer Vielzahl von Richtlinien zur Versorgung polytraumatisierter Patienten wird unter ausdrücklichem Hinweis auf die Erfahrung betont, dass bei jungen gesunden Patienten Blutvolumenverluste von 30-40% adäquat mit Kristalloiden behandelt werden können. Der Advanced Trauma Life Support (ATLS®) empfiehlt die zusätzliche Gabe von Kolloiden zu Kristalloiden erst ab einem Blutverlust von 2 Litern.<sup>9</sup> In Editorials renommierter Fachzeitschriften wurde noch in jüngster Zeit die Sicherheit der Volumensubstitution mit dem Kolloid Hydroxyethylstärke (HES) aufgrund potentiell nierenschädigender Effekte als zweifelhaft eingestuft und auf die Notwendigkeit weiterer Studien verwiesen.<sup>10,11</sup> Die Erfahrung und die vielerorts gelebte Praxis scheinen also im Widerspruch zu den theoretischen Überlegungen zu den physiologischen Eigenschaften von Kristalloiden zu stehen. In diesem Zusammenhang muss die Frage gestellt werden, ob der Glaube an einen nur geringen Volumeneffekt kristalloider Lösungen im Vergleich zu Kolloiden ein historischer, Mythos ist, der dringend der klinischen Realität angepasst werden muss.

## **1.3 Charakterisierung der heute gebräuchlichen Infusionslösungen**

Alle zur Infusion verwendeten Lösungen sollten möglichst „physiologisch“ zusammengesetzt sein, um unerwünschte Änderungen der Osmolarität, des Elektrolyt- und Säure-Basen-Status des Patienten zu vermeiden. Im Idealfall bedeutet dies eine Komposition, die der Extrazellulärflüssigkeit entspricht. Dieser Forderung stehen verschiedene Probleme entgegen:

#### ▪ Elektroneutralität

Die Elektroneutralität aller Körperflüssigkeiten einschließlich des Plasmas ist immer gegeben, die Summe der Kationen muss also derjenigen der Anionen entsprechen. Dies gilt auch für jede Infusionslösung. In Kristalloiden fehlen jedoch schon grundsätzlich die Plasmaproteine, die in vivo negative Ladungen tragen und in vitro anderweitig zugesetzt werden müssen. Infusionslösungen sind daher lediglich ein Kompromiss zwischen der Forderung nach einem idealen plasmaintensiven und einem in der Lösung real vorhandenen Elektrolytmuster.<sup>12</sup>

#### ▪ Bikarbonat

Der aus physiologischer Sicht eigentlich notwendige Zusatz von Bicarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) zu einer Infusionslösung, kann nur dann in Lösung verbleiben, wenn der pH-Wert im Bereich von 7,0-8,0 liegt und der sich zwangsläufig einstellende  $\text{CO}_2$ -Partialdruck ( $\text{pCO}_2$ ) von 10 - 100 mmHg stabil gehalten werden kann. Dieser Vorgang verlangt eine dicht verschlossene Glasflasche und besondere Vorkehrungen bei der Sterilisation und schließt ein stabiles Vorhalten im Infusionsbeutel derzeit aus. Als Ersatz für  $\text{HCO}_3^-$  werden heute metabolisierbare Anionen organischer Säuren wie Azetat, Laktat, Glukonat, Malat oder Hydrogenmalat und Zitrat eingesetzt, die in der intakten Leber (vor allem Laktat) bzw. im Muskel (vor allem Azetat und Malat) unter Verbrauch von  $\text{H}^+$ -Ionen und  $\text{O}_2$  das fehlende  $\text{HCO}_3^-$  freisetzen. Dadurch wird einer Infusionssäureose entgegengewirkt.<sup>13,14</sup>

### 1.3.1 Kristalloide

Kristalloide zeichnen sich durch das Fehlen onkotisch wirksamer Makromoleküle aus, weswegen es zu einer raschen und gleichmäßigen Verteilung auf den Intravasalraum und das Interstitium kommt.<sup>2</sup> Die einfachste Infusionslösung, die sogenannte „physiologische“, weil isotone, Kochsalz-Lösung mit 154 mmol/l  $\text{Na}^+$  und zugleich 154 mmol/l  $\text{Cl}^-$ , hat im Vergleich zum Plasma eine etwas erhöhte Natrium-, aber deutlich erhöhte Chlorid-Konzentration (Normwerte in vivo:  $\text{Na}^+$  135-145 mmol/l,  $\text{Cl}^-$  96-110 mmol/l). Dies beeinträchtigt sowohl die Nierenfunktion als auch die Hämodynamik.<sup>15</sup> Eine Ringer-Lösung hat eine ebenfalls stark erhöhte Chlorid-Konzentration, allerdings entspricht die Natrium-Konzentration eher dem physiologischen Wert ( $\text{Na}^+$  ca. 147 mmol/l,  $\text{Cl}^-$  ca. 156 mmol/l). Mit der Herstellung einer Ringer-Laktat-Lösung wurde erstmals versucht, der Forderung nach einer plasmaintensiven Lösung annähernd gerecht zu werden: Die Lösung ist leicht hypoton (276 mosmol/l), die

Konzentration von Natrium etwas zu niedrig und die von Chlorid etwas zu hoch ( $\text{Na}^+$  125-134 mmol/l,  $\text{Cl}^-$  106-117 mmol/l). Die fehlenden negativen Ladungen werden durch das Anion Laktat (25-31 mmol/l) zugesetzt, das in vivo zu Bikarbonat verstoffwechselt wird. Laktat wird vornehmlich hepatisch metabolisiert und benötigt 3 mol  $\text{O}_2$  pro mol gebildetem  $\text{HCO}_3^-$ , was pro Liter zugeführtem Ringer-Laktat den Sauerstoffverbrauch für etwa 7 Minuten verdoppelt.<sup>16</sup> Acetat wird rascher sowie leberunabhängig in der Muskulatur metabolisiert und verbraucht nur 2 mol  $\text{O}_2$  pro mol  $\text{HCO}_3^-$ . Auch Malat wird leberunabhängig in der Muskulatur metabolisiert und verbraucht mit 1 mol  $\text{O}_2$  pro mol  $\text{HCO}_3^-$  noch weniger Sauerstoff. Darüber hinaus verfälschen Azetat und Malat im Vergleich zum Ringer-Laktat nicht die Ischämiediagnostik über den Laktatspiegel.<sup>16</sup>

### 1.3.2 Kolloide

Kolloide sind als von Menschen, Tieren oder Pflanzen stammende Präparate erhältlich, die im Gefäßsystem einen kolloidosmotischen Druck entfalten können, da sie Makromoleküle enthalten die den kolloidosmotischen Druck beeinflussen. An wahrscheinlich Substanzklassen-unspezifischen Nebenwirkungen werden onkotisch bedingte Tubulusläsionen der Nieren und eine erhöhte Urinviskosität bei vermindertem Urinfluß durch künstliche Kolloide diskutiert. Auch eine Aktivierung des retikuloendothelialen Systems mit Phagozytenaktivierung konnte nachgewiesen werden.<sup>15</sup>

#### Natürliche Kolloide

Menschliches Albumin ist ein exakt definiertes Protein mit einem Molekulargewicht von rund 66 kD. Sein Plasmagehalt repräsentiert mit 3,5-5,0 g/dl etwa 60% des menschlichen Gesamteiweißes (6,0-8,0 g/dl). Nur 25-40% des Albuminbestandes befinden sich im Plasma, während 60-75% im Interstitium verteilt sind.<sup>13</sup> Die Halbwertszeit von Albumin beträgt in Abhängigkeit von Synthese, Verteilung und Abbau 17-27 Tage, der Mittelwert für zugeführtes Albumin liegt bei 19 Tagen. Aus Spenderplasma gewonnene Humanalbumin-Lösungen sind in Konzentrationen zwischen 4 und 20 % verfügbar.<sup>15</sup>

## Künstliche Kolloide

Hydroxyethylstärke (HES) ist ein aus Mais- oder Kartoffelstärke gewonnenes und aus Glucoseeinheiten aufgebautes Polysaccharid. Durch Einbau von Hydroxyethyl-Gruppen in das Stärkemolekül wird die Substanz vor zu raschem Abbau durch die  $\alpha$ -Amylase des Plasmas geschützt. Für die Aufspaltung der größeren Moleküle sind Substitutionsgrad (Hydroxyethyl-Gruppen besetzter Anteil der Glucoseeinheiten) und Substitutionsmuster (Verhältnis der von C<sub>2</sub>- oder C<sub>6</sub>-Position substituierten Glucoseeinheiten) entscheidend.

Gelatinelösungen sind Gemische von Polypeptiden mit einem Molekulargewicht von wenigen bis mehreren 100 kD. Die Basissubstanz wird durch Hydrolyse aus Rinderkollagen gewonnen.<sup>15</sup>

## 1.4 Die Blutvolumenmessung

Das Blutvolumen (BV) des Menschen ist keine einfach zu bestimmende konstante Größe. Seine Komponenten Plasmavolumen (PV) und Erythrozytenvolumen (RCV) unterliegen inter- und intraindividuellen Schwankungen.<sup>17</sup> So kann beispielsweise ein hohes Plasmavolumen das Resultat einer großzügigen Infusionstherapie sein und ein sehr hohes Erythrozytenvolumen auch krankheitsbedingt z.B. im Rahmen einer Polyzythämia vera auftreten. Der Hämatokrit (Hkt) entspricht der Konzentration der Erythrozyten im Blut und bietet damit nur einen unzureichenden Parameter für die Quantifizierung des Blutvolumenstatus eines Patienten. So kann auch bei einem niedrigen RCV kombiniert mit einem ebenfalls niedrigen PV, z.B. bei einem exsikkierten Patienten, der normwertige Hämatokrit eine vorliegende Anämie und Hypovolämie verschleiern.

Veränderungen des BV eines Patienten und Veränderungen seiner Bestandteile RCV und PV sind im klinischen Alltag von eminenter Bedeutung. Sie können jedoch meist nur durch indirekte Parameter wie Hämatokrit- oder Hämoglobin-(Hb)-Konzentration abgeschätzt werden. Variablen, wie arterieller Blutdruck und Schwankungen der arteriellen Druckkurve, zentraler Venendruck, Hautturgor und Urinausscheidung, die häufig zur Beurteilung des BV herangezogen werden, können irreführend sein, da sie außer vom BV von anderen Faktoren wie myokardialer Pumpfunktion, Nierenfunktion und auch der Lagerung des Patienten abhängen.<sup>18</sup> Falls das RCV aufgrund der oben genannten Variablen zu gering eingeschätzt

wird, wird die Indikation zu einer Transfusion, mit dem möglichen Risiko von Immunmodulation und Infektionen für den Patienten<sup>19</sup> und mit erheblichen Kosten für die Klinik zu früh oder gar unnötig gestellt. Eine Überschätzung des RCV kann jedoch für den Patienten ebenso gefährliche Folgen haben, wenn dadurch seine individuelle kritische Sauerstoff-Transportkapazität unterschritten wird. Die alleinige Messung von Hämatokrit- oder Hämoglobin-Konzentrationen ist also ein höchst zweifelhafter Ansatz um das Blutvolumen exakt zu bestimmen.

Alle zur Ermittlung des PV und RCV benutzten modernen Techniken sind indirekt und beruhen auf dem Prinzip einer Tracer-Verdünnungsanalyse, wobei der Tracer entweder an Erythrozyten oder an Plasmaproteine gebunden wird, um so den Verteilungsraum des jeweiligen Trägers zu markieren.<sup>20</sup> Anforderungen an eine ideale Messmethode des RCV und des PV sind eine geringe Nebenwirkungsrate, keine Toxizität oder Mutagenität, ausreichende Genauigkeit, schnelle Wiederholbarkeit, rasche Durchführbarkeit und keine Gefährdung des Patienten und des medizinischen Personals. Ebenso sollte der Tracer in den vorliegenden Konzentrationen mit einem etablierten Verfahren sicher nachweisbar sein. Bereits 1882 wurden erste Messungen des RCV durchgeführt, indem das Hämoglobin mit Kohlenmonoxid als Tracer markiert wurde.<sup>21</sup> 1940 führten Hahn und Hevesy<sup>22</sup> die RCV-Messungen mit radioaktivem Eisen ( $^{59}\text{Fe}$ ) durch, wobei hier noch markierte Fremderythrozyten der Blutgruppe 0 im Sinne einer geringen Fremdtransfusion verwendet wurden. 1942 wurden erstmals eigene Erythrozyten der Probanden mit einem Tracer inkubiert und somit eine Fremdtransfusion vermieden. Diese Messmethoden sind jedoch nicht nur sehr personal-, zeit- und kostenintensiv (z.B. Kosten einer  $^{51}\text{Cr}$ -Messung: ca. € 300,00), sondern zudem aufgrund der radioaktiven Strahlung potenziell schädlich für den Patienten und das medizinische Personal.<sup>23</sup> Wegen der langen Halbwertszeit der Tracer und der damit verbundenen Strahlenbelastung sind wiederholte Messungen innerhalb kurzer Zeit nur sehr eingeschränkt möglich und somit bei Kindern oder Schwangeren obsolet. Trotzdem gilt die Dilutionsmethode mittels mit  $^{51}\text{Cr}$  markierten Eigenerthrozyten noch immer als Goldstandard. Verschiedene Arbeitsgruppen versuchten deshalb den Einsatz nichtradioaktiver Tracer, wie z.B. nichtradioaktives Cäsium<sup>24</sup>, Biotin<sup>25</sup>, stabile Isotope von Chrom<sup>26</sup> oder Natrium-Fluorescein (SoF).<sup>47</sup> Jedoch erwiesen sich auch die ersten drei Tracer nicht als besonders praktikabel, da sie ebenfalls sehr teuer, zeit- und personalaufwendig waren, und wiederholte Messungen innerhalb weniger Stunden unmöglich sind.<sup>47</sup> Zudem sind diese Methoden sehr störanfällig durch Ernährung und Medikation des Patienten. 1991 wurde

erstmalig Natrium-Fluorescein zur RCV-Messung verwendet. SoF ist bereits seit 1913 in der Humanmedizin bei unterschiedlichen Indikationen als Diagnostikum in Gebrauch, so z. B. in der Augenheilkunde bei Fluoreszenz-Angiogrammen der Retina, oder in der plastischen Chirurgie bei Untersuchungen zur Durchblutung bei Lappentransplantaten. Bei der RCV-Messung werden dem Patienten autologe, mit SoF markierte Erythrozyten injiziert, nach der auffallend kurzen Mischungszeit Proben entnommen und in diesen das Verhältnis von markierten zu unmarkierten Erythrozyten mit Hilfe eines Durchflusszytometers ausgezählt.<sup>27</sup>

Die PV-Messung mit Indocyaningrün (ICG), einem Trikarbonfarbstoff, der rasch und quantitativ an Plasmaproteine bindet, ist schnell durchführbar und innerhalb von 20–30 min wiederholbar, jedoch ist eine kontinuierliche Absaugung von arteriellem Vollblut durch eine Küvette von der 2. bis zur 5. min nach Injektion des Tracers nötig, da ICG sehr schnell hepatisch aus dem Plasma eliminiert wird.<sup>37</sup> Somit scheint ICG als Tracer aufgrund seiner geringen Toxizität sehr geeignet zu sein, zumal die hepatische Clearance des Farbstoffs Auskunft über die Perfusion der Leber des Patienten gibt. Während Erythrozyten physiologischerweise das Gefäßbett nicht verlassen, unterliegt das Plasmavolumen ständigen Schwankungen. Diese sind bedingt durch physiologische oder pathologische Änderungen der Starlingkräfte, die an der mikrovaskulären Membran wirksam sind, und durch Änderungen der Permeabilität der Membran für Makromoleküle.<sup>28,29</sup> Dieses Problem beeinflusst auch die PV-Messung. Ein Teil des intravasal applizierten Tracers kann nämlich den Intravasalraum relativ rasch verlassen, was in Kombination mit pathologisch verlängerten Mischungszeiten zu einem verfälschten Messergebnis führen kann. Insbesondere bei verschiedenen pathologischen Zuständen wie Sepsis, Schockzuständen, Nephrosen, Schwangerschaftstoxikosen und Herzinsuffizienz,<sup>30</sup> ebenso wie bei therapeutischen Maßnahmen, wie Induktion einer Allgemeinanästhesie oder einem Trauma,<sup>31</sup> kann sich das PV relativ schnell verändern.

Bei der direkten Messung des Blutvolumens handelt es sich also um eine Methode, bei der PV und RCV mittels Tracer-Verdünnungsanalyse simultan, vor und nach der Volumengabe quantifiziert werden können.<sup>31,32,33</sup>

## **1.5 Der Volumeneffekt von Infusionslösungen**

Der nach Infusion intravasal verbleibende, prozentuale Teil einer Lösung wird als Volumeneffekt bezeichnet. Der Volumeneffekt einer gewählten Infusionslösung bestimmt die zu infundierende Menge, die zur Erhaltung der Normovolämie erforderlich ist.<sup>34</sup> Ein Volumeneffekt von z.B. 100% bedeutet, dass die gleiche Menge infundiert werden muss, die entzogen wird, während bei einem Volumeneffekt von 50% die doppelte Menge an Infusionslösung nötig wäre um eine Normovolämie aufrecht zu erhalten. Eine zielorientierte Therapie sollte diese pharmakokinetische Eigenschaft einer gewählten Infusionslösung berücksichtigen. Methodisch bedingt konnten in der Vergangenheit kaum verlässliche Daten zu den Volumeneffekten der verschiedenen Präparate erhoben werden:

### **1.5.1 Die Hämoglobin/Hämatokrit-Dilutionsmethode**

Im klinischen Alltag sowie in vielen klinischen Studien werden häufig Veränderungen des Hkt benutzt, um Aussagen über Veränderungen des intravasalen Volumens zu treffen. Hierzu muss angemerkt werden, dass der Hkt wahrscheinlich nicht in allen Gefäßabschnitten gleich groß ist und sich nach Interventionen wie z.B. der Infusion größerer Mengen Flüssigkeit, auch nicht immer in allen Gefäßabschnitten gleich, also proportional verändert. Whipple et al. vermutete bereits 1920: „...the body has the power to modify the ratio of cells to plasma in different parts of the body under normal or abnormal conditions.“<sup>35</sup> Die physiologische Begründung für diese Tatsache lieferte Fahraeus 1928: „Die oben erwähnte wesentliche Herabsetzung der Konzentration der Blutkörperchensuspension bei der Passage der Parakapillaren des Gefäßsystems dürfte die Erklärung der bisher ungelösten Fragen bilden, worauf die bedeutende Differenz zwischen den Werten für die totale Blutmenge beruht, die man mittels Hämoglobin- respektive vermittels der Plasmabestimmungsmethode erhält.“<sup>87</sup> Er erkannte bereits, dass sich Erythrozyten in der Mikrostrombahn zentral und dabei deutlich schneller als der (gesamte) Blutstrom bewegen und somit der Hkt in der Mittelstrombahn geringer sein dürfte als in der Makrostrombahn. Damit war bereits die Erkenntnis gewonnen, dass der Hkt als Marker für das Blutvolumen bzw. als Indikator für BV-Veränderungen durchaus problematisch ist.

Die 1987 und 1988 von Hahn beschriebene Hämoglobin/Hämatokrit-Dilutionsmethode (HDM) stellt die am stärksten vereinfachte Messmethodik zur Volumeneffektbestimmung dar: Das Blutvolumen wird als primär „normwertig“ vorausgesetzt. Zur Volumeneffektbestimmung erfolgt vor und nach Infusion des Plasmaersatzmittels lediglich eine Messung des Großgefäßhämatokrits („large-vessel-Hämatokrit“  $Hkt_{LV}$ ).<sup>31,32</sup>

### 1.5.2 Die Double-Label-Messmethode

Bei der Double-Label-Blutvolumenmessung, dem derzeitigen Goldstandard<sup>36</sup> der Volumeneffektbestimmung, werden beide Kompartimente des Blutvolumens, nämlich sowohl das RCV als auch das PV getrennt voneinander und direkt gemessen. Mit dieser Methode wurden von unserer Arbeitsgruppe bereits mehrmals Daten zum Volumeneffekt kolloidaler Plasmaersatzstoffe erhoben.<sup>19,20,37</sup> So wurden z.B. Double-Label-Messungen zum Volumeneffekt von 6%igem HES während einer akuten normovolämen Hämodilution (ANH) durchgeführt und die Ergebnisse mit einem sog. „virtuellen“, lediglich mittels HDM-Methode errechneten Volumeneffekt verglichen. Statt, wie bei der HDM-Methode üblich, Normwerte für das Ausgangs-Blutvolumen zu verwenden wurde in diesem Fall als Ausgangswert das mittels Double-Label-Messung korrekt gemessene Blutvolumen (BV), sozusagen als „Zugeständnis“ zugrunde gelegt. Trotz dieser Präzisierung zeigte sich, dass der „virtuelle“ Volumeneffekt nach zweimaliger Messung um 30% bzw. 35% über dem tatsächlichen Volumeneffekt lag.<sup>36</sup>

Die Ursache dafür, dass die alleinige Bestimmung des Großgefäßhämatokrits zur verlässlichen Bestimmung des Volumeneffektes nicht ausreicht, liegt wohl in der kaum vorhersehbaren Veränderung des Verhältnisses des Ganzkörperhämatokrits („Whole Body Hematocrit“ =  $Hkt_{WB}$ ) zum Großgefäßhämatokrit ( $Hkt_{LV}$ ). Der  $Hkt_{LV}$  ist der Hämatokrit, der im klinischen Alltag routinemäßig bestimmt wird. Er entspricht dem mittleren Hämatokrit im Gefäßbett. Der  $Hkt_{WB}$  ist dem Kliniker zwar in der Regel nicht zugänglich, spiegelt aber die durchschnittlichen Verhältnisse im gesamten Körper wieder und ist somit als Maß der tatsächlichen Erythrozytenfraktion zu betrachten. Der  $Hkt_{WB}$  wird aus RCV und PV berechnet [ $Hkt_{WB} = RCV / (RCV + PV)$ ], wohingegen der  $Hkt_{LV}$  ohne Einbeziehung des exakten RCV und PV gemessen wird. Um eine Erklärung für die Veränderungen des Quotienten aus  $Hkt_{WB}$  und  $Hkt_{LV}$ , dem sogenannten „f-cell-Wertes“ zu erhalten, müssen die Verteilungsräume der bei

der direkten Messung des Volumeneffektes verwendeten Marker Indocyaningrün (ICG) und Flourescein-Natrium (SoF) näher betrachtet werden.

Ergebnisse neuerer Studien unter Verwendung der Intravitalmikroskopie zeigten, dass ein Unterschied zwischen der anatomischen Dimension kleiner Gefäße und dem Verteilungsraum der Erythrozyten besteht. Es wurde ein „Sperrgebiet für Erythrozyten“ mit einer Dicke von 0,4 bis 1,5  $\mu\text{m}$  entdeckt und als „Endothelial surface layer“ (ESL) bezeichnet. Jedes gesunde Gefäß wird hiervon ausgekleidet. Es handelt sich dabei um eine kohlenhydratreiche Schicht auf dem vaskulären Endothel. Das Grundgerüst, die sogenannte Glykokalyx besteht aus membrangebundenen Proteoglykanen und Glykoproteinen.<sup>38</sup> Diese bilden zusammen mit Glykosaminoglykanen ein Geflecht aus, in das lösliche Moleküle, plasmatischer oder endothelialer Herkunft, eingebunden sind. Glykokalyx und Glykosaminoglykane bilden zusammen den ESL. Durch eine moderne Markierungstechnik auf Lanthanbasis wurde mittlerweile eine intakte endotheliale Glykokalyx mit einem Durchmesser von etwa 0,5  $\mu\text{m}$  dargestellt, die teilweise sogar dicker ist als die Endothelzellen selbst (Abbildung 1).<sup>39,40,41,42</sup> Diese Schicht beinhaltet Flüssigkeit ohne Erythrozyten, ist immobil oder bewegt sich ganz langsam und bildet ein dynamisches Equilibrium mit dem zirkulierenden Plasma.<sup>41</sup> Daher nimmt der ESL auch nicht quantitativ, jedoch qualitativ an der Blutzirkulation teil.<sup>76</sup> Ob der ESL jedoch in allen Mikrogefäßen dieselbe beachtliche Dicke aufweist ist noch nicht abschließend geklärt.<sup>43</sup>

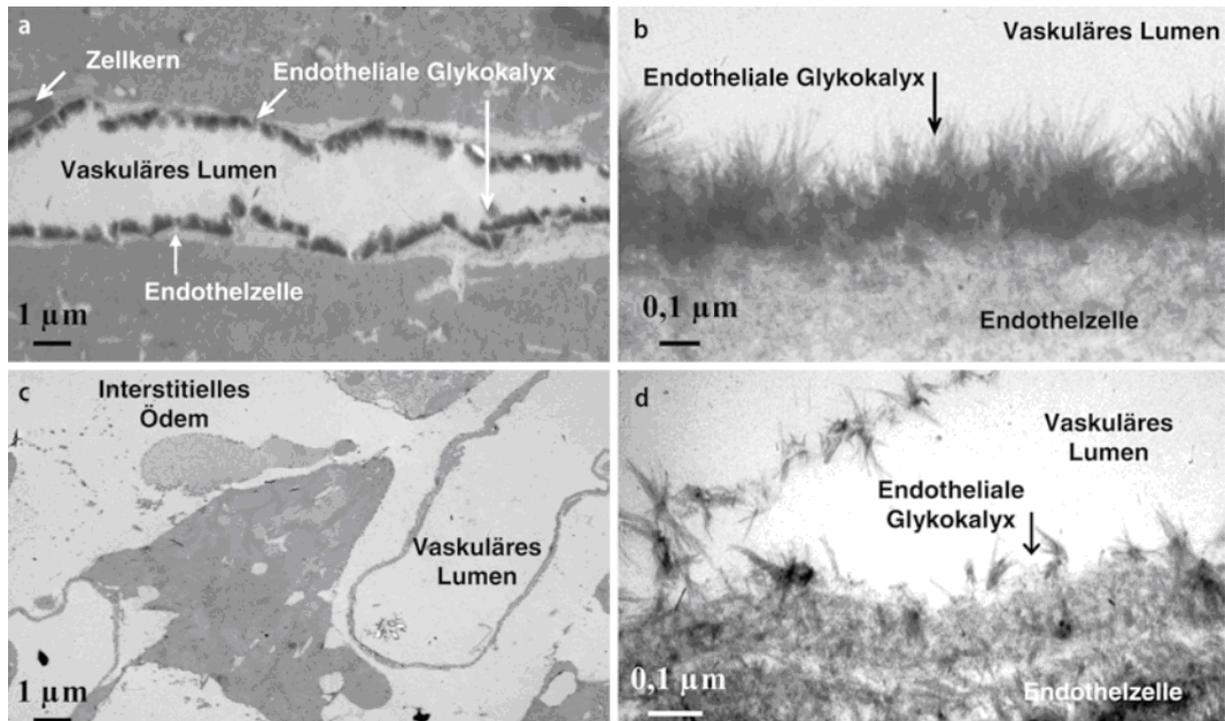


Abbildung 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme der endothelialen Glykokalyx im isoliert perfundierten Meerschweinherzen. (a,b) Ausschnitt eines Koronargefäßes nach spezieller Anfärbung. Auf der luminalen Seite des Gefäßes ist eine intakte endotheliale Glykokalyx zu sehen. (c,d) Ausschnitt eines Koronargefäßes nach 20-minütiger Ischämie/Reperfusion. Es sind rudimentäre Glykokalyxreste und deutlich interstitielle Ödeme zu sehen. (a,c) sind Übersichtsaufnahmen, (b,d) sind Nahaufnahmen. Chappell D, Jacob M et al. (2007) Hydrocortisone preserve the vascular barrier by protecting the endothelial glycocalyx, *Anaesthesiology* 107: 776-784<sup>44</sup>

Dieses „neue Modell“ der Mikrozirkulation in Kapillaren impliziert also, dass man das Plasmavolumen wiederum in zwei Kompartimente unterteilen kann: Das zirkulierende Plasmavolumen ( $PV_{\text{circ}}$ ) und das restliche, nicht-zirkulierende Plasmavolumen im ESL. Des Weiteren bleibt das ESL-Volumen vermutlich nicht konstant, wenn durch künstliche Zufuhr von Infusionslösungen Plasma ersetzt oder eine Hämodilution durchgeführt wird. Dementsprechend war aufgefallen, dass in diesem Fall ein Großteil des im ESL gebundenen Plasmas dem zirkulierenden Blutvolumen zur Verfügung gestellt werden kann. Dabei erhöht sich das zirkulierende Blutvolumen und der ESL nimmt in seiner Dicke ab.<sup>41,45</sup>

Das gemessene RCV erfasst ausschließlich das zirkulierende Kompartiment des Intravasalraumes und schließt den ESL aus, da Fluorescein nur an Erythrozyten gebunden wird, diese jedoch im ESL nicht vorkommen. Die Double-Label-Blutvolumenmessung wird somit den unterschiedlichen Eigenschaften der verschiedenen Kompartimenten gerecht, diese lassen sich exakt quantifizieren.

## 1.6 Zielsetzung der Studie

Die Hämoglobin/Hämatokrit-Dilutionsmethode stellt die am stärksten vereinfachte Methode zur Bestimmung des Volumeneffektes dar. Die alleinige Messung des Hkt ist jedoch nicht ausreichend um Volumeneffekte exakt zu bestimmen. Im Gegensatz dazu werden bei der Double-Label-Blutvolumenmessung die beiden Kompartimente RCV und PV getrennt voneinander und direkt gemessen. Exakte Volumeneffekte lassen sich somit lediglich mit der Double-Label-Blutvolumenmessung bestimmen. Die vorliegende Arbeit untersuchte in einem hoch standardisierten Setup mittels direkter Blutvolumenmessung den tatsächlichen Volumeneffekt des isotonen Kristalloids Ringer-Laktat als Ersatzlösung bei akutem Blutverlust. Darüber hinaus wurde in der gleichen Studie eine hyperonkotische 20% Humanalbuminlösung auf die Fähigkeit hin untersucht, interstitiell verlorene Flüssigkeiten für den Erhalt der kardialen Vorlast zu rekrutieren. Für beide Infusionslösungen wurden bisher noch nie die exakten Volumeneffekte mittels Double-Label-Blutvolumenmessung bestimmt. Alle bisher beschriebenen Volumeneffekte basieren auf Berechnungen mit der Hämoglobin/Hämatokrit-Dilutionsmethode. Nach Bestimmung der exakten Volumeneffekte wurden diese nun mit den bisher in der Literatur beschriebenen Volumeneffekten verglichen. Darüber hinaus wurden aktuelle Studien und gültige Empfehlungen zu Infusionsregimen unter Berücksichtigung der hiermit neu gewonnenen Erkenntnisse betrachtet.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Allgemeines**

Die prospektive klinische Studie wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt. Alle Patientinnen wurden bezüglich der möglichen Nebenwirkungen der PV- und RCV-Messung am Tag vor der Operation eingehend aufgeklärt und gaben Ihre schriftliche Zustimmung zu den Messungen.

### **2.2 Das Patientenkollektiv**

In die Studie eingeschlossen wurden 10 Patientinnen mit Zervixkarzinom, die sich einer radikalen Hysterektomie unterziehen mussten. Bei diesem operativen Eingriff ist mit einem Blutverlust von teilweise über 2 Litern zu rechnen. Einschlusskriterien waren Volljährigkeit sowie die Einstufung in die Risikogruppe I oder II nach Klassifizierung der American Society of Anaesthesiologists (ASA).

### **2.3 Die Narkoseführung**

Für die Eingriffe erhielten die Patientinnen eine Allgemein- und Regionalanästhesie in Kombination gemäß Klinikstandard. Die Patientinnen wurden am Operationstag noch auf Station mit 3,75-7,5 mg Midazolam prämediziert. Nach Ankunft im Einleitungsraum wurde ein 3-Kanal EKG abgeleitet sowie ein peripherer Venenzugang etabliert. Darüber hinaus wurde bei allen Patientinnen vor Narkoseeinleitung ein Periduralkatheter (PDK) auf Höhe Th 8-12 mittels „loss-of-resistance“-Technik gelegt, durch Applikation einer Testdosis wurde die intrathekale Fehllage des PDK ausgeschlossen. Zum Ausschluss von Interaktionen wurde die primär zur postoperativen Analgesie angedachte Periduralanästhesie erst nach Abschluss der ANH und der RCV- und PV-Messung durchgeführt. Die Narkoseeinleitung erfolgte mit dem Opioid-Analgetikum Sufentanil (0,3 µg/kg KG), dem Hypnotikum (Thiopental 5-7 mg/kg KG), dem nicht-depolarisierenden Muskelrelaxans Atracurium (0,5 mg/kg KG) oder Cis-Atracurium (0,1 mg/kg KG). Nach orotrachealer Intubation wurden die Patientinnen mit einen

50%-50%igem Distickstoffmonoxid-Sauerstoff-Gemisch, unter Beimischung von 1,5-3,0 inspir. Vol% Sevofluran beatmet. Der PaO<sub>2</sub> wurde zwischen 200 und 250 mmHg, der PaCO<sub>2</sub> bei ca. 40 mmHg gehalten. Fentanyl und Cis-Atracurium wurden bedarfsgerecht nachinjiziert. Nach Narkoseeinleitung erfolgte die Kanülierung der Art. femoralis sowie die Katheterisierung der V. jugularis interna. Darüber hinaus wurden eine Magensonde sowie ein Blasendauerkatheter gelegt. Die Menge der intravenösen Flüssigkeitszufuhr wurde so gering wie möglich gehalten.

Intraoperativ wurden kontinuierlich ein 3-Kanal EKG, eine periphere Pulsoxymetrie, eine invasive arterielle Druckmessung, ZVD-Messungen und Temperaturmessungen durchgeführt. Halbstündlich wurden folgende Laborparameter aus arteriellen Blutentnahmen bestimmt: Hämatokrit (Hkt), Hämoglobin (Hb), PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, pH, Bicarbonat, Serumnatrium und Serumkalium. (Blutgasgerät ABL 300, Firma Radiometer Kopenhagen).

## **2.4 Die akute normovoläme Hämodilution**

Bei der akuten normovolämen Hämodilution (ANH) wird Vollblut gegen eine adäquate Menge eines geeigneten Infusionspräparates ausgetauscht. Das intravasale Volumen bleibt währenddessen definitionsgemäß konstant. Eine ANH ermöglicht die Gewinnung von autologem Vollblut einschließlich sämtlicher Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten. Sie kann präoperativ oder auch intraoperativ durchgeführt werden. Bei der intraoperativen ANH kann das Wundblut gesammelt, wiederaufbereitet und maschinell autotransfundiert werden. Die ANH bietet Vorteile gegenüber anderen Methoden der Fremdbluteinsparung wie zum Beispiel die präoperative Erythropoetinsubstitution oder die Eigenbluttransfusion, so dass es sich hierbei um ein gutes Alternativverfahren handelt.<sup>46</sup> Auf die einzelnen Vorteile der ANH wird detailliert in der Diskussion eingegangen. Im Rahmen der Studie wurde das Verfahren der präoperativen ANH gewählt, da sie als Modell für eine signifikante Blutungssituation einschließlich Therapie genutzt werden kann.

Für die ANH wurde Blut in einer Rate von insgesamt ca. 60 ml/min über den arteriellen und über den zentralvenösen Katheter abgezogen. Gleichzeitig wurde dieser Volumenverlust in der dreifachen Menge durch Ringer-Laktat (B. Braun, Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) wieder infundiert. Dies war ein praktikabler Kompromiss zwischen der unter

physiologischen Gesichtspunkten vorgeschlagenen 5-fachen Menge und den in der neueren Literatur vorgeschlagenen 1,4-fachen Menge.<sup>7</sup> Nach vorangegangenen Studien über die Bestimmung des Volumeneffektes mittels ANH wurde festgelegt, dass der gesamte Blutentzug 700 ml/m<sup>2</sup> body surface area (BSA) betragen sollte, um eine signifikante Blutungssituation zu simulieren, ohne einen Hämatokritabfall von unter 0,24 zu erreichen.<sup>32</sup> Die gefüllten Hämodilutionsbeutel wurden mittels Präzisionswaage gewogen, sodass das entzogene Blutvolumen „online“ bestimmt werden konnte. Zusätzlich wurde der Hkt regelmäßig gemessen, um die Einhaltung des unteren Hkt-Grenzwerts zu kontrollieren. Am Ende der Operation wurde das gesamte entzogene Blut wieder retransfundiert.

## **2.5 Der Versuchsablauf**

30 Minuten nach Narkoseeinleitung und nach Erreichen eines hämodynamisch stabilen Zustands wurde die Blutvolumenmessung „Messung 1“ durchgeführt. Dies war etwa 20 Minuten nach Narkoseeinleitung der Fall. Nach der Hämodilution erfolgte eine Equilibrierungsphase, um einen hämodynamisch stabilen Zustand vor der nächsten Blutvolumenmessung „Messung 2“ zu erreichen. Im Falle eines Blutvolumenabfalls zwischen Messung 1 und 2 wurde die Hälfte des Volumendefizits mit 20 %igem Humanalbumin (CSL Behring GmbH, Marburg, Deutschland) ausgeglichen. Dies war bei allen 10 Patientinnen der Fall. Das Plasmavolumen wurde dann nach einer erneuten Pause von 30 Minuten in einer weiteren Messung „Messung 3“ erfasst. Parallel zu den Messungen wurden der Hämatokrit und die Urinausscheidung gemessen. Abbildung 2 zeigt den zeitlichen Versuchsablauf.

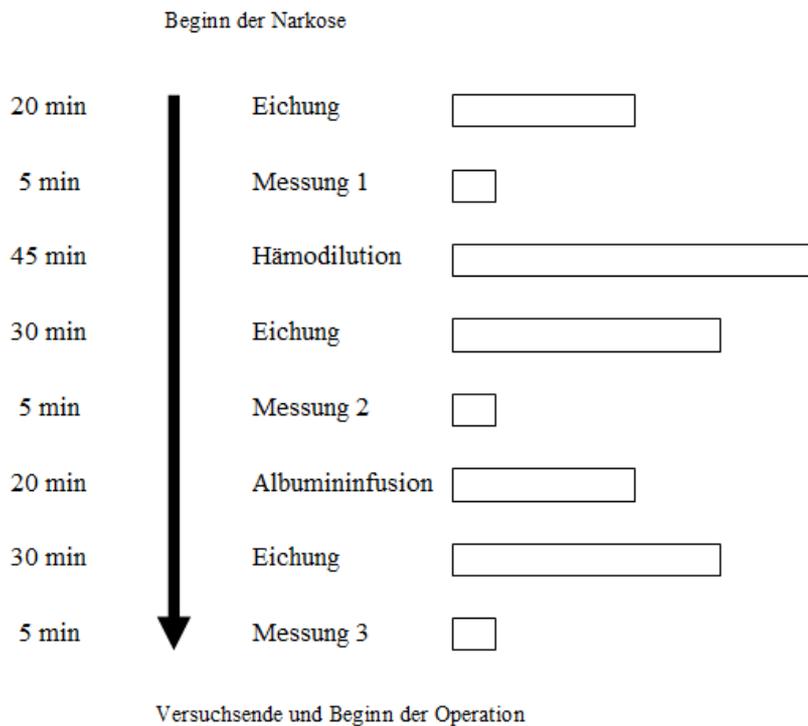


Abbildung 2: Zeitlicher Versuchsablauf mit den 3 Messungen zwischen Narkoseeinleitung und Operation.

## 2.6 Die direkte Messung des Blutvolumens

### 2.6.1 Die Messung des Erythrozytenvolumens

Das RCV wurde mittels mit Fluorescein-Natrium markierten, autologen Erythrozyten bestimmt. Diese wurden nach Markierung über den zentralen Venenkatheter reinjiziert. Nach Rezirkulation wurden Blutproben entnommen und die Verdünnung der markierten Erythrozyten im Blut mit einem Durchflusszytometer bestimmt. Dieses Verfahren erfolgte sowohl vor als auch nach der Hämodilution. Aus den Verdünnungswerten wurde das RCV mittels einer modifizierten Messmethode nach Lauer mann ermittelt.<sup>47,48</sup>

Fluorescein-Natrium ist ein Dinatrium-Salz des Fluoresceins. Es hat die Summenformel  $C_{20}H_{10}O_5Na_2$  und ein Molekulargewicht von 376 Dalton. Die Strukturformel zeigt Abbildung 3.

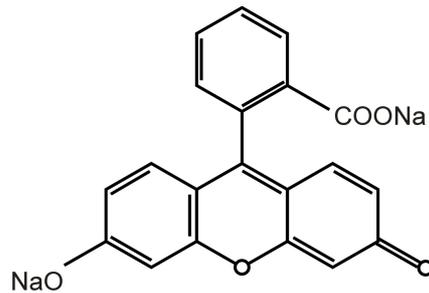


Abbildung 3: Strukturformel von Fluorescein-Natrium (SoF). (modifiziert nach Rehm M.: Volumeneffekt kolloidaler Infusionslösungen: Einfluss der endothelialen Glykokalyx)<sup>49</sup>

Die charakteristische Eigenschaft ist seine Fluoreszenz. Es wird hepatisch zu Fluoresceinmonoglucuronid metabolisiert und renal ausgeschieden. Freies Fluorescein bindet im Plasma zum überwiegenden Teil an Albumin. Die Halbwertszeit von Fluorescein wird mit 23,5 Minuten, die des schwächer fluoreszierenden Fluoresceinglucuronid mit 264 Minuten angegeben.<sup>50</sup>

Pro RCV-Bestimmung wurden 30 ml Patientenblut entnommen. Die Spritzen wurden samt Inhalt mit einer Präzisionswaage gewogen. Diese Menge wurde so gewählt, dass nach Reinjektion eine ausreichende Anzahl markierter Erythrozyten im Kreislauf gewährleistet war. Darüber hinaus sollte der dadurch entstehende Blutverlust im Verhältnis zum Gesamterythrozytenvolumen klein sein, um einen relevanten Einfluss auf die Messergebnisse zu verhindern. Das Blut wurde zentrifugiert und die Erythrozytensuspension mit 48 mg Fluorescein-Natrium für 5 Minuten inkubiert. Zur Elimination des ungebundenen Fluorescein-Natriums wurden die Erythrozyten zweimal mit Calciumgluconat aufgeschwemmt und anschließend mit Ringer-Laktat zum Ausgangsvolumen von 30 ml ergänzt. Die markierten Erythrozyten wurden über den zentralen Venenkatheter reinjiziert. Nach Reinjektion wurden die leeren Spritzen erneut mittels Präzisionswaage gewogen. Das injizierte Volumen [ml] wurde bei der späteren Berechnung des RCV bei einem spezifischen Gewicht von 1,0 in die Gewichtseinheit [mg] umgerechnet. Die Probenentnahme erfolgte jeweils 5 bis 10 Minuten nach Injektion. Die Proben wurden eisgekühlt und anschließend mittels Durchflusszytometrie untersucht. Insgesamt wurden pro Patientin 9 Einzelmessungen zur Ermittlung vor und 9 Einzelmessungen nach ANH durchgeführt. Jede Einzelmessung bestimmte in einer Gesamtmenge von 50.000 Erythrozyten die Anzahl der markierten Erythrozyten. Das Laserspektrum betrug 488 nm. Dies bedeutet, dass insgesamt 450.000

Erythrozyten vor und 450.000 Erythrozyten nach ANH ausgezählt wurden. Das Durchflusszytometer ("FACS", Fluorescent Activated Cell Sorting; FACScan, Becton Dickinson, Heidelberg, Germany) bietet die Möglichkeit, eine große Erythrozytenzahl binnen kurzer Zeit zu zählen (Abbildung 4).

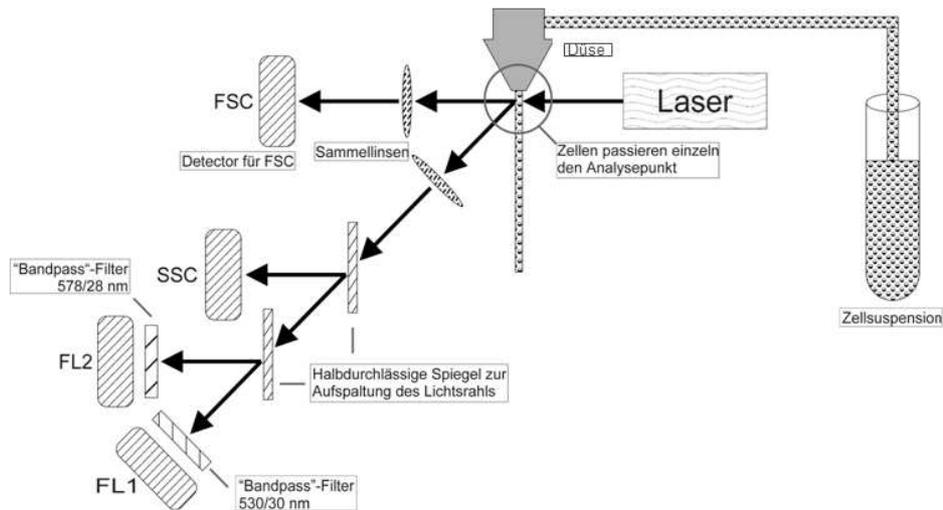


Abbildung 4: Schematischer Aufbau des Durchflusszytometers. (Rehm M. Volumeneffekt kolloidalen Infusionslösungen: Einfluss der endothelialen Glykokalyx)<sup>49</sup>

Die ermittelten Daten konnten nun in einem Histogramm dargestellt werden (schematisch in Abbildung 5). Auf der x-Achse ist die Fluoreszenzintensität logarithmisch aufgetragen. Je mehr Fluorescein eine Zelle bindet, umso höher ist ihre Fluoreszenzintensität. Die y-Achse zeigt die Anzahl der Zellen gleicher Fluoreszenzintensität. In jeder einzelnen Probe wurden 50.000 Zellen analysiert und die markierten Erythrozyten von den unmarkierten unterschieden.

Abbildung 5 zeigt schematisch die Fluoreszenzintensitäten der 50.000 untersuchten Zellen. Dabei stellt der große Peak links die große Masse unmarkierter Erythrozyten mit einer geringen Fluoreszenzintensität dar. Es handelt sich dabei um die Autofluoreszenz der Erythrozyten. Der kleine Peak rechts besteht aus den markierten Erythrozyten mit entsprechend hoher Fluoreszenzintensität. Die beiden Peaks ließen sich immer ohne Überlappung voneinander abgrenzen. Um den kleinen Peak besonders gut darzustellen und

abzugrenzen wurde er vergrößert, sodass der große Peak ganz an den linken Rand rutschte (schematisch in Abbildung 6).

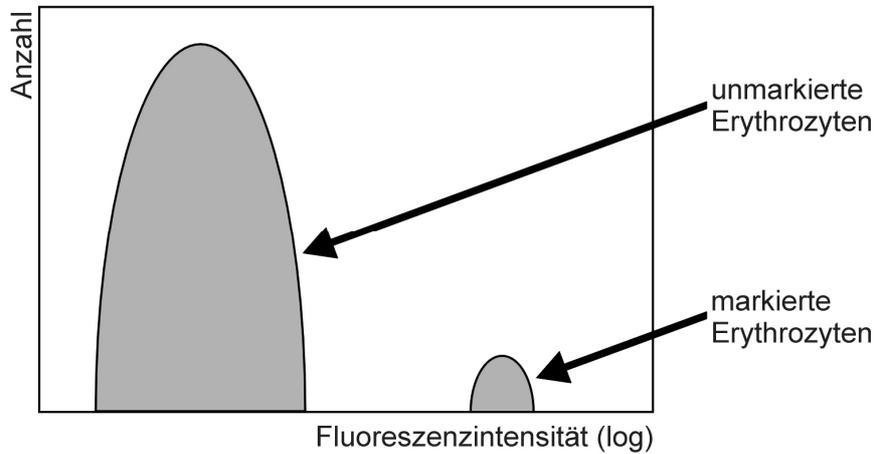


Abbildung 5: Schematisches Histogramm der Erythrozyten. (modifiziert nach Rehm M.: Volumeneffekt kolloidaler Infusionslösungen: Einfluss der endothelialen Glykokalyx)<sup>49</sup>

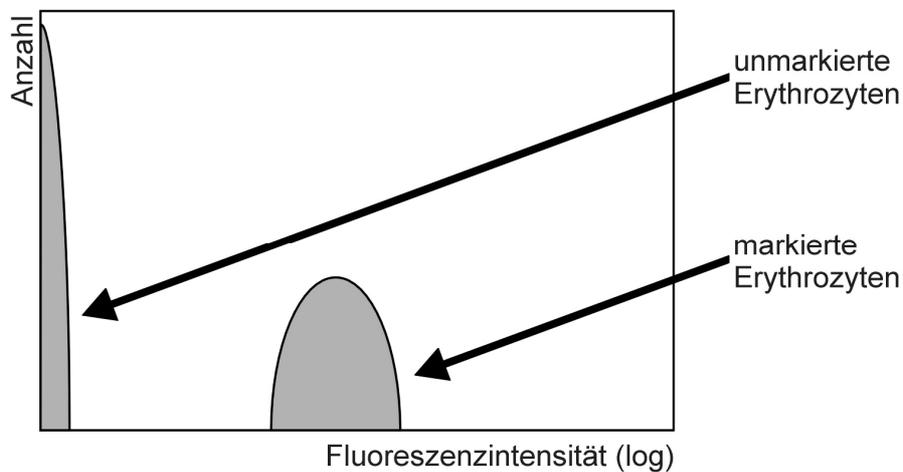


Abbildung 6: Vergrößerung des Peaks der markierten Erythrozyten. (modifiziert nach Rehm M.: Volumeneffekt kolloidaler Infusionslösungen: Einfluss der endothelialen Glykokalyx)<sup>49</sup>

Nun wurden zwei Grenzlinien eingefügt, zwischen denen alle Zellen vom Computerprogramm als markiert gezählt wurden (Abbildung 7). Dabei wurde die rechte Begrenzung ganz an den Rand der Fluoreszenzintensitäts-Skala gesetzt. Die Anzahl der

Zellen innerhalb der Grenzlinien stellt die Menge der markierten Erythrozyten bezogen auf 50.000 gezählte dar. Abbildung 8 zeigt die Originalhistogramme einer Messung.

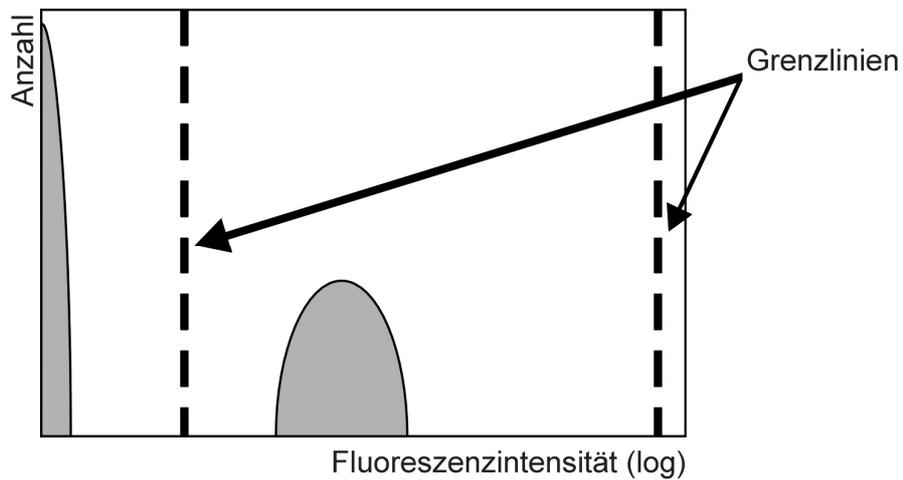


Abbildung 7: Eingezeichnete Grenzlinien. (modifiziert nach Rehm M.: Volumeneffekt kolloidaler Infusionslösungen: Einfluss der endothelialen Glykokalyx)<sup>49</sup>

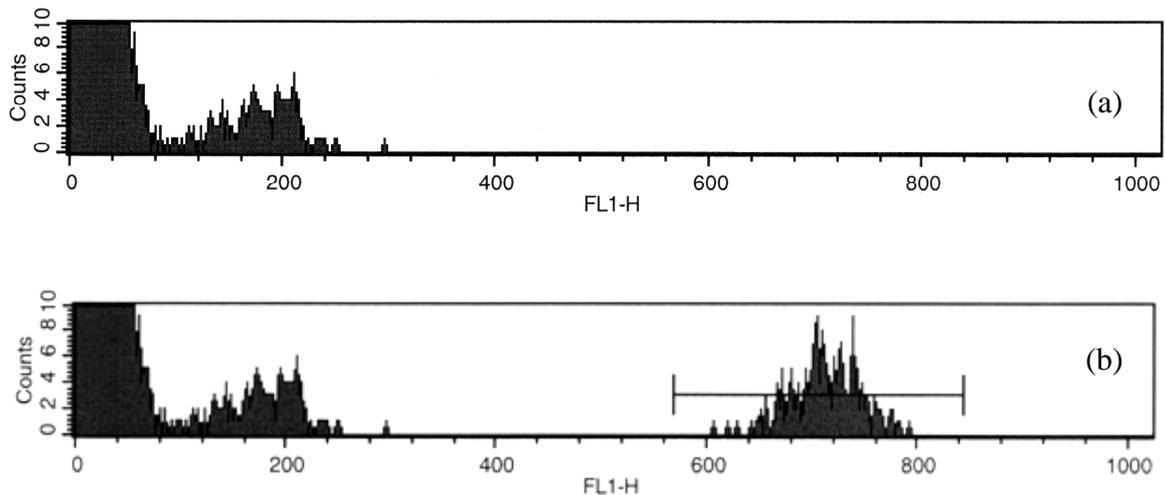


Abbildung 8: FACS-Histogramme von Blut ohne (a) und mit (b) markierten Erythrozyten

Beispielrechnung zur Ermittlung des Verdünnungsfaktors einer Patientin (Patientin 8):

Der Peak enthielt **527** fluoreszenzmarkierte Erythrozyten. Da insgesamt **50.000** analysiert wurden erhielt man den Verdünnungsfaktor ( $F_{RCf}$  = Fraktion der fluoreszierenden Red Cells) als Verhältnis von markierten zu unmarkierten Erythrozyten:

$$F_{RCf} = 527/50.000 = 0,011$$

Da insgesamt 9 Einzelmessungen à 50.000 Zellen analysiert wurden, also insgesamt 450.000 Erythrozyten ausgezählt wurden, ergab sich der Verdünnungsfaktor aus der mittleren Anzahl markierter Erythrozyten pro 50.000. Dieser Verdünnungsfaktor ( $F_{RCf}$ ) ging in die Berechnung des RCV mit ein.

Mit dem Coulter Cell Counter (Coulter STKR, Coulter Electronics, Miami, FL) aus unserem Notfalllabor wurde darüber hinaus die zur Berechnung des RCV notwendige Erythrozytenanzahl des Injektats pro ml ( $E_i$ ) und die Anzahl Erythrozyten pro ml Patientenblut ( $E_p$ ) bestimmt.

Das RCV wurde nach folgender Formel errechnet:

$$RCV [ml] = (E_i \times V_i \times Hkt_{LV}) / (E_p \times F_{RCf})$$

$E_i$  = Zahl der injizierten Erythrozyten [1/ml]

$V_i$  = Volumen injizierter markierter Zellen [ml]

$Hkt_{LV}$  = arteriell (3-fach) gemessener Patientenhämatokrit

$E_p$  = Zahl der Erythrozyten im Vollblut [1/ml]

$F_{RCf}$  = Anteil der im FACS ermittelten fluoreszierenden Erythrozyten

Beispielrechnung zur Bestimmung des RCV einer Patientin (Patientin 8):

Es wurden **30,156 ml** ( $V_i$ ) markierte Zellsuspension mit  **$4,05 \times 10^9$**  ( $E_i$ ) Erythrozyten pro ml injiziert.

Der mittlere  $Hkt_{LV}$  der nach der Injektion entnommenen Blutproben betrug 30 Vol% (entspricht **0,30** als Fraktion). Die dazu gehörige mittlere Erythrozytenzahl pro ml Vollblut belief sich auf  **$3,4 \times 10^9$**  ( $E_p$ ).

Das Durchflusszytometer zählte im Mittel 527 gefärbte Erythrozyten unter 50.000 insgesamt gezählten Erythrozyten im Blut der Patientin. Als Verdünnungsfaktor ( $F_{RCf}$ ) ergab sich also folgender Wert:  $F_{RCf} = 527 / 50.000 = 0,011 = \mathbf{11 \times 10^{-3}}$

Setzt man diese Messwerte in die Gleichung zur RCV-Bestimmung ein, ergibt sich folgendes Ergebnis:

$$\mathbf{RCV = ((4,05 \times 10^9) \times 30,156 \times 0,30) / ((3,4 \times 10^9) \times (11 \times 10^{-3})) = 980 \text{ ml}}$$

## **2.6.2 Die Messung des Plasmavolumens**

Die Methode der PV-Messung mittels Indocyaningrün (ICG) im Vollblut wurde erstmals von Bradley und Barr beschrieben<sup>37</sup> und an unserer Klinik entscheidend weiterentwickelt.<sup>51,52</sup> Bei dieser sogenannten Vollblutmethode wird eine Farbstoffkonzentration im nativen Vollblut gemessen. Nach Systemkalibrierung wird ein ICG-Farbstoffbolus über einen zentralen Venenkatheter injiziert. Nach Verteilung im Kreislauf wird die ICG-Konzentration mittels eines von unserer Arbeitsgruppe entwickelten Photometers ermittelt, elektronisch verarbeitet und als Messsignal in Millivolt (mV) abgebildet (Abbildung 9).

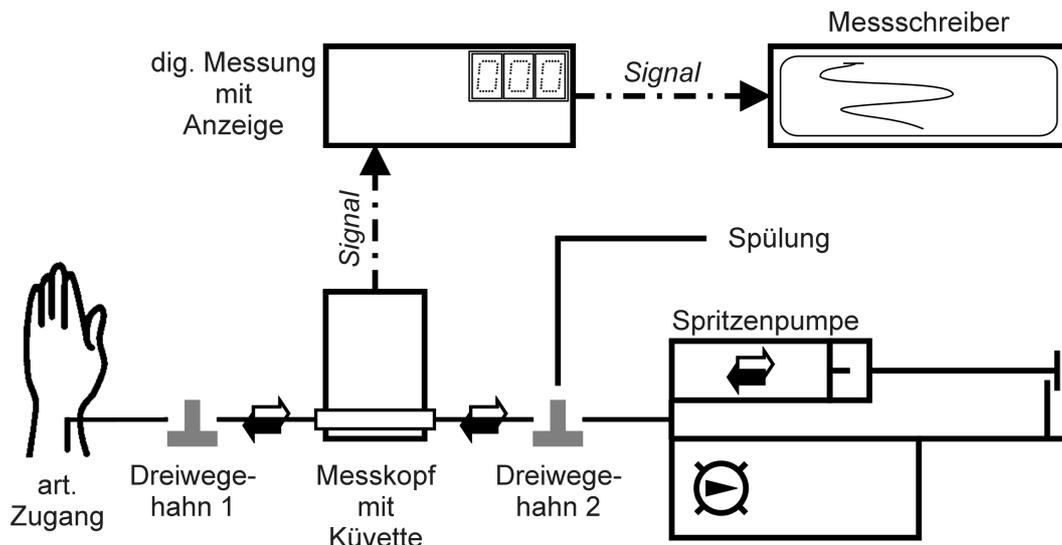


Abbildung 9: Schematischer Aufbau der Messeinheit zur ICG-Konzentrationsmessung. (modifiziert nach Rehm M.: Volumeneffekt kolloidaler Infusionslösungen: Einfluss der endothelialen Glykokalyx)<sup>49</sup>

Zur Bestimmung des PV wurde der Marker ICG (ICG-Pulsion, Pulsion Medical Systems, München, Germany) mit der Summenformel  $C_{43}H_{47}N_2NaO_6S_2$  (Molekulargewicht 775 Dalton) verwendet. Die Strukturformel lautet Anhydro-3,3,3,3'-Tetramethyl-1,1'-di(4-Sulfobutyl)-4,5,4',5-Dibenzoindotricarbocyanin-Hydroxyd-Natrium-Salz (Abbildung 10).

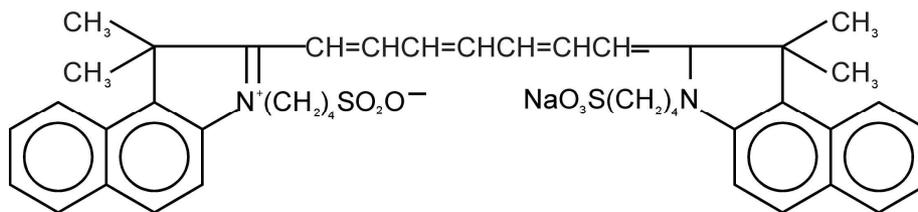


Abbildung 10: Strukturformel von Indocyaningrün. (modifiziert nach Rehm M.: Volumeneffekt kolloidaler Infusionslösungen: Einfluss der endothelialen Glykokalyx)<sup>49</sup>

ICG bindet nach Bolusinjektion vollständig an Plasmaproteine<sup>53</sup>, speziell an Albumin, und wird rasch über die Leber aus der Blutbahn eliminiert. Die Halbwertszeit von ICG im menschlichen Plasma liegt bei 3 Minuten. Eine komplette Durchmischung des Farbstoffs mit dem Plasma kann nach 2 Minuten post injectionem erwartet werden. Das Absorptionsmaximum des an Albumin gebundenen ICG beträgt 800 nm. Bei 900 nm ist keine

Extinktion des Farbstoffs nachweisbar. Es muss im arteriellen Blut gemessen werden, da die variable Sauerstoffsättigung des Hämoglobins im venösen Blut auf die 900 nm-LED des Photometers als Störfaktor Einfluss nehmen könnte. Die Extinktion des Blutes wurde sowohl mit 800 nm als auch mit 900 nm gemessen. Abbildung 11 zeigt ein typisches Spektrogramm von ICG.

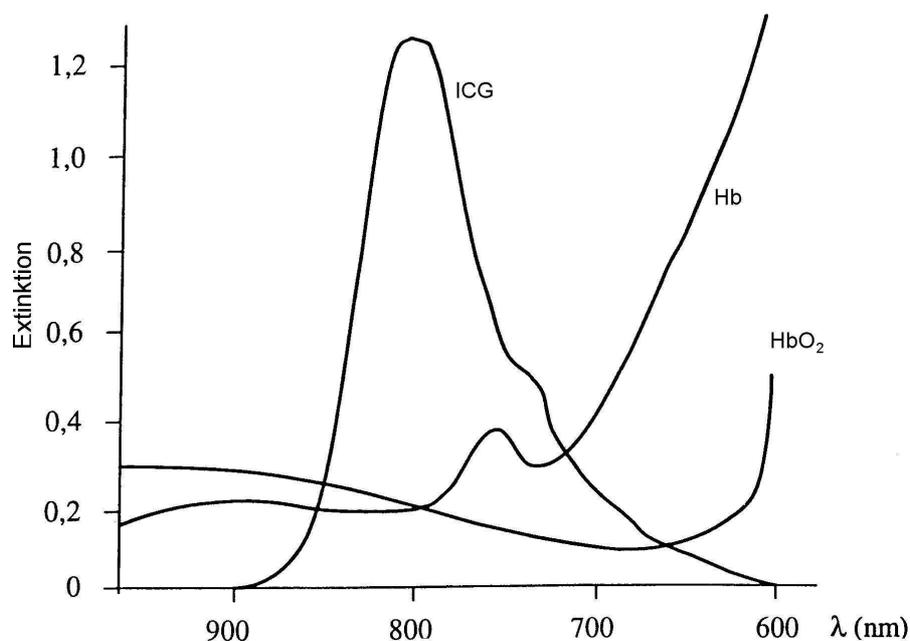


Abbildung 11: Spektrogramm von Indocyaningrün und Hämoglobin; Wellenlänge [ $\lambda$ ], Indocyanin- Grün [ICG], ungesättigtes Hämoglobin [Hb] und mit Sauerstoff gesättigtes Hämoglobin [HbO<sub>2</sub>]. (modifiziert nach Rehm M.: Volumeneffekt kolloidaler Infusionslösungen: Einfluss der endothelialen Glykokalyx)<sup>49</sup>

Das auftreffende Licht wird von dem in der Küvette enthaltenen Medium, also hier Vollblut, teilweise absorbiert. Dabei ist die Absorption entweder „unspezifischer“ Natur und durch die Trübung des Vollblutes verursacht oder sie ist „spezifisch“ und wird durch ICG verursacht. Das Licht, das durch die 800 nm- LED emittiert wird, wird sowohl durch spezifische (ICG), als auch durch unspezifische Absorption (Vollblut) verändert. Bei 900 nm erfolgt die Absorption nur durch unspezifische Trübung. Die Differenz der Absorptionen bei 800 und 900 nm ist ein Maß für die spezifische ICG-Absorption und hiermit für die ICG-Konzentration. Voraussetzung ist, dass vor der ICG-Messung ein elektronischer Nullabgleich mit „Nullblut“ (Blut ohne Farbstoff) erfolgt. Im Densitometer wird das von den Leuchtdioden emittierte Licht nach Durchgang durch die Küvette von einem Phototransistor registriert, nachfolgend elektronisch verarbeitet und als Messsignal in Millivolt (mV) produziert. Im Bereich zwischen 0 und ca. 800 mV stellt das Gerät eine exakte lineare Beziehung zwischen ICG-Konzentration im Vollblut und elektrischer Spannung her. In höheren

Konzentrationsbereichen ist diese Linearität nicht mehr gewährleistet, sodass dann eine erneute Messung mit weniger ICG zu erfolgen hat. Wenn die ersten Messpunkte außerhalb des linearen Bereiches liegen, z.B. bei einem besonders kleinen PV des Patienten, kann entweder eine erneute Messung mit einer geringeren Menge an ICG oder auch eine Extrapolation anhand von späteren Messzeitpunkten durchgeführt werden.

Eine Eichung ist für die Vollblutmethode unabdingbar, da schon beim Verdünnungsansatz des Farbstoffes Ungenauigkeiten entstehen können. Unmittelbar vor jeder zentralvenösen Farbstoffinjektion wurde eine Zwei-Punkt-Kalibrierung durchgeführt. Es wurden bekannte Mengen des Farbstoffs in bekannte Volumina des Patientenblutes eingebracht und gemessen. Diese somit bekannten Konzentrationen wurden vom Schreiber als Ausschläge in Millimeter angezeigt. Die 2 Punkte wurden in ein Koordinatensystem mit der ICG-Konzentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) auf der x-Achse und der Schreiberauslenkung (mm) auf der y-Achse eingetragen. Durch die 2 Punkte wurde eine Eichgerade mit der Funktion  $y = a \cdot x + b$  gelegt (Abbildung 12). Bei den späteren Registrierungen entstehende Schreiberauslenkungen (mm) konnten dann eindeutig den entsprechenden ICG-Konzentrationen zugeordnet werden. Ein neuer Verdünnungsansatz musste in jedem Fall mit einer eigenen Eichung verbunden sein. Da in vivo permanent mit geringen Schwankungen des Großgefäßhämatokrits zu rechnen ist, lagen Eichung und Injektion bzw. PV- Bestimmung zeitlich dicht beieinander.

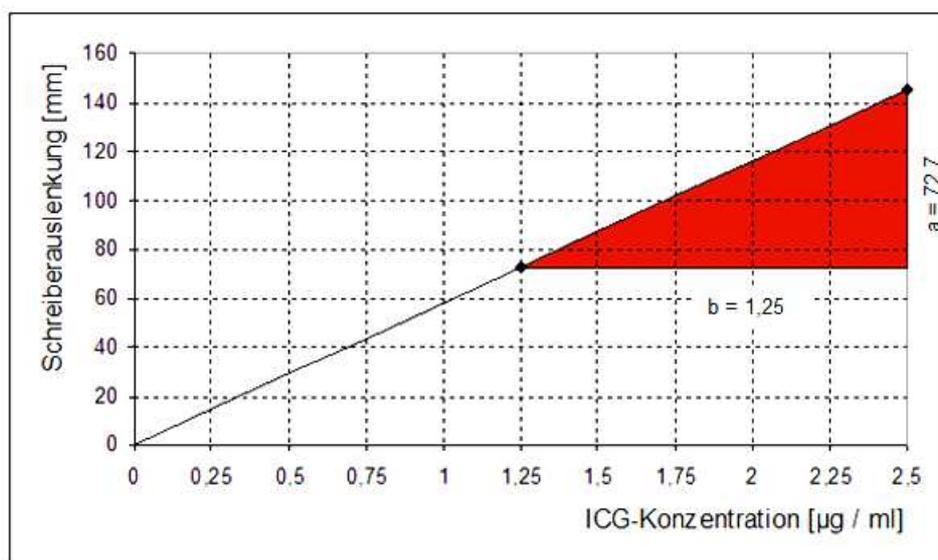


Abbildung 12: Exemplarische Eichgerade einer Patientin (Patientin 8)

Nach der Eichung wurden 0,25 mg/kg Körpergewicht ICG über 5 Sekunden in den zentralen Venenkatheter injiziert und mit 10 ml Kochsalzlösung nachgespült. Diese Injektion wurde als Zeitpunkt 0 bezeichnet. Zwischen der 2. und 5. Minute nach Injektion wurde kontinuierlich Blut aus dem arteriellen Katheter durch eine mit dem Photometer verbundene Küvette gesogen. Dies erfolgte mit einer kalibrierten Pumpe in einer Geschwindigkeit von etwa 20 ml/min. Nach Durchlauf der Küvette wurde das leicht heparinisierte Blut unmittelbar wieder infundiert. Die ICG-Konzentration zur Injektionszeit wurde mit 19 Extinktionswerten zwischen den Minuten 3 und 5 halblogarithmisch auf einer Geraden aufgetragen (Abbildung 13). Alle 10 Sekunden fand eine Messung statt. Wenn Werte zu Anfang der Geraden nicht linear in Bezug auf die folgenden Werte waren, wurde dies auf eine unzureichende Durchmischung zu diesem frühen Zeitpunkt zurückgeführt, und die 3. Minute aus der Extrapolation ausgeschlossen. Entscheidend war das Bestimmtheitsmaß  $R^2 < 0,99$  der ersten 6 aufgetragenen Extinktionswerte. Der Schnittpunkt dieser Geraden mit dem Zeitpunkt 0 Minuten ergab einen theoretischen Ausschlag in Millimetern. Setzt man diesen Wert in Bezug zur Eichgeraden, erhält man die theoretische Konzentration von Vollblut zum Zeitpunkt 0 ( $CB_0$ ) [ $\mu\text{g/ml}$ ].

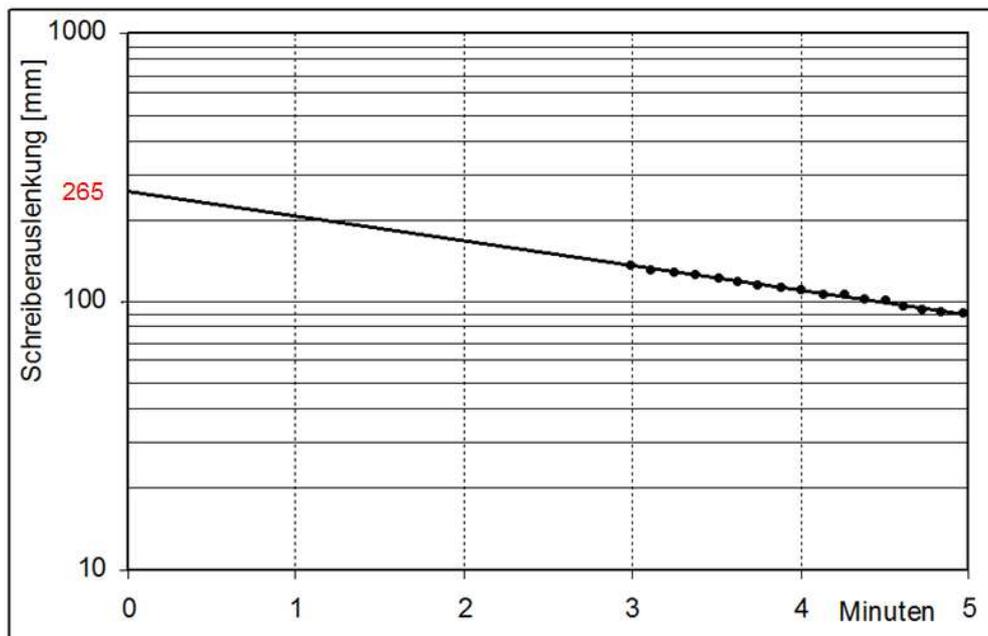


Abbildung 13: Exemplarische Messgerade (Patientin 8)

Da sich der Farbstoff ICG nur im Plasma verteilt, muss zur korrekten Bestimmung des PV zunächst die Konzentration im Vollblut mittels des aktuellen Hämatokrits auf eine theoretische ICG-Konzentration im Plasma umgerechnet werden. Diese läge vor, wenn durch die Küvette reines Plasma ohne Erythrozyten strömen würde.

Die theoretische Plasmakonzentration ( $CP_0$ ) wurde wie folgt ermittelt:

$$CP_0 [\mu\text{g/ml}] = CB_0 [\mu\text{g/ml}] / (1 - Hkt_{LV})$$

$CP_0$  = theoretische Plasmakonzentration [ $\mu\text{g/ml}$ ]

$CB_0$  = theoretische Vollblutkonzentration [ $\mu\text{g/ml}$ ]

$Hkt_{LV}$  = Großgefäßhämatokrit

Das PV wird wie folgt errechnet:

$$PV [\text{ml}] = D [\mu\text{g}] / CP_0 [\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}]$$

$D$  = Menge des injizierten Farbstoffs (mittels Präzisionswaage ermittelt)

Beispielrechnung zur Bestimmung des PV einer Patientin (Patientin 8):

(Berechnung des theoretischen  $CB_0$ -Wertes anhand der Abbildungen 12 und 13)

Die Schreiberauslenkung der theoretischen ICG-Konzentration von Vollblut zum Zeitpunkt 0 ( $CB_0$ ) liegt bei 265 mm.

Setzt man diesen Wert und die Werte der Eichmessung in die Funktion der Eichgeraden ( $y = a \cdot x + b$ ) ein, ergibt sich folgende Berechnung:

$$y = 72,7 \cdot x + 1,25 \quad \Leftrightarrow \quad x = (265 + 1,25) / 70,7 = 3,78$$

Somit liegt in dem Beispiel der theoretische  $CB_0$ -Wert bei **3,78  $\mu\text{g/ml}$** .

Der  $Hkt_{LV}$  liegt bei **32 Vol%** (entspricht 0,32 als Fraktion).

Die theoretische Plasmakonzentration ( $CP_0$ ) beträgt also:

$$CP_0 = 3,78 / (1-0,32) = \mathbf{5,56 \mu g/ml}$$

Die Gesamtmenge (D) [ $\mu g$ ] des injizierten Farbstoffs ICG berechnet sich bei der 60 kg schweren Patientin bei einer ICG-Dosierung von 0,25 mg/kgKG wie folgt:

$$D = 60 \text{ kg} \times 0,25 \text{ mg/kg} = 15 \text{ mg} = \mathbf{15000 \mu g}$$

Das ermittelte Plasmavolumen beträgt also:

$$PV = 15000 \mu g / 5,56 \mu g/ml = \mathbf{2695 \text{ ml}}$$

### **2.6.3 Die Bestimmung des Hämatokrit**

Der zur RCV- und PV-Bestimmung benötigte  $Hkt_{LV}$  ist der Zentrifugenhämatokrit unseres Forschungslabors, der mittels Dreifachmessung der Hämatokritzentrifuge (Fa. Hawksley, Zentrifugierzeit 4 Minuten, Radius 15 cm, 12.000 Umdrehungen pro Minute) bestimmt und mit der Schieblehre abgelesen wurde. Eine Korrektur für „plasma trapping“ erfolgte nicht. Unter „plasma trapping“ versteht man die Tatsache, dass die Erythrozytensäule der Hämatokritkapillare immer einen geringen Anteil Plasma enthält.<sup>54</sup>

## 2.7 Berechnungen

Die Berechnung der Body surface area (BSA) wurde nach der Formel von Gehan und George<sup>55</sup> wie folgt berechnet:

$$\text{BSA [m}^2\text{]} = 0,0235 \times \text{Gewicht [kg]}^{0,51456} \times \text{Größe [cm]}^{0,42246}$$
$$\text{Beispiel: BSA} = 0,0235 \times 60 \text{ kg}^{0,51456} \times 165 \text{ cm}^{0,42246} = 1,71 \text{ m}^2$$

Der Body Mass Index (BMI) wurde wie folgt berechnet:

$$\text{BMI [kg x m}^{-2}\text{]} = \text{Gewicht [kg]} \times (\text{Größe [m]})^{-2}$$
$$\text{Beispiel: BMI} = 65 \text{ kg} \times 1,65 \text{ m}^{-2} = 23,7 \text{ kg x m}^{-2}$$

Der theoretische Ganzkörperhämatokrit ( $\text{Hkt}_{\text{WB}}$ ) stellt einen ermittelten mittleren Hämatokrit des zirkulierenden Blutes dar, der mittels gemessener Blutkomponenten ermittelt wurde.

$$\text{Hkt}_{\text{WB}} = \text{RCV [ml]} \times \text{BV}^{-1}[\text{ml}]$$
$$\text{Beispiel: Hkt}_{\text{WB}} = 1250 \text{ ml} \times 4232 \text{ ml}^{-1} = 0,30$$

Der  $\text{Hkt}_{\text{WB}}$  ist in der Regel etwas niedriger als der in der klinischen Routine gemessene  $\text{Hkt}_{\text{LV}}$ . Dieses Phänomen basiert auf dem f-cell-Wert und beträgt in der Regel  $< 1^{11}$ .

$$\text{f-cell} = \text{Hkt}_{\text{WB}} \times \text{Hkt}_{\text{LV}}^{-1}$$
$$\text{Beispiel: f-cell} = 0,30 \times 0,35^{-1} = 0,86$$

Die Ursache des Unterschieds zwischen  $\text{Hkt}_{\text{WB}}$  und  $\text{Hkt}_{\text{LV}}$  ist aller Wahrscheinlichkeit nach die Existenz der endothelialen Glykokalyx, die mit Plasmaproteinen den Endothelial Surface Layer (ESL) bildet und das direkt gemessene zirkulierende Gesamtplasmavolumen in ein zirkulierendes Plasmavolumens ( $\text{PV}_{\text{circ}}$ ) und einen nicht-zirkulierenden Teil, den ESL unterteilt.<sup>42</sup>

$$PV_{\text{circ}} [\text{ml}] = (\text{RCV} [\text{ml}] \times (1 - \text{Hkt}_{\text{LV}})) \times \text{Hkt}_{\text{LV}}^{-1}$$

$$\text{Beispiel: } PV_{\text{circ}} = (1428 \text{ ml} \times (1 - 0,35)) \times 0,35^{-1} = 2652 \text{ ml}$$

$$\text{ESL} [\text{ml}] = \text{PV} [\text{ml}] - PV_{\text{circ}} [\text{ml}]$$

$$\text{Beispiel: } \text{ESL} = 2982 \text{ ml} - 2652 \text{ ml} = 330 \text{ ml}$$

Der exakte Wert des Blutvolumens resultiert aus der Addition des direkt gemessenen RCV und PV:

$$\text{BV} [\text{ml}] = \text{RCV} [\text{ml}] + \text{PV} [\text{ml}]$$

$$\text{Beispiel: } \text{BV} = 1250 \text{ ml} + 2982 \text{ ml} = 4232 \text{ ml}$$

Das virtuelle Erythrozytenvolumen berechnet sich aus dem exakten Wert des Blutvolumens [ml] (Zugeständnis) und dem gemessenen  $\text{Hkt}_{\text{LV}}$ :

$$\text{RCV}_{\text{virt.}} [\text{ml}] = \text{BV} [\text{ml}] \times \text{Hkt}_{\text{LV}}$$

$$\text{Beispiel: } \text{RCV}_{\text{virt.}} = 4142 \text{ ml} \times 0,30^{-1} = 1243 \text{ ml}$$

Das vor ANH berechnete virtuelle Blutvolumen ( $\text{BV-1}_{\text{virt.}}$ ) resultiert aus dem „virtuellen RCV-1“ und dem gemessenen  $\text{Hkt}_{\text{LV-1}}$ :

$$\text{BV-1}_{\text{virt.}} [\text{ml}] = \text{RCV-1} [\text{ml}] \times \text{Hkt}_{\text{LV-1}}^{-1}$$

$$\text{Beispiel: } \text{BV-1}_{\text{virt.}} = 1018 \text{ ml} \times 0,30^{-1} = 3393 \text{ ml}$$

Das nach ANH berechnete virtuelle Blutvolumen ( $\text{BV-2}_{\text{virt.}}$ ) resultiert aus dem „virtuellen RCV-1“ dem Erythrozytenentzug (EE) während der ANH und dem gemessenen  $\text{Hkt}_{\text{LV-2}}$ :

$$BV-2_{\text{virt.}} [\text{ml}] = (\text{RCV}_{\text{virt.}-1} [\text{ml}] - \text{EE}[\text{ml}]) \times \text{Hkt}_{\text{LV}-2}^{-1}$$

$$\text{Beispiel: } BV-2_{\text{virt.}} = (1466 \text{ ml} - 428 \text{ ml}) \times 0,23^{-1} = 4513 \text{ ml}$$

Das nach Kolloidinfusion berechnete virtuelle Blutvolumen ( $BV-3_{\text{virt.}}$ ) resultiert aus dem „virtuellen RCV-2“ und dem gemessenen  $\text{Hkt}_{\text{LV}-3}$ :

$$BV-3_{\text{virt.}} [\text{ml}] = \text{RCV}_{\text{virt.}-2} [\text{ml}] \times \text{Hkt}_{\text{LV}-3}^{-1}$$

$$\text{Beispiel: } BV-3_{\text{virt.}} = 1018 \text{ ml} \times 0,21^{-1} = 4847 \text{ ml}$$

Berechnung des Blutentzugs (BE) während ANH:

Das Leergewicht der Beutel (40g) und der CPDA1-Stabilisatorinhalt (70g bzw. 70ml) ergaben zusammen eine Summe von 110g, die vom Vollgewicht der ANH-Beutel abgezogen werden musste. Das spezifische Gewicht des Blutes wurde mit 1,05 veranschlagt. Daraus ergab sich folgende Gleichung:

$$\text{BE} [\text{ml}] = (\text{ANH-Beutel-Vollgewicht} [\text{g}] - 110\text{g}) / 1,05$$

$$\text{Beispiel: Blutentzug} = (480 \text{ g} - 110 \text{ g}) / 1,05 = 352 \text{ ml}$$

Der Erythrozytengehalt des ANH-Beutels ( $E_{\text{Beutel}}$ ):

$$E_{\text{Beutel}} = (\text{BE} [\text{ml}] + 70 \text{ ml}) \times \text{Hkt}_{\text{Beutel}}$$

$$\text{Beispiel: } E_{\text{Beutel}} = (352 \text{ ml} + 70 \text{ ml}) \times 0,35 = 148 \text{ ml}$$

Der Volumeneffekt (in Prozent) nach ANH entspricht dem Verhältnis „Veränderung des Blutvolumens ( $\Delta BV$ )“ zur eingesetzten Menge Kristalloid (KR) unter Berücksichtigung des Blutentzugs (BE). Er wird mit folgender Formel berechnet:

$$VE [\%] = (\Delta BV) [\text{ml}] + BE [\text{ml}] \times KR^{-1} [\text{ml}]$$

$$\text{Beispiel: } VE = (-460 \text{ ml} + 1100 \text{ ml}) \times 3400^{-1} \text{ ml} = 0,17 = 17 \%$$

Der Volumeneffekt (in Prozent) nach Kolloidinfusion entspricht dem Verhältnis „Veränderung des Blutvolumens ( $\Delta BV$ )“ zur eingesetzten Menge Kolloid (KO). Er wird mit folgender Formel berechnet:

$$VE[\%] = \{ \Delta BV [\text{ml}] / KO [\text{ml}] \} \times 100$$

$$\text{Beispiel: } VE = (378 \text{ ml} / 200 \text{ ml}) \times 100 = 149 \%$$

Darüber hinaus konnte der kumulative Anstieg des interstitiellen Wassergehalts nach ANH ( $IE_{ANH}$ ) und nach Kolloidinfusion ( $IE_{KO}$ ) im Vergleich zur den Ausgangswerten wie folgt berechnet werden:

$IE_{ANH}$  ergibt sich aus der Bilanz von Ein- und Ausfuhr während der ANH und der Differenz der Blutvolumina aus den Messungen 1 und 2. Addiert man Bilanz und Blutvolumendifferenz erhält man den Anstieg des  $IE_{ANH}$ .

$$IE_{ANH} [\text{ml}] = (KR [\text{ml}] - BE [\text{ml}] - UA_{ANH} [\text{ml}]) + (BV-1 [\text{ml}] - BV-2 [\text{ml}])$$

Beispiel:

$$IE_{ANH} [\text{ml}] = (3430 \text{ ml} - 1097 \text{ ml} - 635 \text{ ml}) + (3959 \text{ ml} - 3501 \text{ ml}) = 2157 \text{ ml}$$

KR: Kristalloidlösung [ml]

BE: Blutentzug [ml]

$UA_{ANH}$ : Urinausscheidung während ANH [ml]

BV-1: Blutvolumen vor ANH [ml]

BV-2: Blutvolumen nach ANH [ml]

Zur Bestimmung des interstitiellen Wassergehaltes nach Kolloidinfusion ( $IE_{KO}$ ) werden vom  $IE_{ANH}$  als Ausgangswert des sich bereits interstitiell befindenden Wassergehalts die Differenz der Blutvolumina aus den Messungen 3 und 2 sowie die Urinausscheidung während der Kolloidinfusion subtrahiert, das Volumen der Kolloidlösung addiert.

$$IE_{KO} [ml] = IE_{ANH} [ml] - (BV-3 [ml] - BV-2 [ml]) + KO [ml] - UA_{KO} [ml]$$

$$\text{Beispiel: } IE_{KO} = 2157 \text{ ml} - (3934 \text{ ml} - 3501 \text{ ml}) + 254 \text{ ml} - 884 \text{ ml} = 1719 \text{ ml}$$

BV-3: Blutvolumen nach Kolloidinfusion [ml]

BV-2: Blutvolumen nach ANH [ml]

KO: Kolloidinfusion [ml]

$UA_{KO}$ : Urinausscheidung während Kolloidinfusion [ml]

## 2.8 Statistik

Alle Daten werden als Mittelwert mit Standardabweichung angegeben. n ist die Anzahl der Patienten. Alle Variablen wurden mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung und mittels Levenes-Test auf Varianzgleichheit geprüft. Zum Vergleich mehrerer Messungen wurden wiederholte Varianzanalysen (ANOVA) nach Fisher durchgeführt. Wurden signifikante Ergebnisse gezeigt, wurde bei den Einzelmessungen der Student-t-Test herangezogen. Ein p-Wert von  $< 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet. Bei der angewandten Statistiksoftware handelte es sich um SPSS 18 (SPSS Inc., Chicago,IL).

### 3. Ergebnisse

Die Messungen fanden im Zeitraum Februar 2007 bis Dezember 2009 statt. Die Patientinnen waren zwischen 28 und 63 Jahre alt, wobei das mittlere Alter bei  $46 \pm 11$  Jahren lag. Ihr Körpergewicht betrug zwischen 47 und 92 kg, im Mittel  $65 \pm 14$  kg. Die mittlere Körpergröße lag bei  $165 \pm 4$  cm. Die hieraus errechnete Körperoberfläche (Body Surface Area - BSA) <sup>55</sup> lag im Mittel bei  $1,71 \text{ m}^2$ .

Patientin	Alter [a]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	BSA [m <sup>2</sup> ]	BMI [kg/m <sup>2</sup> ]
1	29	170	61	1,702	21,1
2	47	168	58	1,652	20,5
3	56	158	62	1,648	24,8
4	50	158	72	1,766	28,8
5	60	168	92	2,046	32,6
6	63	168	83	1,951	29,4
7	46	162	50	1,512	19,1
8	37	163	60	1,651	22,6
9	34	168	47	1,499	16,7
10	39	164	60	1,657	22,3
<b>MW</b>	<b>46</b>	<b>165</b>	<b>65</b>	<b>1,709</b>	<b>23,8</b>
<b>SA</b>	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>14</b>	<b>0,174</b>	<b>5,1</b>
<b>Min.</b>	<b>29</b>	<b>158</b>	<b>47</b>	<b>1,499</b>	<b>16,7</b>
<b>Max.</b>	<b>63</b>	<b>170</b>	<b>92</b>	<b>2,046</b>	<b>32,6</b>

Tabelle 1: Anthropometrische Daten und Patientenkollektiv (n = 10). Die Werte sind als Mittelwerte mit Standardabweichung dargestellt. Alter [a], Größe [cm], Gewicht [kg], BSA = Körperoberfläche [m<sup>2</sup>], BMI = Body Mass Index [kg/m<sup>2</sup>]

### 3.1 Messzeitpunkt vor der akuten normovolämen Hämodilution

#### 3.1.1 Das Erythrozytenvolumen

Tabelle 2 stellt die zur Berechnung des Erythrozytenvolumens notwendigen Parameter vor ANH dar.

Patientin	RC <sub>i</sub> -1	Vi-1	Hkt <sub>LV</sub> -1	F <sub>RCf</sub> -1	RC <sub>p</sub> -1	RCV-1 [ml]
1	4,3 x 10 <sup>9</sup>	27,21	0,35	7,8 x 10 <sup>-3</sup>	2,9 x 10 <sup>9</sup>	1387
2	3,57 x 10 <sup>9</sup>	29,14	0,40	7,5 x 10 <sup>-3</sup>	3,58 x 10 <sup>9</sup>	1698
3	4,37 x 10 <sup>9</sup>	27,47	0,33	9,9 x 10 <sup>-3</sup>	3,72 x 10 <sup>9</sup>	998
4	3,36 x 10 <sup>9</sup>	29,05	0,35	5,8 x 10 <sup>-3</sup>	3,97 x 10 <sup>9</sup>	1163
5	3,66 x 10 <sup>9</sup>	28,02	0,38	9,2 x 10 <sup>-3</sup>	3,25 x 10 <sup>9</sup>	1313
6	5,2 x 10 <sup>9</sup>	31,86	0,42	11,6 x 10 <sup>-3</sup>	4,29 x 10 <sup>9</sup>	1607
7	4,18 x 10 <sup>9</sup>	30,11	0,34	8,2 x 10 <sup>-3</sup>	4,75 x 10 <sup>9</sup>	1295
8	4,3 x 10 <sup>9</sup>	30,27	0,32	8,5 x 10 <sup>-3</sup>	4,16 x 10 <sup>9</sup>	1104
9	5,18 x 10 <sup>9</sup>	30,73	0,26	8,3 x 10 <sup>-3</sup>	4,75 x 10 <sup>9</sup>	907
10	4,26 x 10 <sup>9</sup>	25,59	0,35	7,8 x 10 <sup>-3</sup>	4,10 x 10 <sup>9</sup>	1259
<b>MW</b>	<b>4,24 x 10<sup>9</sup></b>	<b>28,95</b>	<b>0,35</b>	<b>8,5 x 10<sup>-3</sup></b>	<b>3,95 x 10<sup>9</sup></b>	<b>1273</b>
<b>SA</b>	<b>0,58 x 10<sup>9</sup></b>	<b>1,79</b>	<b>0,04</b>	<b>1,5 x 10<sup>-3</sup></b>	<b>0,56 x 10<sup>9</sup></b>	<b>249</b>
<b>Min.</b>	<b>3,36 x 10<sup>9</sup></b>	<b>25,59</b>	<b>0,26</b>	<b>5,8 x 10<sup>-3</sup></b>	<b>2,9 x 10<sup>9</sup></b>	<b>907</b>
<b>Max.</b>	<b>5,2 x 10<sup>9</sup></b>	<b>31,86</b>	<b>0,42</b>	<b>11,6 x 10<sup>-3</sup></b>	<b>4,75 x 10<sup>9</sup></b>	<b>1698</b>

Tabelle 2: RC<sub>i</sub>-1 = Anzahl Erythrozyten / ml Injektat; Vi-1 = injiziertes Volumen; Hkt<sub>LV</sub>-1 = Großgefäßhämatokrit im arteriellen Patientenblut; F<sub>RCf</sub>-1 = Verdünnungsfaktor; RC<sub>p</sub>-1 = Gesamtzahl Erythrozyten; RCV-1 = Erythrozytenvolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.1.2 Das Plasmavolumen

Tabelle 3 veranschaulicht die injizierte Menge ICG (D-1), die ICG Plasmakonzentration (CP<sub>0-1</sub>) sowie das daraus berechnete Plasmavolumen (PV-1) vor ANH.

Patientin	D-1 [mg]	CP <sub>0-1</sub> [µg/ml]	PV-1 [ml]
1	17,35	5,39	3220
2	11,81	4,29	2754
3	13,47	5,86	2298
4	14,85	6,02	2466
5	12,63	5,21	2426
6	11,13	4,61	2415
7	15,86	5,46	2905
8	15,00	5,56	2695
9	14,81	4,89	3029
10	16,75	6,31	2655
<b>MW</b>	<b>14,48</b>	<b>5,40</b>	<b>2686</b>
<b>SA</b>	<b>2,2</b>	<b>0,66</b>	<b>297</b>
<b>Min.</b>	<b>11,13</b>	<b>4,29</b>	<b>2298</b>
<b>Max.</b>	<b>17,35</b>	<b>6,31</b>	<b>3220</b>

Tabelle 3: D-1 = injizierte Menge ICG; CP<sub>0-1</sub> = Plasmakonzentration des ICG; PV-1 = errechnetes Plasmavolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.1.3 Die Hkt<sub>WB-1</sub>, Hkt<sub>LV-1</sub> und f-cell-1-Werte

Tabelle 4 zeigt den vor ANH berechneten Ganzkörperhämatokrit (Hkt<sub>WB-1</sub>), den mittels Dreifachmessung als Mittelwert angegebenen Großgefäßhämatokrit (Hkt<sub>LV-1</sub>) sowie den daraus berechneten f-cell-1-Wert, also dem Quotient aus Hkt<sub>WB-1</sub> und Hkt<sub>LV-1</sub>.

Patientin	Hkt <sub>WB-1</sub>	Hkt <sub>LV-1</sub>	f-cell-1
1	0,30	0,35	0,86
2	0,38	0,40	0,95
3	0,30	0,33	0,92
4	0,32	0,35	0,92
5	0,35	0,38	0,92
6	0,40	0,42	0,95
7	0,31	0,34	0,91
8	0,29	0,32	0,91
9	0,23	0,26	0,89
10	0,32	0,35	0,92
<b>MW</b>	<b>0,32</b>	<b>0,35</b>	<b>0,91</b>
<b>SA</b>	<b>0,05</b>	<b>0,04</b>	<b>0,03</b>
<b>Min.</b>	<b>0,23</b>	<b>0,26</b>	<b>0,86</b>
<b>Max.</b>	<b>0,40</b>	<b>0,42</b>	<b>0,95</b>

Tabelle 4: Hkt<sub>WB-1</sub> = Ganzkörperhämatokrit; Hkt<sub>LV-1</sub> = Großgefäßhämatokrit; f-cell-1 = Hkt<sub>WB</sub> / Hkt<sub>LV</sub>; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.1.4 Der Blutvolumenstatus und die Urinausscheidung

Tabelle 5 stellt das aus gemessenem Erythrozytenvolumen (RCV-1) und Plasmavolumen (PV-1) errechnete Blutvolumen (BV-1) sowie die bis vor den Beginn der ANH produzierte Urinmenge (Urin-1) vor ANH dar.

Patientin	RCV-1 [ml]	PV-1 [ml]	BV-1 [ml]	Urin-1 [ml]
1	1387	3220	4607	0
2	1698	2754	4452	40
3	998	2298	3296	50
4	1163	2466	3629	80
5	1313	2426	3739	0
6	1607	2415	4022	0
7	1295	2905	4200	60
8	1104	2695	3799	70
9	907	3029	3936	0
10	1259	2655	3914	150
<b>MW</b>	<b>1273</b>	<b>2686</b>	<b>3959</b>	<b>45</b>
<b>SA</b>	<b>249</b>	<b>297</b>	<b>387</b>	<b>49</b>
<b>Min.</b>	<b>907</b>	<b>2298</b>	<b>3296</b>	<b>0</b>
<b>Max.</b>	<b>1698</b>	<b>3220</b>	<b>4607</b>	<b>150</b>

Tabelle 5: RCV-1 = Erythrozytenvolumen; PV-1 = Plasmavolumen; BV-1 = Blutvolumen; Urin-1 = Urinausscheidung vor Beginn der ANH; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.1.5 Das „virtuelle“ Erythrozytenvolumen

Tabelle 6 verdeutlicht die Berechnung des „virtuellen“ Erythrozytenvolumens ( $RCV-1_{virt.}$ ) vor ANH. Dies wurde aus dem gemessenen Blutvolumen  $BV-1$  und dem  $Hkt_{LV-1}$  ermittelt.

Patientin	BV-1 [ml]	Hkt <sub>LV-1</sub>	RCV-1 <sub>virt.</sub> [ml]
1	4607	0,35	1612
2	4452	0,40	1781
3	3296	0,33	1088
4	3629	0,35	1270
5	3739	0,38	1421
6	4022	0,42	1689
7	4200	0,34	1428
8	3799	0,32	1216
9	3936	0,26	1023
10	3914	0,35	1370
<b>MW</b>	<b>3959</b>	<b>0,35</b>	<b>1390</b>
<b>SA</b>	<b>387</b>	<b>0,04</b>	<b>251</b>
<b>Min.</b>	<b>3296</b>	<b>0,26</b>	<b>1023</b>
<b>Max.</b>	<b>4607</b>	<b>0,42</b>	<b>1781</b>

Tabelle 6:  $BV-1$  = Berechnetes Blutvolumen;  $Hkt_{LV-1}$  = Hämatokrit im arteriellen Patientenblut;  $RCV-1_{virt.}$  = „virtuelles“ Erythrozytenvolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.1.6 Der Endothelial Surface Layer (ESL)

Tabelle 7 zeigt das gemessenen Plasmavolumen (PV-1), das aus dem RCV-1 und dem Hkt<sub>LV</sub>-1 berechneten zirkulierendem Plasmavolumen (PV-1<sub>circ</sub>) sowie das daraus resultierende kalkulierte Endothelial Surface Layer Volumen (ESL-1) vor ANH.

Patientin	PV-1 [ml]	PV-1 <sub>circ</sub> [ml]	ESL -1 [ml]
1	3220	2576	644
2	2754	2547	207
3	2298	2026	272
4	2466	2160	306
5	2426	2142	284
6	2415	2219	196
7	2905	2536	369
8	2695	2346	349
9	3029	2581	448
10	2655	2338	317
<b>MW</b>	<b>2686</b>	<b>2347</b>	<b>339</b>
<b>SA</b>	<b>297</b>	<b>205</b>	<b>130</b>
<b>Min.</b>	<b>2298</b>	<b>2026</b>	<b>196</b>
<b>Max.</b>	<b>3220</b>	<b>2581</b>	<b>644</b>

Tabelle 7: PV-1 = gemessenes Plasmavolumen; PV-1<sub>circ</sub> = zirkulierendes Plasmavolumen; ESL-1 = kalkulierte Endothelial Surface Layer Volumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.2 Messzeitpunkt nach der akuten normovolämen Hämodilution

#### 3.2.1 Das Erythrozytenvolumen

Tabelle 8 stellt die Parameter zur Berechnung des Erythrozytenvolumens nach ANH dar.

Patientin	$RC_{i-2}$	$V_{i-2}$	$Hkt_{LV-2}$	$F_{RCf-2}$	$RC_{p-2}$	$RCV-2$ [ml]
1	$4,3 \times 10^9$	26,613	0,25	$1 \times 10^{-2}$	$2,9 \times 10^9$	1096
2	$3,57 \times 10^9$	29,142	0,32	$1 \times 10^{-2}$	$3,08 \times 10^9$	1298
3	$4,17 \times 10^9$	27,187	0,29	$1,3 \times 10^{-2}$	$2,86 \times 10^9$	751
4	$3,36 \times 10^9$	29,189	0,25	$0,9 \times 10^{-2}$	$3,09 \times 10^9$	749
5	$2,96 \times 10^9$	28,92	0,32	$0,9 \times 10^{-2}$	$3,07 \times 10^9$	1027
6	$5,71 \times 10^9$	29,662	0,32	$1,8 \times 10^{-2}$	$3,09 \times 10^9$	1128
7	$3,92 \times 10^9$	29,293	0,29	$9,8 \times 10^{-3}$	$2,77 \times 10^9$	965
8	$4,05 \times 10^9$	30,156	0,27	$1,1 \times 10^{-2}$	$2,77 \times 10^9$	946
9	$4,95 \times 10^9$	30,498	0,22	$1,1 \times 10^{-2}$	$3,45 \times 10^9$	704
10	$4,13 \times 10^9$	30,864	0,25	$1,3 \times 10^{-2}$	$2,64 \times 10^9$	807
<b>MW</b>	<b><math>4,11 \times 10^9</math></b>	<b>29,152</b>	<b>0,28</b>	<b><math>2,0 \times 10^{-2}</math></b>	<b><math>2,97 \times 10^9</math></b>	<b>947</b>
<b>SA</b>	<b><math>0,74 \times 10^9</math></b>	<b>1,280</b>	<b>0,04</b>	<b><math>2,6 \times 10^{-2}</math></b>	<b><math>0,22 \times 10^9</math></b>	<b>195</b>
<b>Min.</b>	<b><math>2,96 \times 10^9</math></b>	<b>26,613</b>	<b>0,22</b>	<b><math>0,9 \times 10^{-2}</math></b>	<b><math>2,64 \times 10^9</math></b>	<b>704</b>
<b>Max.</b>	<b><math>5,71 \times 10^9</math></b>	<b>30,864</b>	<b>0,32</b>	<b><math>9,8 \times 10^{-2}</math></b>	<b><math>3,45 \times 10^9</math></b>	<b>1298</b>

Tabelle 8:  $RC_{i-2}$  = Anzahl Erythrozyten / ml Injektat;  $V_{i-2}$  = injiziertes Volumen;  $Hkt_{LV-2}$  = Großgefäßhämatokrit im arteriellen Patientenblut;  $F_{RCf-2}$  = Verdünnungsfaktor;  $RC_{p-2}$  = Gesamtzahl Erythrozyten;  $RCV-2$  = Erythrozytenvolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.2.2 Das Plasmavolumen

Tabelle 9 bildet die injizierte Menge ICG (D-2), die ICG Plasmakonzentration (CP<sub>0-2</sub>) sowie das daraus berechnete Plasmavolumen (PV-2) nach ANH ab.

Patientin	D-2 [mg]	CP <sub>0-2</sub> [µg/ml]	PV-2 [ml]
1	14,54	4,31	3373
2	14,24	5,01	2842
3	11,24	5,83	1927
4	12,34	5,23	2359
5	9,88	4,27	2313
6	16,74	6,95	2408
7	12,82	5,19	2471
8	18,54	7,16	2587
9	18,08	6,87	2632
10	16,45	6,27	2623
<b>MW</b>	<b>14,49</b>	<b>5,71</b>	<b>2554</b>
<b>SA</b>	<b>2,93</b>	<b>1,07</b>	<b>378</b>
<b>Min.</b>	<b>9,88</b>	<b>4,27</b>	<b>1927</b>
<b>Max.</b>	<b>18,54</b>	<b>7,16</b>	<b>3373</b>

Tabelle 9: D-2 = injizierte Menge ICG; CP<sub>0-2</sub> = Plasmakonzentration des ICG; PV-2 = errechnetes Plasmavolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.2.3 Die $Hkt_{WB-2}$ , $Hkt_{LV-2}$ und f-cell-2-Werte

Tabelle 10 veranschaulicht den nach ANH berechneten Ganzkörperhämatokrit ( $Hkt_{WB-2}$ ), den mittels Dreifachmessung als Mittelwert angegebenen Großgefäßhämatokrit ( $Hkt_{LV-2}$ ) sowie den daraus berechneten f-cell-2-Wert, also dem Quotient aus  $Hkt_{WB-2}$  und  $Hkt_{LV-2}$ .

Patientin	$Hkt_{WB-2}$	$Hkt_{LV-2}$	f-cell-2
1	0,25	0,25	0,98
2	0,31	0,32	0,98
3	0,28	0,29	0,97
4	0,24	0,25	0,96
5	0,31	0,32	0,96
6	0,32	0,32	1,00
7	0,28	0,29	0,97
8	0,27	0,27	0,99
9	0,21	0,22	0,96
10	0,24	0,25	0,94
<b>MW</b>	<b>0,27</b>	<b>0,28</b>	<b>0,97</b>
<b>SA</b>	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>
<b>Min.</b>	<b>0,21</b>	<b>0,22</b>	<b>0,94</b>
<b>Max.</b>	<b>0,32</b>	<b>0,32</b>	<b>1,00</b>

Tabelle 10:  $Hkt_{WB-2}$  = Ganzkörperhämatokrit;  $Hkt_{LV-2}$  = Großgefäßhämatokrit; f-cell-2 =  $Hkt_{WB} / Hkt_{LV}$ ; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.2.4 Der Blutvolumenstatus

Tabelle 11 legt das nach ANH gemessene Erythrozytenvolumen (RCV-2), Plasmavolumen (PV-2) sowie das daraus errechnete Blutvolumen (BV-2) dar.

Patientin	RCV-2 [ml]	PV-2 [ml]	BV-2 [ml]
1	1096	3373	4469
2	1298	2842	4140
3	751	1927	2678
4	749	2359	3108
5	1027	2313	3340
6	1128	2408	3536
7	965	2471	3436
8	946	2587	3533
9	704	2632	3336
10	807	2623	3430
<b>MW</b>	<b>947</b>	<b>2554</b>	<b>3501</b>
<b>SA</b>	<b>195</b>	<b>378</b>	<b>499</b>
<b>Min.</b>	<b>704</b>	<b>1927</b>	<b>2678</b>
<b>Max.</b>	<b>1298</b>	<b>3373</b>	<b>4469</b>

Tabelle 11: RCV-2 = Erythrozytenvolumen; PV-2 = Plasmavolumen; BV-2 = Blutvolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.2.5 Das „virtuelle“ Erythrozytenvolumen

Tabelle 12 verdeutlicht die Berechnung des „virtuellen“ Erythrozytenvolumens (RCV-2<sub>virt.</sub>) nach ANH. Dies wurde aus dem RCV-1<sub>virt.</sub> Und dem Erythrozytenentzug (EE) während ANH ermittelt.

Patientin	RCV-1 <sub>virt.</sub> [ml]	EE [ml]	RCV-2 <sub>virt.</sub> [ml]
1	1612	319	1293
2	1781	432	1349
3	1088	296	792
4	1270	377	893
5	1421	347	1074
6	1689	505	1184
7	1428	363	1065
8	1216	317	899
9	1023	125	898
10	1370	393	977
<b>MW</b>	<b>1390</b>	<b>347</b>	<b>1042</b>
<b>SA</b>	<b>251</b>	<b>99</b>	<b>185</b>
<b>Min.</b>	<b>1023</b>	<b>125</b>	<b>792</b>
<b>Max.</b>	<b>1781</b>	<b>505</b>	<b>1349</b>

Tabelle 12: BV-2 = Berechnetes Blutvolumen; RCV-1<sub>virt.</sub> = „virtuelles“ Erythrozytenvolumen vor ANH; EE = Erythrozytenvolumen; RCV-2<sub>virt.</sub> = „virtuelles“ Erythrozytenvolumen nach ANH; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.2.6 Das „virtuelle“ Blutvolumen

Tabelle 13 stellt das „virtuelle“ Blutvolumen ( $BV-2_{virt.}$ ) nach ANH dar. Dies wurde aus dem gemessenen Blutvolumen  $BV-2_{virt.}$  und dem  $Hkt_{LV-2}$  ermittelt.

Patientin	RCV-2 <sub>virt.</sub> [ml]	Hkt <sub>LV-2</sub>	BV-2 <sub>virt.</sub> [ml]
1	1293	0,25	5172
2	1349	0,32	4216
3	792	0,29	2731
4	893	0,25	3572
5	1074	0,32	3356
6	1184	0,32	3700
7	1065	0,29	3672
8	899	0,27	3330
9	898	0,22	4082
10	977	0,25	3908
<b>MW</b>	<b>1042</b>	<b>0,28</b>	<b>3774</b>
<b>SA</b>	<b>185</b>	<b>0,04</b>	<b>648</b>
<b>Min.</b>	<b>792</b>	<b>0,22</b>	<b>2731</b>
<b>Max.</b>	<b>1349</b>	<b>0,32</b>	<b>5172</b>

Tabelle 13: RCV-2<sub>virt.</sub> = „virtuelles“ Erythrozytenvolumen; Hkt<sub>LV-2</sub> = Großgefäßhämatokrit im arteriellen Patientenblut; BV-2<sub>virt.</sub> = Berechnetes Blutvolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.2.7 Der Endothelial Surface Layer (ESL)

Die Tabelle 14 bildet das nach ANH gemessenen Plasmavolumen (PV-2), das aus dem RCV-2 und dem  $Hkt_{LV-2}$  berechnete zirkulierende Plasmavolumen ( $PV-2_{circ}$ ), sowie das daraus resultierende kalkulierte ESL-2-Volumen ab.

Patientin	PV-2 [ml]	PV-2 <sub>circ.</sub> [ml]	ESL -2 [ml]
1	3373	3288	85
2	2842	2758	84
3	1927	1839	88
4	2359	2247	112
5	2313	2182	131
6	2408	2397	11
7	2471	2363	108
8	2587	2558	29
9	2632	2496	136
10	2623	2421	202
<b>MW</b>	<b>2554</b>	<b>2455</b>	<b>99</b>
<b>SA</b>	<b>378</b>	<b>381</b>	<b>54</b>
<b>Min.</b>	<b>1927</b>	<b>1839</b>	<b>11</b>
<b>Max.</b>	<b>3373</b>	<b>3288</b>	<b>202</b>

Tabelle 14: PV-2= gemessenes Plasmavolumen;  $PV-2_{circ}$  = zirkulierendes Plasmavolumen; ESL-2 = kalkuliertes Endothelial-Surface-Layer-Volumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.2.8 Blutentzug und Volumengabe im Rahmen der ANH, Urimausscheidung nach ANH

In Tabelle 15 sind die durch ANH entzogenen Volumina, die Volumengabe der Vollelektrolytlösung, die bis nach ANH produzierte Urinmenge (Urin-2) und der Anstieg des interstitiellen Wassergehalts nach ANH ( $IE_{ANH}$ ) dargestellt.

Patientin	Plasmaentzug (PE) [ml]	Erythrozytenentzug (EE) [ml]	Blutentzug (BE) [ml]	Blutentzug (BE) [ml/m <sup>2</sup> ]	Kristalloidzufuhr (KR) [ml]	Urin-2 [ml]	$IE_{ANH}$ [ml]
1	641	319	960	564	3000	400	1778
2	769	432	1201	727	3500	800	1851
3	679	296	975	592	3000	600	2093
4	1044	377	1421	804	4500	650	3030
5	634	347	981	479	3000	1100	1318
6	910	505	1415	725	4500	700	2871
7	637	363	1000	661	3000	750	2074
8	911	317	1228	744	3500	700	1908
9	347	125	472	315	2000	500	1628
10	927	393	1320	797	4300	600	3014
<b>MW</b>	<b>750</b>	<b>347</b>	<b>1097</b>	<b>641</b>	<b>3430</b>	<b>680</b>	<b>2157</b>
<b>SA</b>	<b>204</b>	<b>99</b>	<b>285</b>	<b>155</b>	<b>806</b>	<b>189</b>	<b>606</b>
<b>Min.</b>	<b>347</b>	<b>125</b>	<b>472</b>	<b>315</b>	<b>2000</b>	<b>400</b>	<b>1318</b>
<b>Max.</b>	<b>1044</b>	<b>505</b>	<b>1421</b>	<b>804</b>	<b>4500</b>	<b>1100</b>	<b>3030</b>

Tabelle 15: Übersicht über die entzogenen und infundierten Volumina. Urin-2 = Urimausscheidung nach ANH;  $IE_{ANH}$  = Anstieg des interstitiellen Wassergehalts nach ANH; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.3 Messzeitpunkt nach der Kolloidinfusion

#### 3.3.1 Das Erythrozytenvolumen

Das RCV-3 nach der Kolloidinfusion entspricht definitionsgemäß dem RCV-2, da sich das Erythrozytenvolumen nach ANH nicht geändert hat.

#### 3.3.2 Das Plasmavolumen

Tabelle 16 stellt die injizierte Menge ICG (D-3), die ICG Plasmakonzentration (CP<sub>0-3</sub>) sowie das daraus berechnete Plasmavolumen (PV-3) nach Kolloidinfusion dar.

Patientin	D-3 [mg]	CP <sub>0-3</sub> [µg/ml]	PV-3 [ml]
1	17,22	4,56	3777
2	15,75	4,89	3220
3	14,17	5,99	2366
4	10,71	3,61	2967
5	10,52	3,84	2739
6	18,55	6,14	3022
7	11,08	4,42	2506
8	17,84	6,27	2846
9	11,94	3,61	3307
10	14,93	6,29	3123
<b>MW</b>	<b>14,27</b>	<b>4,96</b>	<b>2987</b>
<b>SA</b>	<b>3,07</b>	<b>3,35</b>	<b>408</b>
<b>Min.</b>	<b>10,52</b>	<b>3,61</b>	<b>2366</b>
<b>Max.</b>	<b>18,55</b>	<b>6,29</b>	<b>3777</b>

Tabelle 16: D-3 = injizierte Menge ICG; CP<sub>0-3</sub> = Plasmakonzentration des ICG; PV-3 = errechnetes Plasmavolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.3.3 Die Hkt<sub>WB-3</sub>, Hkt<sub>LV-3</sub> und f-cell-3-Werte

Tabelle 17 zeigt den nach Kolloidinfusion berechneten Ganzkörperhämatokrit (Hkt<sub>WB-3</sub>), den mittels Dreifachmessung als Mittelwert angegebenen Großgefäßhämatokrit (Hkt<sub>LV-3</sub>) sowie den daraus berechneten f-cell-3-Wert, also dem Quotient aus Hkt<sub>WB-3</sub> und Hkt<sub>LV-3</sub>.

Patientin	Hkt <sub>WB-3</sub>	Hkt <sub>LV-3</sub>	f-cell-3
1	0,22	0,23	0,98
2	0,29	0,29	0,99
3	0,24	0,25	0,96
4	0,20	0,21	0,96
5	0,27	0,28	0,97
6	0,27	0,28	0,97
7	0,28	0,28	0,99
8	0,25	0,26	0,96
9	0,18	0,19	0,92
10	0,21	0,21	0,98
<b>MW</b>	<b>0,24</b>	<b>0,25</b>	<b>0,97</b>
<b>SA</b>	<b>0,04</b>	<b>0,04</b>	<b>0,02</b>
<b>Min.</b>	<b>0,18</b>	<b>0,19</b>	<b>0,92</b>
<b>Max.</b>	<b>0,29</b>	<b>0,29</b>	<b>0,99</b>

Tabelle 17: Hkt<sub>WB-3</sub> = Ganzkörperhämatokrit; Hkt<sub>LV-3</sub> = Großgefäßhämatokrit; f-cell-3 = Hkt<sub>WB</sub> / Hkt<sub>LV</sub>; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.3.4 Der Blutvolumenstatus

Tabelle 18 verdeutlicht das nach Kolloidinfusion gemessene Erythrozytenvolumen (RCV-3), Plasmavolumen (PV-3) sowie das daraus errechnete Blutvolumen (BV-3).

Patientin	RCV-3 [ml]	PV-3 [ml]	BV-3 [ml]
1	1096	3777	4873
2	1298	3220	4518
3	751	2366	3117
4	749	2967	3716
5	1027	2739	3766
6	1128	3022	4150
7	965	2506	3471
8	946	2846	3792
9	704	3307	4011
10	807	3123	3930
<b>MW</b>	<b>947</b>	<b>2987</b>	<b>3934</b>
<b>SA</b>	<b>195</b>	<b>408</b>	<b>500</b>
<b>Min.</b>	<b>704</b>	<b>2366</b>	<b>3117</b>
<b>Max.</b>	<b>1298</b>	<b>3777</b>	<b>4873</b>

Tabelle 18: RCV-3 = Erythrozytenvolumen; PV-3 = Plasmavolumen; BV-3 = Blutvolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.3.5 Der Endothelial Surface Layer (ESL)

Die Tabelle 19 zeigt das nach Kolloidinfusion gemessene Plasmavolumen PV-3, das aus dem RCV-2 und dem  $Hkt_{LV-3}$  berechneten zirkulierenden Plasmavolumen PV-3<sub>circ</sub>, sowie das daraus resultierende kalkulierte ESL-3-Volumen.

Patientin	PV-3 [ml]	PV-3 <sub>circ.</sub> [ml]	ESL -3 [ml]
1	3777	3669	108
2	3220	3178	42
3	2366	2253	113
4	2967	2818	149
5	2739	2641	98
6	3022	2901	121
7	2506	2481	25
8	2846	2692	154
9	3307	3001	306
10	3123	3036	87
<b>MW</b>	<b>2987</b>	<b>2867</b>	<b>120</b>
<b>SA</b>	<b>408</b>	<b>394</b>	<b>77</b>
<b>Min.</b>	<b>2366</b>	<b>2253</b>	<b>25</b>
<b>Max.</b>	<b>3777</b>	<b>3669</b>	<b>306</b>

Tabelle 19: PV-3 = gemessenes Plasmavolumen; PV-3<sub>circ</sub> = zirkulierendes Plasmavolumen; ESL-3 = kalkuliertes Endothelial Surface Layer Volumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.3.6 Urinausscheidung und Anstieg des interstitiellen Wassergehalts nach Kolloidinfusion

Tabelle 20 stellt die bis nach ANH produzierte Urinmenge (Urin-3) und den Anstieg des interstitiellen Wassergehalts nach Kolloidinfusion ( $IE_{KO}$ ) dar.

Patientin	Urin-3 [ml]	$IE_{KO}$ [ml]
1	900	1778
2	990	1851
3	800	2093
4	900	3030
5	1300	1318
6	800	2871
7	800	2074
8	900	1908
9	1000	1628
10	900	3014
<b>MW</b>	<b>929</b>	<b>2157</b>
<b>SA</b>	<b>149</b>	<b>606</b>
<b>Min.</b>	<b>800</b>	<b>1318</b>
<b>Max.</b>	<b>1300</b>	<b>3030</b>

Tabelle 20: Urin-3 = Urinausscheidung vor Beginn der ANH;  $IE_{KO}$  = Anstieg des interstitiellen Wassergehalts nach Kolloidinfusion; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

### 3.4 Übersicht der gemessenen und berechneten Variablen während der drei Messungen

Die gemessenen und berechneten Variablen vor (Messung 1) und nach (Messung 2) Hämodilution sowie nach Kolloidinfusion (Messung 3) sind als Übersicht aus Tabelle 21 zu entnehmen.

	Messung 1 (vor Hämodilution)	Messung 2 (nach Hämodilution)	Messung 3 (nach Kolloidinfusion)
RCV [ml]	1273 ± 249* <sup>2</sup>	947 ± 195* <sup>1</sup>	947 ± 195* <sup>6</sup>
PV [ml]	2686 ± 297* <sup>3</sup>	2554 ± 378* <sup>3</sup>	2987 ± 423* <sup>4</sup>
BV [ml]	3959 ± 387* <sup>2</sup>	3501 ± 499* <sup>4</sup>	3934 ± 500* <sup>2</sup>
Hkt <sub>WB</sub>	0,32 ± 0,05* <sup>2</sup>	0,27 ± 0,04* <sup>4</sup>	0,24 ± 0,02* <sup>4</sup>
Hkt <sub>LV</sub>	0,35 ± 0,04* <sup>4</sup>	0,28 ± 0,04* <sup>4</sup>	0,25 ± 0,02* <sup>4</sup>
f <sub>cell</sub>	0,91 ± 0,03* <sup>4</sup>	0,97 ± 0,02* <sup>1</sup>	0,96 ± 0,02* <sup>1</sup>
ESL [ml]	339 ± 130* <sup>4</sup>	99 ± 54* <sup>1</sup>	120 ± 77* <sup>1</sup>
Gesamturinausscheidung [ml]	-	635 ± 200* <sup>5</sup>	884 ± 171* <sup>5</sup>
Anstieg des interstitiellen Wassergehaltes [ml]	-	2127 ± 226* <sup>5</sup>	1622 ± 708* <sup>5</sup>

Tabelle 21: Gemessene und berechnete Variablen (n = 10)

Die Werte sind als Mittelwerte mit Standardabweichung dargestellt. RCV: Erythrozytenvolumen; PV: Plasmavolumen; BV: Blutvolumen; BSA: Body surface area; Hkt<sub>WB</sub>: Ganzkörperhämatokrit; Hkt<sub>LV</sub>: Großgefäßhämatokrit; f-cell = Hkt<sub>WB</sub> / Hkt<sub>LV</sub>; ESL: Gesamtvolumen des Endothelial surface layer.

\*<sup>1</sup> p < 0,05 vs. Messung 1; \*<sup>2</sup> p < 0,05 vs. Messung 2; \*<sup>3</sup> p < 0,05 vs. Messung 3; \*<sup>4</sup> p < 0,05 vs. beide andere Messungen; \*<sup>5</sup> p < 0,05 vs. dem Grundwert und anderen Messungen; \*<sup>6</sup> von Messung 2 übernommen.

Während der Hämodilution wurden  $1.097 \pm 285$  ml Vollblut ( $641 \pm 155$  ml/m<sup>2</sup>), was  $347 \pm 99$  ml Erythrozyten entsprach, entzogen und simultan durch  $3.430 \pm 806$  ml Ringer-Laktat ersetzt. Dies führte zu einer signifikanten Abnahme des Gesamtblutvolumens um  $459 \pm 185$  ml. Der Volumeneffekt von kristalloiden Infusionslösungen, also der Teil der Infusionslösung der intravasal verblieb, betrug demnach  $17 \pm 10\%$ .

Der Ersatz mit  $254 \pm 64$  ml 20% Humanalbumin vor Messung 3 führte zu einer nahezu vollständigen Wiederherstellung des Blutvolumens. Das verbleibende Blutvolumendefizit im Vergleich zur Messung 1 betrug  $25 \pm 271$  ml. Dementsprechend lag der berechnete Volumeneffekt für diese hyperonkotische Kolloidinfusionslösung bei  $184 \pm 34\%$ .

Während durch den Blutvolumenersatz mittels Kristalloiden ein signifikanter Anstieg des interstitiellen Wassergehaltes festgestellt wurde, war eine Remobilisation dieses interstitiellen Ödems mittels hyperonkotischer Kolloidinfusionslösung -wenn auch interindividuell in sehr unterschiedlichem Ausmaß- möglich ( $438 \pm 299$  ml).

Die Hämodilution führt zu einem signifikanten Verlust des ESL-Volumens um  $240 \pm 133$  ml der nicht durch Kolloidinfusionslösung wiederhergestellt werden konnte. Während der gesamten Studie kam es zu keinen Veränderungen der Makrohämodynamik oder des Katecholaminbedarfs (Abbildung 14).

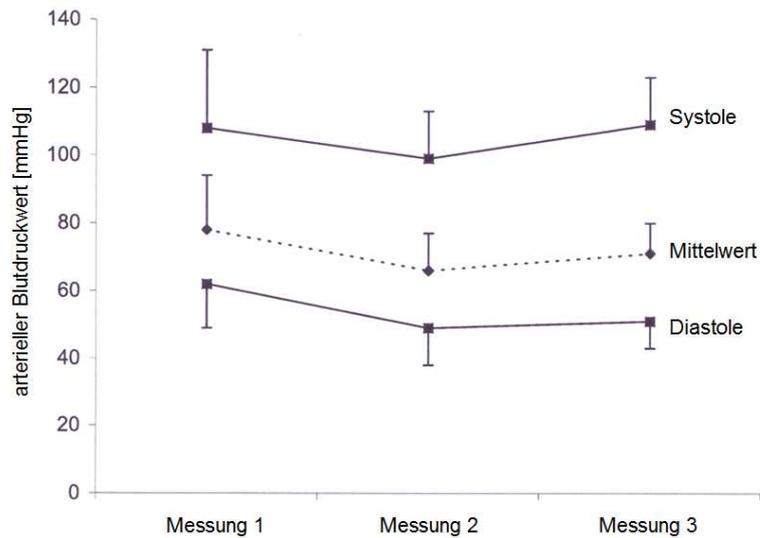


Abbildung 14: Arterielle Blutdruckwerte im Verlauf der Studie (MW  $\pm$  SA). Es gab keine statistisch relevanten Änderungen des systolischen, mittleren und diastolischen arteriellen Blutdrucks. Ebenso gab es keine signifikante Änderung von Herzfrequenz und Katecholaminbedarf während der gesamten Studie.

Herzfrequenz:  $62 \pm 14$ ,  $58 \pm 7$  and  $55 \pm 8$  pro Minute ( $p < 0.05$ ) (nicht abgebildet)

Noradrenalinbedarf:  $0.1 \pm 0.1$ ,  $0.2 \pm 0.1$  und  $0.1 \pm 0.0$  mg/h ( $p > 0.05$ ) (nicht abgebildet)

## 4. Diskussion

### 4.1 Überblick über die Historie der Volumenersatztherapie

Die Anfänge der modernen Volumentherapie gehen auf das 19. Jahrhundert zurück. 1831 infundierte der englische Arzt Thomas Latta empirisch bei akut auftretender Hypovolämie isotone Salzlösungen.<sup>56</sup> 1863 konnte der deutsche Physiologe Friedrich Goltz die „Kontraktion der Gefäßwand“ in Zusammenhang mit dem „Missverhältnis zwischen Gefäßlumen und Gefäßinhalt“ setzen. Kurze Zeit später beschrieben die Leipziger Physiologen Jacob Worm-Müller und Ladislaus Leo von Lesser die Regulierung der Blutmenge durch Transsudation aus dem Gewebe. Um 1870 wurden im deutsch-französischen Krieg die Effekte von Kochsalzlösungen, Erythrozytenkonzentraten und Plasma an verwundeten Soldaten untersucht und erste Substitutionsschemata entwickelt.<sup>57</sup> Der routinemäßige Einsatz intravenöser Infusionslösungen unter aseptischen Kautelen und mit geeignetem Instrumentarium wurde erstmals 1880 an der chirurgischen Universitätsklinik Leipzig durchgeführt. 1890 fand die intravenöse Infusionstherapie mit Kochsalzlösungen erstmals in einem chirurgischen Lehrbuch Erwähnung.<sup>58</sup> Zur gleichen Zeit machte Sydney Ringer die nach ihm benannte Ringerlösung bekannt. Zunächst beschrieb er, dass durch die Ringerlösung die Herzkontraktilität von Fröschen auch über deren Tod hinaus aufrecht erhalten werden kann. Somit konnte zunächst die Bedeutung der Elektrolyte für die Muskeltätigkeit nachweisen werden. Im weiteren Verlauf wurde die Ringerlösung erstmals 1882 im *Journal of Physiology* als ein adäquates Volumenersatzmittel beschrieben und zunehmend beliebter.<sup>59</sup> In den 1930er Jahren wurde von Hartmann dieser Ringerlösung Natriumlaktat als Puffersubstanz zur Behandlung metabolischer Azidosen zugesetzt. Diese Lösung mit dem Namen: Ringer-Laktat-Lösung nahm fortan zunehmend Einzug in die Volumentherapie.<sup>60</sup> Die zunächst nur bezüglich der Osmolarität dem Blut angeglichenen Kochsalzlösungen wurden im Laufe der Zeit zunehmend auch in anderen Eigenschaften wie z.B. der ionischen Zusammensetzung an das Blut adaptiert. Während des 1. Weltkrieges fanden das von dem Freiburger Pharmakologen Walter Straub entwickelten „Normosal“ sowie das von dem Erlanger Internisten Wolfgang Weichhardt entwickelte „Tutofusin“ breite Verwendung.<sup>57</sup>

Der britische Physiologe Ernest Henry Starling forderte bereits 1896, dass Lösungen gefunden werden müssen, die eine dauerhafte Vergrößerung der zirkulierenden Blutmenge

sicherstellen.<sup>57</sup> Starling erkannte bereits die Bedeutung onkotischer Kräfte für die Wasserbindung und dementsprechend die Verteilung von Flüssigkeiten in die verschiedenen Kompartimente des Körpers. Bis in die heutige Zeit wurde eine Vielzahl an Infusionslösungen entwickelt. Berechnungen von Volumeneffekten erfolgten methodisch bedingt jedoch bislang eher ungenau. Aufgrund erst kürzlich gewonnener, neuer physiologischer Erkenntnisse über die vaskuläre Barrierefunktion und die intravasalen Verteilungsräume, konnten exakte Volumeneffekte von Infusionslösungen erst in jüngster Zeit ermittelt werden.

#### **4.2 Methoden zur Bestimmung der Blutvolumina**

Für die Bestimmung von Blutvolumina bzw. Volumeneffekten existieren unterschiedlich genaue Methoden. Insgesamt gibt es zu den Volumeneffekten einzelner Infusionslösungen sehr viele Publikationen, genau bestimmt sind allerdings nur wenige Volumeneffekte von Infusionslösungen. Die meisten in der Literatur zu findenden Daten wurden mit der HDM-Methode bestimmt. Hier wurden zur Ermittlung des Blutvolumens lediglich die gemessenen Großgefäßhämatokritwerte herangezogen.<sup>61-74</sup> Das Blutvolumen wird als primär „normwertig“ vorausgesetzt. Aus methodischen Gründen sind derartige Messungen jedoch unpräzise, da hier den Veränderungen der einzelnen Blutkompartimente keine Rechnung getragen wird. Tabelle 22 zeigt eine Übersicht über mittels HDM-Methode bestimmte Volumeneffekte von Infusionslösungen. Anhand dieser Tabelle wird ersichtlich, dass die Volumeneffekte der einzelnen Infusionslösungen trotz vergleichbarer Messmethode stark differieren. Ein Erklärungsansatz könnten die unterschiedlichen zur Anwendung gekommenen Substitutionsmodelle sein. Einige Arbeiten verwendeten die akute normovoläme Hämodilution, andere führten ein „volumen loading“ durch. Beide Substitutionsmodelle sind zwar zur Volumeneffektbestimmung geeignet, jedoch nur wenn auch alle Blutkompartimente bei der Messung berücksichtigt werden. Da die Bestimmung in den aufgeführten Arbeiten jedoch mittels HDM-Methode erfolgte, wurde dieser Tatsache keine Rechnung getragen. Zudem unterscheiden sich die Volumeneffekte von Infusionslösungen -wie noch dargestellt werden wird- erheblich zwischen dem „Modell“ einer akuten normovolämen Hämodilution und dem „Modell“ des volume loadings.

kristall. Lösung	Modell	Messmethode	Volumeneffekt [%]	Referenz
Ringer-Laktat	ANH	HDM	15	[Fischer et al.] <sup>61</sup>
Ringer-Laktat	ANH	HDM	76	[Zaar et al.] <sup>62</sup>
Ringer-Laktat	VL	HDM	39	[Sabutsch et al.] <sup>63</sup>
Ringer	ANH	HDM	60	[Hahn et al.] <sup>64</sup>
kolloid. Lösung	Modell	Messmethode	Volumeneffekt [%]	Referenz
6% HES 200/0,5	VL	HDM	100	[Christensen et al.] <sup>65</sup>
6% HES 200/0,5	ANH	HDM	100	[Vogt et al.] <sup>66</sup>
6% HES 200/0,5	VL	HDM	140	[Dehne et al.] <sup>67</sup>
6% HES 130/0,4	ANH	HDM	115	[Zaar et al.] <sup>68</sup>
6% HES 130/0,4	VL	HDM	100	[Jungheinrich et al.] <sup>69</sup>
5% iges Albumin	VL	HDM	100	[Sommermeyer et al.] <sup>70</sup>
5% iges Albumin	VL	HDM	80	[Stockwell et al.] <sup>71</sup>
8% iges Albumin	VL	HDM	67	[Fischer et al.] <sup>61</sup>
20 % iges Albumin	VL	HDM	130	[Sommermeyer et al.] <sup>72</sup>
20 % iges Albumin	VL	HDM	250	[Margarson et al.] <sup>73</sup>
20 % iges Albumin	VL	HDM	350	[Niemi et al.] <sup>74</sup>

Tabelle 22: Übersicht über mittels HDM-Methode bestimmte Volumeneffekten von Infusionslösungen

Bei der Double-Label-Blutvolumenmessung, dem derzeitigen Goldstandard<sup>75</sup> der Volumeneffektbestimmung, werden beide Kompartimente des Blutvolumens, also sowohl das RCV als auch das PV direkt gemessen. Zudem fließt bei dieser Methode das hochrelevante, „neue Modell“ der Mikrozirkulation in Kapillaren mit ein. Unter Berücksichtigung und Bestimmung des ESL unterscheidet man hier das Plasmavolumen zusätzlich in die

Kompartimente: zirkulierendes Plasmavolumen ( $PV_{\text{circ}}$ ) und das restliche, nicht-zirkulierende Plasmavolumen. Mit der direkten RCV- und PV-Bestimmung vor und nach der Hämodilution und nach Kolloidinfusion hat man einen zwar sehr aufwändigen, aber genauen Ansatz, das Blutvolumen und damit den Volumeneffekt einer Infusionslösung zu bestimmen. Von unserer Arbeitsgruppe wurden bereits verschiedene Volumeneffekte mit diesem Verfahren bestimmt. Es erwies sich dabei in mehreren Studien<sup>76,77,78,79</sup> als großer Vorteil, dass die Methode zur Bestimmung des PV mit der RCV-Messung kombinierbar ist und somit bei simultaner Anwendung als Double-Label-Messmethode eine exakte Quantifizierung des Blutvolumenstatus mit hoher Validität<sup>30,80,81</sup> und Präzision<sup>36,25</sup> erlaubt. Die Ergebnisse waren teilweise überraschend (Tabelle 23). Bemerkenswert war die Beschreibung der Kontextsensitivität des Volumeneffektes von Kolloiden. Der Volumeneffekt ist also abhängig vom Volumenstatus des Patienten und der Integrität der vaskulären Barriere<sup>34</sup>: So haben isoonkotische Kolloide in normovolämen Patienten (z. B. bei normovolämer Hämodilution, eine Blutentnahme mit gleichzeitiger isovolämer Flüssigkeitsinfusion) einen Volumeneffekt von beinahe 100%,<sup>82,31,33</sup> während in hypervolämen Patienten (z. B. „volume loading“, Flüssigkeitsinfusion ohne Blutentnahme) dieselben Präparate nur einen Volumeneffekt von ca. 40% aufweisen.<sup>32</sup> Dies beeinflusst die Messergebnisse aus Tabelle 23 zusätzlich zur Ungenauigkeit der HDM-Methode. Somit sind die dort dargestellten Volumeneffekte als äußerst ungenau zu werten.

verwendete Lösung	Modell	Volumeneffekt [%]	n	Referenz
5% iges Humanalbumin	ANH	85 ± 16	10	[Rehm et al.] <sup>53</sup>
	ANH	87 ± 14	15	[Rehm et al.] <sup>55</sup>
	VL	30 ± 21	10	[Rehm et al.] <sup>22</sup>
20%iges Humanalbumin	TH	184 ± 63	10	vorliegende Arbeit
6% HES 200/0,5	ANH	90 ± 18	10	[Rehm et al.] <sup>53</sup>
	VL	43 ± 26	10	[Rehm et al.] <sup>22</sup>
6%iges HES 130/0,4	ANH	98 ± 12	10	[Jacob et al.] <sup>52</sup>
3,5%iges Polygelin* <sup>1</sup>	ANH	53	1	[Rehm et al.] <sup>54</sup>
Ringer-Laktat	ANH	17 ± 10	10	vorliegende Arbeit

Tabelle 23: Direkt gemessene Volumeneffekte in der Literatur

Die Werte sind als Mittelwerte mit Standardabweichung dargestellt. n = Patientenzahl; ANH = akute normovoläme Hämodilution; VL = Volumenloading; TH = therapeutische Infusion in Korrelation zum abnehmenden Blutvolumen; HES = Hydroxyethylstärke.

\*<sup>1</sup>: Case Report.

### 4.3 Die akute normovoläme Hämodilution

Die in der vorliegenden Arbeit zur Simulation des Blutverlustes gewählte ANH ist eine etablierte und sichere Methode um Blut einzusparen und Fremdbluttransfusionen zu vermeiden.<sup>83</sup> Eigenblut wird vor dem operativen Eingriff entzogen und aufbewahrt. Zur Sicherstellung eines ausreichenden Herzzeitvolumens wird während des Blutentzugs simultan das entzogene Volumen mit einer künstlichen Infusionslösung ersetzt. Man erzielt eine Verdünnung der korpuskulären Blutbestandteile, so dass es im Rahmen der chirurgischen Blutung zu einem geringeren Verlust an Erythrozyten kommt. Ist peri- oder postoperativ mit

keiner Blutung mehr zu rechnen, kann das Blut retransfundiert werden.<sup>84</sup> Wissenschaftlich betrachtet kann die präoperative ANH als Modell einer relevanten Blutungssituation mit Volumensubstitutionstherapie betrachtet werden. Gemäß einiger Studien, sollte der gesamte Blutentzug 700 ml/m<sup>2</sup> body surface area (BSA) betragen, um eine signifikante Blutungssituation zu simulieren, ohne einen Hämatokritabfall von unter 0,24 zu erreichen.<sup>32</sup> In der vorliegenden Arbeit betrug der Blutverlust während der ANH 641 ± 155 ml/m<sup>2</sup>, der Hämatokrit 0,28 ± 0,04, sodass ein adäquat simulierter Blutverlust vorlag.

Im Rahmen der ANH wurde der Blutvolumenverlust mit der 3-fachen Menge Ringer-Laktat ersetzt. Unter physiologischen Gesichtspunkten wird die Infusion der 5-fachen Menge vorgeschlagen, in der neueren Literatur die 1,4-fache Menge.<sup>7</sup> Die 3-fache Menge war also ein Kompromiss zwischen den beiden Empfehlungen. Mit einem Blutentzug von 1097 ± 285 ml und einer Kristalloidinfusion von 3430 ± 806 ml wurde ein Verhältnis von 1 : 3,1 erzielt.

#### **4.4 Die Bedeutung der Blutvolumenkompartimente und des ESL**

Um die Relevanz der separaten Betrachtung der einzelnen Blutvolumenkompartimente, insbesondere des Plasmavolumens nachvollziehen zu können, muss die Bedeutung des bereits beschriebenen „neuen Modells“ der Mikrozirkulation in Kapillaren genauer betrachtet werden: Die Bedeutung der physiologischen Wirkform der Glykokalyx, des ESL, war lange Zeit unerkannt und wurde, aufgrund einer elektronenmikroskopisch darstellbaren Dicke von weniger als 20 nm, lange Zeit auch kaum hinterfragt.<sup>85</sup> Das Interesse an der (patho-)physiologischen Rolle der Glykokalyx begann Ende der 80er Jahre mit der Beobachtung eines im Vergleich zum Gesamtblut niedrigen Kapillarhämatokrits.<sup>86</sup> Das intravitalmikroskopisch beobachtete Phänomen, dass Blutzellen selbst in den kleinsten Kapillaren praktisch nie die anatomische Gefäßwand berühren, sondern auf Distanz gehalten werden, wurde in der Vergangenheit als rein physikalischer „Fåhræus-Lindqvist-Effekt“ beschrieben.<sup>87</sup> Diese Erklärung wurde allerdings durch die Gabe von Hyaluronidase bzw. Heparinase, ein Enzym, welches selektiv Heparansulfate von der Glykokalyx abtrennt, widerlegt.<sup>88</sup> Durch die Zerstörung der Glykokalyx steigt der Kapillarhämatokrit dramatisch an und gleicht dann dem Hämatokrit in den großen Blutgefäßen.<sup>89,90</sup> Die Glykokalyx ist äußerst fragil und wird bei herkömmlicher Gewebefixierung bereits vor Durchführung der Elektronenmikroskopie

nahezu vollständig zerstört. Allein durch eine zu hohe Lichtintensität bei der Intravitalmikroskopie kann die Glykokalyx degradiert werden.<sup>91</sup> Das Interstitium weist, wie man heute weiß, und unten noch näher ausgeführt wird, in vielen Abschnitten eine Kolloidkonzentration auf, die mit derjenigen des Plasmas vergleichbar ist. Der einwärts gerichtete Gradient, der Wasser und Proteine im Gefäßsystem zurückhält, entsteht daher unterhalb der Glykokalyx durch selektive Proteinfiltration über diese Struktur hinweg. Die endotheliale Glykokalyx besitzt nicht nur als kompetente Barriere gegen die Extravasation von Flüssigkeit und Protein eine Schlüsselfunktion an der vaskulären Schranke, sie ist mitentscheidend für Zellinteraktionen, wie Leukozytenadhäsion und Thrombozytenaggregation. Weiterhin scheint diese Struktur in der Pathophysiologie von Sepsis, Diabetes, Arteriosklerose und den damit verbundenen vaskulären Dysfunktionen eine bedeutende Rolle zu spielen. Studien haben gezeigt, dass eine Protektion dieser Schicht auch einen Schutz der Gefäßwand darstellt.

Dem vaskulären Endothel wurde in der Vergangenheit nachgesagt, an jeder pathologischen Situation mit vaskulärer Ausprägung beteiligt zu sein. Dabei wurde allerdings die endotheliale Glykokalyx außen vorgelassen. Erst wenn diese schützende Struktur nicht mehr vorhanden ist, werden die Endothelzellen und die sich auf diesen befindenden Rezeptoren, wie Adhäsionsmoleküle, freigelegt, die dann erst direkten Kontakt zum zirkulierenden Blut erhalten.<sup>92,93</sup> Neueste Studien deuten auch an, dass in der Vergangenheit viele Untersuchungen zur vaskulären Barrierefunktion möglicherweise an insuffizienten, weil glykokalyxfreien Modellen durchgeführt wurden (z. B. Endothelzellkulturen oder isolierte, postischämische Gefäßpräparate).<sup>94</sup> Diese Studien haben demnach zwar Erkenntnisse zur Barriere der Endothelzellkörper, aber keinerlei Einblicke in die physiologische Funktion der fragilen endothelialen Glykokalyx geliefert. Die Glykokalyx ist, u. a. durch enzymatisches oder „shear stress“ induziertes „shedding“ (Abspalten der einzelnen Glykokalyxbestandteile von der Endothelmembran oder dem Grundgerüst), in einem ständigen Auf- und Abbau, dessen Dynamik allerdings bislang noch unklar ist.<sup>95</sup> Daher lässt sich die genaue geometrische Struktur bisher nur als statisches Bild darstellen.<sup>96</sup> Die ESL, entsteht durch ein dynamisches Anbinden von Plasmaproteinen und einen ständigen Austausch von membrangebundenen Molekülen.<sup>97,98,99</sup>

Da die Entdeckung der Glykokalyx erst in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts gelang, wurden auch die Hypothesen von Ernest Starling über die Kräfte, welche die vaskuläre

Permeabilität determinieren, ohne jegliche Kenntnisse der Existenz einer endothelialen Glykokalyx erdacht. Sein nach wie vor vielerorts anerkanntes Prinzip basiert auf einem ausgeprägten kolloidosmotischen Konzentrationsgradienten zwischen Intravasal- (hoher kolloidosmotischer Druck) und Extravasalraum (Interstitium; niedriger kolloidosmotischer Druck), um Wasser im Gefäßsystem zu binden. Die „klassische“ Formel nach Starling erklärt die vaskuläre Barrierefunktion über die Aufrechterhaltung eines kolloidosmotischen Gradienten zwischen dem intravasalen Raum mit hohem kolloidosmotischen Druck und dem interstitiellen Raum mit niedrigem kolloidosmotischen Druck.<sup>100</sup> In tierexperimentellen Untersuchungen waren die starlingschen Erkenntnisse schwierig in Einklang zu bringen. So war z.B. in einer Studie am isolierten Meerschweinherzen bei der Infusion von Albumin keine Reduktion der Nettofiltration gegenüber einer HES-Gruppe feststellen, obwohl die molare Konzentration von Albumin im Vergleich zu HES etwa 3-mal höher war.<sup>101</sup> Es lag der Verdacht nahe, dass im starling'schen Konzept bzgl. der mikrovaskulären Flüssigkeitsfiltration ein wichtiges Element fehlt. Einer der ersten Versuche die Rolle der endothelialen Glykokalyx für die vaskuläre Permeabilität zu definieren wurde 1980 von Curry und Michel mit einem „Fiber-Matrix-Modell“ unternommen.<sup>102</sup> Die Verfügbarkeit der Intravitalmikroskopie zeigte die Bedeutsamkeit der Glykokalyx in breiterem Umfang.<sup>103,104</sup> Vink und Duling demonstrierten, dass große anionische oder neutrale Dextranmoleküle (>70 kDa) über mehr als 3 h nicht in die endotheliale Glykokalyx eindringen können, wohingegen dies kleineren anionischen Molekülen, kleineren Dextranmolekülen oder auch Albumin in nur kurzer Zeit gelingt.<sup>105</sup> Hierbei scheint eine wichtige Interaktion von Plasmaproteinen mit der endothelialen Glykokalyx stattzufinden.<sup>106,107</sup> Bezüglich der Applikation von künstlichen Kolloiden vermuteten Henry et al. das eine Retention von HES-Molekülen innerhalb der Glykokalyx die Matrix abdichten und damit zu einer Abnahme der Extravasation von Dextranmolekülen (49 kDa) führen könne.<sup>108</sup> Kürzlich durchgeführte Untersuchungen und theoretische Überlegungen demonstrieren, dass der kolloidosmotische Druck hinter der Glykokalyx viel geringer sein muss, als die entsprechende Konzentration bzw. der Druck im Gewebe oder Interstitium.<sup>109,110</sup> Demzufolge besteht ein entscheidender Unterschied zwischen den globalen starlingschen Kräften die über die gesamte endotheliale Schicht wirken, und den Kräften die sich über die Schicht der endothelialen Glykokalyx hinweg entfalten.

Das „Double-barrier-Konzept“ von Rehm et al. schrieb neben den Endothelzellen auch der endothelialen Glykokalyx eine eigene Schrankenfunktion zu.<sup>111</sup> Nach diesem neuen Modell zur vaskulären Permeabilität stellen sich zwei kompetente Barrieren dem Ausstrom von

Flüssigkeit und Kolloiden entgegen: die endotheliale Glykokalyx und die Endothelzelle selbst. Damit wurde klar, dass die Arbeiten, die die endotheliale Glykokalyx unberücksichtigt ließen, dennoch wichtige Bausteine im Verständnis der vaskulären Barriere waren. Allerdings untersuchten sie lediglich die Endothelzellbarriere, eine Barriere, die insbesondere bei Zerstörung der endothelialen Glykokalyx von besonderer Wichtigkeit ist. Adamson et al. konnten die Eigenschaften der Glykokalyx schließlich in das Starling-Modell integrieren, in dem sie das klassische Starling-Konzept mit der auch von ihnen vorgefundenen hohen interstitiellen Kolloidkonzentration in Einklang brachten.<sup>112</sup> Der kolloidosmotische Konzentrationsgradient, als Träger der vaskulären Integrität, befindet sich demnach in vielen Gefäßgebieten nicht zwischen intra- und extravasal, sondern zwischen der Glykokalyx und dem luminal gelegenen schmalen Raum unterhalb derselben, bei nahezu gleicher Kolloidkonzentration in Gefäß und Interstitium. Die Glykokalyx bindet die nach auswärts strömenden Proteine und stellt sich somit als „Kolloidfilter“ diesem Strom entgegen. Die „revidierte“ Formel nach Starling erklärt, warum nahezu gleiche kolloidosmotische Drücke in Gefäßlumen und Interstitium kein Widerspruch zu einer funktionierenden vaskulären Schranke sein müssen: Der Gradient bildet sich lediglich über der endothelialen Glykokalyx aus. Jacob et al. beobachteten zudem, dass nicht der kolloidosmotische Druck des Plasmas, sondern vielmehr die Art des intravasal verfügbaren Kolloids von großer Bedeutung für die vaskuläre Barrierefunktion ist. Weiterhin konnten sie zeigen, dass erst eine mit Albumin beladene endotheliale Glykokalyx tatsächlich in der Lage ist, neben dem mechanischen Widerstand der Endothelzellen, als suffiziente Barriere gegen Extravasation zu wirken.<sup>97</sup>

Starlings Gleichung ist demnach nicht grundlegend falsch, sondern lediglich unvollständig.<sup>113</sup> Der real nicht vorhandene kolloidosmotische Konzentrationsgradient zwischen intravasal und interstitiell muss durch den Gradienten zwischen der Glykokalyx und dem schmalen Spalt darunter ersetzt werden.<sup>97</sup> Festzuhalten bleibt, dass das Starling-Prinzip, nach dem ein kolloidosmotischer Druck dem Filtrationsdruck entgegensteht und damit einem Wasserausstrom entgegenwirkt, an sich nach wie vor gültig ist. Integriert man nun die Glykokalyx in das Starling-Modell, so wird letztendlich präzise definiert, an welcher Stelle der kolloidosmotische Gradient tatsächlich aufgebaut wird – es ist der ESL. Der hydrostatische Druckgradient zwischen dem Gefäßsystem und dem umliegenden Gewebe ermöglicht einen permanenten Flüssigkeitsauswärtsstrom, durch den der schmale Spalt unterhalb der Glykokalyx weitgehend proteinfrei bleibt. Rückdiffusion aus dem Interstitium findet nicht oder nur geringfügig statt. Dadurch wird die Glykokalyx mit Plasmaproteinen

zum ESL aufgeladen: Der Gradient nach der „neuen“ Starling-Gleichung entsteht. Dieser Gradient ist somit auf eine physiologisch intakte endotheliale Glykokalyx angewiesen. Vieles spricht dafür, dass zwischen einem Flüssigkeits- und einem Proteinshift in den interstitiellen Raum sowie einer Alteration der ESL ein Zusammenhang besteht. Dies spielt u. a. im Rahmen der perioperativen Flüssigkeitstherapie eine entscheidende Rolle. Während einer Hypervolämie wird „atriales natriuretisches Peptid“ (ANP) aus den Vorhöfen des Herzens freigesetzt. Neben seiner natrium- und wasserausscheidenden Funktion an der Niere und seiner vasodilatatorischen Wirkung besitzt es noch eine weitere Eigenschaft, die die Integrität der Glykokalyx gefährdet.<sup>114</sup>

Nicht nur die Integrität der Gefäßbarriere spielt bei der perioperativen Infusionstherapie und der entsprechenden Flüssigkeitsbilanz eine Rolle. Lange Zeit wurde vermutet, dass perioperativ große Mengen an Flüssigkeit z.B. über Haut, Atemwege und die Wundfläche verdampfen können. Heute weiß man jedoch, dass diese so genannte „perioperative Perspiratio insensibilis“ meist überschätzt wurde und diese selbst bei Eröffnung des Abdomens maximal 1 ml/kgKG/h beträgt.<sup>115</sup> Darüber hinaus sind Patienten trotz 10-h-Nüchternheit intravasal normovoläm.<sup>116</sup> So wurde die Existenz eines separaten „Dritten Raumes“ nie zweifelsfrei nachgewiesen. Bei den Flüssigkeitsverlusten handelt es sich vielmehr um Verluste ins Interstitium.<sup>2,113</sup> Trotzdem wird in vielen Lehrbüchern eine liberale kristalloidbetonte Flüssigkeitstherapie empfohlen, um einer bedrohlichen Hypovolämie entgegenzuwirken. Neuere Studien konnten jedoch zeigen, dass große Mengen an Kristalloiden schwere kardiopulmonale Komplikationen,<sup>117,118</sup> verzögerte Wundheilung und erhöhte Mortalität<sup>119</sup> hervorrufen können. Die „Überflutung“ des Körpers bewirkt einen proteinreichen Flüssigkeitsshift von mehreren Litern in den interstitiellen Raum.<sup>120,118,121,32</sup> Dies ist also kein reiner Verlust von Wasser und Elektrolyten, sondern wird vielmehr begleitet von oder sogar verursacht durch einen Proteinverlust aus dem Gefäßsystem, der bis zu ein Drittel des intravasalen Gesamtbestandes an Protein betragen kann.<sup>122</sup> Als primäre pathophysiologische Noxe, die einen derartigen intraoperativen Proteinshift auslösen kann, kommt nach derzeitigem Kenntnisstand die intravasale Hypervolämie infrage, die eine Freisetzung von ANP aus den Vorhöfen bewirkt.<sup>123</sup> Dies deckt sich mit dem Befund aus tierexperimentellen Arbeiten, dass ANP offensichtlich in der Lage ist, die endotheliale Glykokalyx zu zerstören, und damit zu einer erhöhten Kolloidpermeabilität führt.<sup>124</sup>

Was dies für Patienten bedeutet, konnten direkte Blutvolumenmessungen zeigen, die offen legten, dass sich das Volumen des ESL während Normovolämie (normovolämer Hämodilution) nicht veränderte.<sup>77</sup> Bei Hypervolämie (präoperativem Volume Loading) allerdings, nahm nach einer Infusion von 1417±209 ml 6%iger HES 200/0.5 das zirkulierende Plasmavolumen ( $PV_{\text{circ}}$ ) auf Kosten des ESL zu. Das gesamte Plasmavolumen ( $PV_{\text{gesamt}}$ ) stieg lediglich um 597±296 ml an, was einem Volumeneffekt für dieses isoonkotische Kolloid von 43% entspricht. Damit wurden 57% dieses hypervoläm applizierten Flüssigkeitsbolus über die vaskuläre Barriere in das Interstitium geschifft. Darüber hinaus nahm das Volumen des ESL von 717 ml auf 260 ml ab.<sup>77</sup> (Abbildung 15)

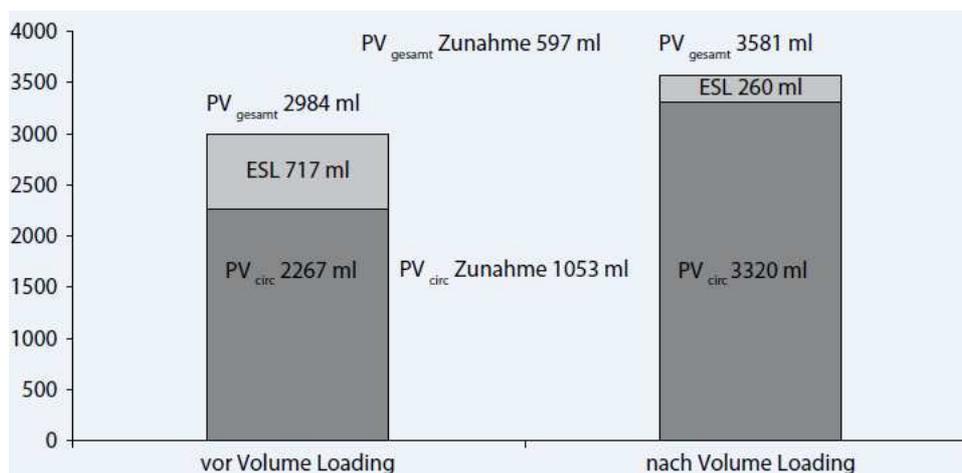


Abbildung 15: Direkte Blutvolumenmessungen vor und nach präoperativem Volume Loading.  $PV_{\text{circ}}$  = zirkulierendes Plasmavolumen,  $PV_{\text{gesamt}}$  = gesamtes intravaskuläres Plasmavolumen, ESL = „endothelial surface layer“. (Rehm M et al (2001) Veränderungen des Blutvolumens während akuter normovolämer Hämodilution mit 5% Albumin oder 6% Hydroxyethylstärke und intraoperativer Retransfusion: Der Anaesthesist;50:569-79)

Ähnliche Effekte wurden nach Gabe von 1,379±128 ml 5%igem Albumin gemessen: Das gesamte Blutvolumen nahm um 507 ml zu, während das Volumen des ESL von 732 auf 389 ml abnahm. Dies bedeutet, dass hypervoläm applizierte Boli von HES einen Volumeneffekt (also der Anteil, der nach intravasaler Gabe im Gefäßsystem verbleibt) von 43% und nach Albumin von lediglich 38% hatten. Beides ist weit entfernt von der Annahme, dass isoonkotische Kolloide immer einen Volumeneffekt von rund 100% haben. Eine

„Überflutung“ des Körpers mit isoonkotischen Kolloiden führt also zu einer Abnahme der Integrität der Glykokalyx, zu einer Öffnung der vaskulären Barriere und damit zu einem Shift in den interstitiellen Raum.<sup>2,113,34</sup> Offensichtlich scheint die Aufrechterhaltung einer intravasalen Normovolämie einer der Schlüssel zur Erhaltung der endothelialen Glykokalyx zu sein, trotz der kaum vermeidbaren Zerstörung durch operativen Stress, Ischämie, Reperfusion, Trauma oder freigesetzten Entzündungsmediatoren wie Tumor-Nekrose-Faktor-(TNF-) $\alpha$ . Eine intakte Glykokalyx kann also Flüssigkeits- und Proteinverluste in den interstitiellen Raum verhindern.

#### **4.5 Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung im Kontext der aktuellen Literatur**

Bei dem Patientenkollektiv handelte es sich um  $46 \pm 11$  Jahre alte Patientinnen mit Zervixkarzinom, die in die Risikogruppe I oder II nach Klassifizierung der American Society of Anaesthesiologists (ASA) eingestuft wurden. Dies impliziert, dass es sich abgesehen von dem Malignom als Grunderkrankung, um „gesunde“ Patientinnen handelte, denen eine intakte vaskuläre Barrierefunktion unterstellt werden kann. Die Erhebung des Blutvolumenstatus mittels Double-Label-Blutvolumenmessung vor ANH ergab ein Erythrozytenvolumen von  $1273 \pm 249$  ml, ein Plasmavolumen von  $2686 \pm 297$  ml und somit ein Blutvolumen von  $3959 \pm 387$  ml. Nach ANH, also nach  $1097 \pm 285$  ml Blutentzug und nach  $3430 \pm 806$  ml Kristalloidinfusion lag ein Erythrozytenvolumen von  $947 \pm 195$  ml, ein Plasmavolumen von  $2554 \pm 378$  ml und somit ein Blutvolumen von  $3501 \pm 499$  ml vor. Das Erythrozytenvolumen nahm also um 34 % ab, das Plasmavolumen um lediglich 5 % zu. Insgesamt nahm das Blutvolumen um 13 % ab. Es konnte ein Volumeneffekt von  $17 \pm 10$  % für Ringer-Laktat nachgewiesen werden. Die Ergebnisse zeigen eindrücklich, dass bereits nach einem Zeitraum von ca. 30-40 Minuten (Hämodilutions- und Eichdauer) nur noch ein geringer Teil des infundierten Ringer-Laktats intravasal zur Verfügung steht, und dass es trotz Infusion großer Mengen Ringer-Laktat zu einer intravasalen Hypovolämie kam.

Nach Kolloidinfusion, also nach Infusion von  $245 \pm 64$  ml Humanalbumin 20 %, lag ein definitionsgemäß dem Erythrozytenvolumen nach ANH identisches Erythrozytenvolumen von  $947 \pm 195$  ml, ein Plasmavolumen von  $2987 \pm 408$  ml und somit ein Blutvolumen von  $3934 \pm 500$  ml vor. Das Plasmavolumen nahm nach Kolloidzufuhr um 17 %, das

Blutvolumen um 12 % zu. Das Ausgangsblutvolumen konnte also wiederhergestellt werden. Es wurde ein Volumeneffekt von  $184 \pm 63$  % für 20 %iges Humanalbumin ermittelt. Die Zunahme des Plasmavolumens nach Kolloidinfusion legt nahe, dass zumindest ein Teil des extravasierten Volumens nach intravasal rekrutiert werden konnte.

Die Betrachtung der Messergebnisse des Kompartimentes „Plasmavolumen“ geben interessante Aufschlüsse darüber, inwieweit das ESL-Volumen durch Überinfusion beeinträchtigt wird. Es wurde bereits beschrieben, dass das ESL-Volumen nicht konstant bleibt, wenn durch künstliche Zufuhr von Infusionslösungen Plasma ersetzt oder eine Hämodilution durchgeführt wird. Vor ANH wurde ein ESL Volumen von  $339 \pm 130$  ml ermittelt. Dies sank nach ANH um 30 % auf  $99 \pm 54$  ml ab. Im Folgenden kam es nach Kolloidinfusion nicht nur wie bereits gezeigt zu einer Rekrutierung von extravasiertem Volumen, sondern auch zur Wiedernahme des ESL-Volumens um 21 %. Nach Kolloidinfusion wurde ein ESL-Volumen von  $120 \pm 77$  ml ermittelt. Unsere Ergebnisse stimmen also mit den bereits erwähnten physiologischen Erkenntnissen überein. Mit dem Verlust von ESL-Volumen nimmt die Extravasation einer Infusionslösung zu und ihr Volumeneffekt sinkt, da die Potenz der Barrierefunktion nach der kristalloiden Hämodilution stark verändert war.

Während der gesamten Messungen konnten Veränderungen des  $Hkt_{WB}$ , des  $Hkt_{LV}$  und des f-cell-Wert gemessen werden. Vor ANH betragen  $Hkt_{WB} = 0,32 \pm 0,05$ ,  $Hkt_{LV} = 0,35 \pm 0,03$  und der f-cell-Wert  $= 0,91 \pm 0,03$ . Nach ANH waren die Werte deutlich reduziert, jedoch noch im Zielbereich von  $> 0,24$ , um eine Blutungssituation adäquat simulieren zu können:  $Hkt_{WB} = 0,27 \pm 0,04$ ,  $Hkt_{LV} = 0,28 \pm 0,04$  und der f-cell-Wert  $= 0,97 \pm 0,02$ . Nach Kolloidinfusion betragen  $Hkt_{WB} = 0,24 \pm 0,02$ ,  $Hkt_{LV} = 0,25 \pm 0,03$  und der f-cell-Wert  $= 0,96 \pm 0,02$ . Eine Volumenrekrutierung nach intravasal wird also sowohl durch die Quantifizierung des absteigenden Plasmavolumens nach Kolloidinfusion, als auch durch die sinkenden  $Hkt_{WB}$  und  $Hkt_{LV}$ -Werte nach Kolloidinfusion erkennbar.  $Hkt_{WB}$  und  $Hkt_{LV}$  nähern sich mit zunehmendem Volumenverlust des ESL einander an, der f-cell-Wert näherten sich der 1. Da wie in unserer Studie gezeigt,  $Hkt_{WB}$  und  $Hkt_{LV}$  jedoch auch nach der Gabe großer Volumenmengen nicht identisch sind, also noch ein Rest-ESL-Volumen vorhanden bleibt, müssen stets beide Werte zur exakten Bestimmung ermittelt werden. Diese Ergebnisse betonen also noch einmal die Relevanz der Double-Label-Messung als korrekte Methode zur Messung von Volumeneffekten.

Zur Quantifizierung des extravasierten Volumens wurde der kumulative Anstieg des interstitiellen Wassergehalts nach ANH ( $IE_{ANH}$ ) und nach Kolloidinfusion ( $IE_{KO}$ ) berechnet.  $IE_{ANH}$  betrug  $2127 \pm 226$  ml. Dieser Wert galt als Ausgangswert. Nach Kolloidinfusion betrug das interstitiellen Wassergehalts nur noch  $1622 \pm 708$  ml, also konnten 24 % des interstitiellen Wassergehalts durch Kolloidinfusion rekrutiert werden. Im Umkehrschluss bedeutet dies jedoch auch, dass ein signifikantes Restvolumen interstitiellen Wassers als Ödem im Körper verbleibt, und resorbiert werden muss.

Die Ermittlung des exakten Volumeneffekts eines isotonischen Kristalloids mittels direkter Blutvolumenmessung erfolgte erstmals in der vorliegenden Studie. Es wurde unter den Bedingungen der ANH für Ringer-Laktat ein exakter Volumeneffekt von  $17 \pm 10\%$  und für 20 %iges Humanalbumin von  $184 \pm 63\%$  ermittelt.

Tabelle 24 zeigt den aus  $\Delta$  BV, Blutentzug und Kolloidzufuhr ermittelten Volumeneffekt von Ringer-Laktat:

Patientin	BV-1 [ml]	BV-2 [ml]	$\Delta$ BV [ml]	Blutentzug (BE) [ml]	Kristalloidzufuhr (KR) [ml]	Volumeneffekt (VE) [%]
1	4607	4469	- 138	960	3000	27
2	4452	4140	- 311	1201	3500	25
3	3296	2678	- 618	975	3000	12
4	3629	3108	- 521	1421	4500	20
5	3739	3340	- 399	981	3000	19
6	4022	3536	- 486	1415	4500	21
7	4200	3436	- 764	1000	3000	8
8	3799	3533	- 266	1228	3500	27
9	3936	3336	- 600	472	2000	-6
10	3914	3430	- 484	1320	4300	19
<b>MW</b>	<b>3959</b>	<b>3501</b>	<b>- 549</b>	<b>1097</b>	<b>3430</b>	<b>17</b>
<b>SA</b>	<b>387</b>	<b>499</b>	<b>- 185</b>	<b>285</b>	<b>806</b>	<b>10</b>
<b>Min.</b>	<b>3296</b>	<b>2678</b>	<b>- 138</b>	<b>472</b>	<b>2000</b>	<b>-6</b>
<b>Max.</b>	<b>4607</b>	<b>4469</b>	<b>- 764</b>	<b>1421</b>	<b>4500</b>	<b>27</b>

Tabelle 24: Der berechnete Volumeneffekt von Ringer-Laktat. BV-1 = Blutvolumen vor ANH [ml]; BV-2 = Blutvolumen nach ANH [ml];  $\Delta$  BV [ml] = BV-2 – BV-1; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

Tabelle 25 zeigt den aus  $\Delta$  BV, Blutentzug und Kolloidzufuhr ermittelten Volumeneffekt von 20%igem Humanalbumin:

Patientin	BV-2[ml]	BV-3 [ml]	$\Delta$ BV [ml]	Kolloidzufuhr (KO) [ml]	Volumeneffekt (VE) [%]
1	4469	4873	404	200	202
2	4140	4518	378	200	189
3	2678	3117	439	200	220
4	3108	3716	608	300	203
5	3340	3766	426	200	213
6	3536	4150	614	300	205
7	3436	3471	35	350	10
8	3533	3792	259	150	173
9	3336	4011	675	300	225
10	3430	3930	500	250	200
<b>MW</b>	<b>3501</b>	<b>3934</b>	<b>434</b>	<b>245</b>	<b>184</b>
<b>SA</b>	<b>499</b>	<b>500</b>	<b>188</b>	<b>64</b>	<b>63</b>
<b>Min.</b>	<b>2678</b>	<b>3117</b>	<b>35</b>	<b>150</b>	<b>10</b>
<b>Max.</b>	<b>4469</b>	<b>4873</b>	<b>675</b>	<b>350</b>	<b>225</b>

Tabelle 25: Der berechnete Volumeneffekt von 20%igem Humanalbumin . BV-1 = Blutvolumen vor Kolloidinfusion [ml]; BV-3 = Blutvolumen nach Kolloidinfusion [ml];  $\Delta$  BV [ml] = BV-3 – BV-2; KO = Kolloidzufuhr [ml]; VE = Volumeneffekt [%]; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

Zur Verdeutlichung der Fehlerhaftigkeit der HDM-Methode wurden die Erythrozyten- und Blutvolumina neben der exakten Double-Label-Messung zusätzlich mittels HDM-Methode ermittelt und die Werte verglichen (Tabellen 26-28).

Patientin	RCV-1 [ml]	RCV-1 <sub>virt.</sub> [ml]	Differenz [ml]	Differenz [%]
1	1387	1612	225	16
2	1698	1781	83	5
3	998	1088	90	9
4	1163	1270	107	9
5	1313	1421	108	8
6	1607	1689	82	5
7	1295	1428	133	10
8	1104	1216	112	10
9	907	1023	116	13
10	1259	1370	111	9
<b>MW</b>	<b>1273</b>	<b>1390</b>	<b>117</b>	<b>9</b>
<b>SA</b>	<b>249</b>	<b>251</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>Min.</b>	<b>907</b>	<b>1023</b>	<b>82</b>	<b>5</b>
<b>Max.</b>	<b>1698</b>	<b>1781</b>	<b>225</b>	<b>16</b>

Tabelle 26: Vergleich zwischen dem mittels HDM-Methode und dem mittels Double-Label-Blutvolumenmessung bestimmten Erythrozytenvolumina sowie deren Differenz in [ml] und [%] vor ANH. RCV-1 = gemessenes Plasmavolumen; RCV-1<sub>virt.</sub> = virtuelles Plasmavolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

Das vor ANH gemessene Blutvolumen von  $3959 \pm 387$  ml wurde als „Zugeständnis“ für eine Blutvolumenbestimmung mittels HDM-Methode herangezogen. Das mit der HDM-Methode ermittelte  $RCV-1_{virt}$  vor ANH betrug  $1390 \pm 251$  ml. Im Bezug zu dem tatsächlich ermittelten RCV vor ANH von  $1273 \pm 249$  ml ergab sich hier bereits eine falsch hohe Differenz von  $9 \pm 1\%$ .

Patientin	BV-2 [ml]	BV-2 <sub>virt.</sub> [ml]	Differenz [ml]	Differenz [%]
1	4469	5172	703	16
2	4140	4216	76	2
3	2678	2731	53	2
4	3108	3572	464	15
5	3340	3356	16	0
6	3536	3700	164	5
7	3436	3672	236	7
8	3533	3330	-203	-6
9	3336	4082	746	22
10	3430	3908	478	14
<b>MW</b>	<b>3501</b>	<b>3774</b>	<b>273</b>	<b>8</b>
<b>SA</b>	<b>499</b>	<b>648</b>	<b>313</b>	<b>9</b>
<b>Min.</b>	<b>2678</b>	<b>2731</b>	<b>-203</b>	<b>-6</b>
<b>Max.</b>	<b>4469</b>	<b>5172</b>	<b>746</b>	<b>22</b>

Tabelle 27: Vergleich zwischen dem mittels HDM-Methode und dem mittels Double-Label-Blutvolumenmessung bestimmten Blutvolumina sowie deren Differenz in [ml] und [%] nach ANH. BV-2 = gemessenes Plasmavolumen; BV-2<sub>virt.</sub> [ml] = virtuelles Blutvolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

Patientin	BV-3 [ml]	BV-3 <sub>virt.</sub> [ml]	Differenz [ml]	Differenz [%]
1	4873	5621	748	15
2	4518	4651	133	3
3	3117	3168	51	2
4	3716	4252	536	14
5	3766	3835	69	2
6	4150	4228	78	2
7	3471	3808	337	10
8	3792	3457	-335	-9
9	4011	4726	715	18
10	3930	4652	722	18
<b>MW</b>	<b>3934</b>	<b>4240</b>	<b>305</b>	<b>8</b>
<b>SA</b>	<b>500</b>	<b>914</b>	<b>346</b>	<b>8</b>
<b>Min.</b>	<b>3117</b>	<b>3168</b>	<b>-335</b>	<b>-9</b>
<b>Max.</b>	<b>4873</b>	<b>5621</b>	<b>748</b>	<b>19</b>

Tabelle 28: Vergleich zwischen den mittels HDM-Methode und dem mittels Double-Label-Blutvolumenmessung bestimmten Blutvolumina sowie deren Differenz in [ml] und [%] nach Proteininfusion. BV-3 = gemessenes Blutvolumen; BV-3<sub>virt.</sub> = virtuelles Blutvolumen; MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; Min. = Minimum; Max. = Maximum.

Das mit der HDM-Methode ermittelte  $BV-2_{virt}$  nach ANH betrug  $3774 \pm 648$  ml. Im Bezug zu dem tatsächlich ermittelten BV nach ANH von  $3501 \pm 499$  ml ergab sich hier eine falsch hohe Differenz von  $8 \pm 9\%$ . Das mit der HDM-Methode ermittelte  $BV-3_{virt}$  nach Proteininfusion betrug  $4240 \pm 914$  ml. Im Bezug zu dem tatsächlich ermittelten BV nach Proteininfusion von  $3934 \pm 500$  ml ergab sich hier eine falsch hohe Differenz von  $8 \pm 8\%$ . Berechnet man nun den Volumeneffekt der beiden Infusionslösungen mit den über HDM-Methode ermittelten „virtuellen BV nach ANH und nach Kolloidinfusion“, so erhält man für Ringer-Laktat einen um 9 % zu hoch kalkulierter Volumeneffekt von 26 %, für 20 % iges Humanalbumin einen rund 8 % zu hoch kalkulierten Volumeneffekt von 192 %. Diese falsch berechneten Volumeneffekte sind von hoher Bedeutung für die Kalkulation eines Volumenersatzes. Wird von einem Volumeneffekt von etwa 26% ausgegangen, bedeutet dies, dass zum adäquaten Blutvolumenersatz die 3,8-fache Menge kristalloider Infusionslösung benötigt wird. Wie in der vorliegenden Arbeit jedoch gezeigt, wird jedoch mindestens die 5-fache Menge des zu erwartenden Blutverlustes benötigt, um intravasale Hypovolämien zu vermeiden. Trotz der somit nachweislich mangelhaften Aussagekraft wird die HDM-Methode noch in aktuellen Studien praktiziert. Zu beachten ist, dass es sich bei diesen falsch hohen Werten um Werte auf der Basis eines als „Zugeständnis“ korrekt, mittels Double-Label-Messung ermittelten Ausgangs-blutvolumens sind. Es kann davon ausgegangen werden, dass bei ausschließlich mittels HDM-Methode bestimmten Blutvolumina und Volumeneffekten der Unterschied noch höher ist. Daher sind die in Tabelle 22 aufgeführten Volumeneffekte in der Tat nicht als verlässlich anzusehen.

Für den Physiologen sind diese Ergebnisse interessant, für den klinisch tätigen Arzt sogar alarmierend. Aus unserem misslungenen Versuch der normovolämen Hämodilution mit einem Kristalloid resultierte eine signifikante intravasale Hypovolämie. Diese äußerte sich jedoch nicht durch makrohämodynamische Veränderungen (Abbildung 15). Das Defizit war „okkult“. Hier liegt vielleicht eine Erklärung für die Ergebnisse der bereits zitierten großen prospektiven klinischen Studie mit 6.997 Patienten. Sie Vergleich Intensivpatienten bei denen isotonische Kochsalzlösungen vs. Humanalbuminpräparate zur hämodynamischen Stabilisierung unter kontrollierten Bedingungen infundiert wurden. Die Patienten der Kristalloid-Gruppe benötigten im Vergleich zur Humanalbumin-Gruppe lediglich die 1,4-fache Menge zur hämodynamischen Stabilisierung. Dieses Ergebnis wurde als Indiz interpretiert, dass der Volumeneffekt beider Präparatgruppen unter intensivmedizinischen Bedingungen nahezu identisch ist.<sup>7</sup> Offensichtlich ist die Makrohämodynamik aber nicht

geeignet um präzise Rückschlüsse auf die Volumenwirksamkeit unterschiedlicher Infusionslösungen aufzustellen.

Die uns nun vorliegenden Ergebnisse lassen diese retrospektiv gewonnenen Erkenntnisse in einem neuen Licht erscheinen. Patienten wurden im Rahmen einer Blutung kristalloide Infusionslösungen bis zur mittels Standardmonitoring überwachten Kreislaufstabilisierung appliziert. Im Rahmen dieses Standardmonitorings unterscheiden sich die beiden Infusionslösungen bezüglich der bis zur hämodynamischen Stabilisierung zu applizierenden Menge in der Tat nur wenig voneinander. Dennoch scheint es nach unseren Erkenntnissen trotz augenscheinlicher Stabilisierung zu unerkannten intravasalen Hypovolämien zu kommen die durch das Standardmonitoring nicht erfassbar sind. Als Nebeneffekt einer Überinfusion entsteht ein interstitielles Ödem von über 2 Litern (Tabelle 31). Selbst bei nierengesunden Patienten dauert es mehr als zwei Tage, um diese Volumenüberlastung des interstitiellen Raumes vollständig zu beheben.<sup>125</sup> Eine mögliche Erklärung für die Ergebnisse der SAFE-Studie ist aller Wahrscheinlichkeit nach der Zustand der Glykokalyx. Eine kürzlich durchgeführte Studie konnte zeigen, dass im Rahmen des septischen Schocks endotheliale Glucosaminglykane als Bestandteile der Glykokalyx im Plasma signifikant erhöht waren. Dies wurde als Zeichen eines relevanten endothelialen Barrierschadens gewertet.<sup>126</sup> Bei den in der SAFE-Studie eingeschlossenen Patienten handelte es sich ebenfalls um schwerkranke Intensivpatienten. Hier ist also ebenfalls von einem relevanten endothelialen Barrierschaden auszugehen. Hierdurch wird der Volumeneffekt von Infusionslösungen hochwahrscheinlich negativ beeinflusst. Somit lassen sich die nur gering unterschiedlichen Volumeneffekte von kristalloiden und kolloiden Infusionslösungen erklären. Von den schwerkranken Intensivpatienten unterschieden werden müssen weitgehend gesunde, zum Beispiel Patienten im perioperativen Setting. Hier ist von einer intakten endothelialen Barrierefunktion auszugehen, an der eine Infusionslösung ihren Volumeneffekt deutlich potenter wirken lassen kann.

Insgesamt muss der Gebrauch kristalloider Lösungen zur Volumensubstitution bei akuten Blutverlusten also in Frage gestellt werden. Werden Kristalloide infundiert, sollte auch bei intakter vaskulärer Barrierefunktion mindesten die 5-6 fache Menge des zu erwartenden Blutverlustes verabreicht werden um eine intravasale Hypovolämie zu vermeiden. Die Folgen dieses letzteren Volumenregimes sind beeindruckende interstitielle Ödeme und die Beeinträchtigung eines erheblichen Teils der vaskulären Barrierefunktion. Dies war in unserer

Studie bei allen 10 kardiopulmonal gesunden, erwachsenen Probanden zu beobachten, obwohl diese über physiologisch weitgehend intakte intra- und extrazelluläre Kompartimente sowie eine intakte vaskuläre Barrierefunktion verfügten.

Mit einem Volumeneffekt von lediglich 20% tragen Kristalloide, sofern sie zum Volumenersatz (Blutverlust) verwendet werden, erheblich zu einer positiven Flüssigkeitsbilanz bei. Kolloide, die einen deutlich höheren Volumeneffekt aufweisen, sind diesbezüglich insbesondere bei sonst gesunden Patienten in der perioperativen Phase günstiger. Bei kritisch kranken Patienten mit eingeschränkter Gefäßbarriere (z.B. bei Sepsis), ist es gut möglich, dass sich die Volumeneffekte von Kristalloiden und Kolloiden annähern. Die Bewertung der Frage, ob bei diesem speziellen Kollektiv Kolloide den Kristalloiden überlegen sind, bleibt zukünftigen Studien überlassen. So geht die Jahrzehnte alte Kristalloid-Kolloid-Debatte letztlich „ungebremst“, aber doch zumindest auf eine differenziertere Weise weiter. Durch die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung wurden die tatsächlichen Volumeneffekte von Infusionslösungen nun klarer definiert. Dadurch steht die Kristalloid-Kolloid-Debatte jetzt auch auf einer solideren Basis.

## 5. Zusammenfassung

Die Infusion isotonischer Kristalloide spielt im präklinischen und klinischen Bereich eine zentrale Rolle. In jüngst durchgeführten Studien wird der Volumeneffekt von isoonkotischen Kolloiden und Kristalloiden als annähernd gleich beschrieben. Besonders erwähnenswert ist hier die sogenannte SAFE-Studie, bei der isotonische Kochsalzlösungen vs. Humanalbuminpräparate zur hämodynamischen Stabilisierung unter kontrollierten Bedingungen infundiert wurden. Die Patienten der Kristalloid-Gruppe benötigten im Vergleich zur Humanalbumin-Gruppe lediglich die 1,4-fache Menge zur hämodynamischen Stabilisierung. Dieses Ergebnis wurde als Indiz interpretiert, dass der Volumeneffekt beider Präparatgruppen unter intensivmedizinischen Bedingungen nahezu identisch ist.<sup>7</sup> Auch in aktuell gültigen Leitlinien wird ein initialer Ausgleich von Blutverlusten mit Kristalloiden empfohlen. Physiologisches Verständnis und klinische Erfahrungen deuten jedoch auf einen sehr unterschiedlichen Volumeneffekt von Kristalloiden und Kolloiden hin.

In unserer prospektiven klinischen Studie wurde während eines standardisierten Blutverlustes zeitgleich die dreifache Menge Ringer-Laktat infundiert, um die tatsächlichen Volumeneffekte dieser kristalloiden Lösung zu eruieren. Im Zeitraum zwischen 02/2007 und 12/2009 wurde an 10 Patientinnen, die sich einer radikalen Hysterektomie unterziehen mussten, präoperativ das Blutvolumen vor und nach einer akuten normovolämen Hämodilution (ANH) direkt bestimmt. Durch die ANH wurde eine signifikante Blutungssituation simuliert. Im Rahmen der ANH wurde die entzogene Blutmenge mit der dreifachen Menge Ringer-Laktat ersetzt. Im Anschluss erfolgte eine erneute Blutvolumenmessung. Wurde nach der Infusion von Ringer-Laktat ein Volumendefizit festgestellt, wurde dieses mit 20% Humanalbumin ersetzt. Es folgte eine erneute dritte Blutvolumenbestimmung nach Humanalbumininfusion.

Das Blutvolumen wurde mit Hilfe der Double-Label-Blutvolumen-Methode bestimmt. Bei dieser Methode werden das Erythrozytenvolumen (RCV) und das Plasmavolumen (PV) getrennt voneinander ermittelt: Das RCV wurde mittels mit Fluorescein markierten, autologen Erythrozyten bestimmt, die nach Markierung, Rezirkulation im Blutkreislauf und erneuter Entnahme mit einem Durchflusszytometer ausgezählt wurden. Aus den resultierenden Verdünnungswerten wurde das RCV mittels einer modifizierten Messmethode nach

Lauermann berechnet.<sup>127,128</sup> Dieses Verfahren erfolgte sowohl vor als auch nach der Hämodilution. Eine erneute Bestimmung des RCV nach Humanalbumininfusion war nicht notwendig, da das RCV nach Hämodilution nicht verändert wurde und somit konstant war. Die Messung des PV erfolgt mit dem Tracer Indocyaningrün. Es wurde eine Farbstoffkonzentration im nativen Vollblut gemessen. Nach Systemkalibrierung wurde ein Farbstoffbolus über einen zentralen Venenkatheter injiziert. Nach Verteilung im Kreislauf wurde die Farbstoffkonzentration mittels eines Photometers ermittelt, elektronisch verarbeitet und als Messsignal in Millivolt (mV) abgebildet. Das elektronische Messsignal wurde zu einer Eichgerade in Bezug gesetzt, wodurch man einen Wert für das Plasmavolumen erhielt. Eine Bestimmung des PV erfolgte vor und nach Hämodilution sowie nach Humanalbumininfusion. Mit der Double-Label-Blutvolumen-Methode können also alle am Blutvolumen beteiligten Kompartimente genau ermittelt werden, sie gilt derzeit als Goldstandard zur Bestimmung von Volumeneffekten.

Im Studienkollektiv wurden während der Hämodilution  $1,097 \pm 285$  ml Vollblut ( $641 \pm 155$  ml/m<sup>2</sup>), damit  $347 \pm 99$  ml Erythrozyten entzogen, und simultan durch  $3.430 \pm 806$  ml Ringer-Laktat ersetzt. Bei allen 10 Patientinnen kam es nach Hämodilution zu einer intravasalen Hypovolämie. Die Volumendifferenz nach ANH war signifikant und lag bei ( $-459 \pm 185$  ml,  $p < 0,05$ ). Der Volumeneffekt von Ringer-Laktat betrug demnach  $17 \pm 10\%$ . Durch Infusion von  $245 \pm 64$  ml Humanalbumin 20% gelang die Wiederherstellung des Ausgangsblutvolumens  $3934 \pm 500$  ml. Der Volumeneffekt lag hier bei  $184 \pm 63\%$ . Zudem kam es nach der Hämodilution zu einem signifikanten Anstieg des interstitiellen Wassergehaltes ( $2157 \pm 606$  ml;  $p < 0,05$ ) und einer signifikanten Abnahme des Endothelial Surface Layer ( $99 \pm 45$  ml;  $p < 0,05$ ). Nach Humanalbumininfusion konnte ein Wiederanstieg des Endothelial Surface Layer ( $120 \pm 77$  ml;  $p < 0,05$ ) gemessen werden.

Das Blutvolumen kann auf mehrere, unterschiedlich genaue Methoden bestimmt werden. Die sicher am häufigsten verwendete Methode ist die sogenannte Hämoglobin/Hämatokrit-Dilutionsmethode (HDM). Sie stellt die am stärksten vereinfachte Messmethodik zur Volumeneffektbestimmung dar: Das Blutvolumen wird hier als primär „normwertig“ vorausgesetzt. Zur Volumeneffektbestimmung erfolgt vor und nach Infusion des Plasmaersatzmittels lediglich eine Messung des Großgefäßhämatokrit ( $Hkt_{LV}$ ).<sup>31,32</sup> Die Ergebnisse der HDM-Methode zeigen jedoch, dass die alleinige Bestimmung des  $Hkt_{LV}$  zur verlässlichen Bestimmung des Volumeneffektes nicht ausreicht. Dies liegt wohl in der kaum

vorhersehbaren Veränderung des Verhältnisses des Ganzkörperhämatokrits ( $Hkt_{WB}$ ) zum  $Hkt_{LV}$ . Der  $Hkt_{LV}$  ist der Hämatokrit, der im klinischen Alltag routinemäßig bestimmt wird. Er entspricht dem mittleren Hämatokrit im Gefäßbett. Der  $Hkt_{WB}$  spiegelt die durchschnittlichen Verhältnisse im gesamten Körper wider und ist somit als Maß der tatsächlichen Erythrozytenfraktion zu betrachten. Der  $Hkt_{WB}$  wird aus RCV und PV berechnet, wohingegen der  $Hkt_{LV}$  ohne Einbeziehung des exakten RCV und PV gemessen wird. Um eine Erklärung für die Veränderungen des Quotienten aus  $Hkt_{WB}$  und  $Hkt_{LV}$ , dem sogenannten „f-cell-Wertes“ zu erhalten, müssen die Verteilungsräume der bei der direkten Messung des Volumeneffektes verwendeten Marker Indocyaningrün und Flourescein-Natrium näher betrachtet werden.

Das mit der HDM-Methode gemessene RCV erfasst ausschließlich das zirkulierende Kompartiment des Intravasalraumes und schließt ein erst jüngst entdecktes „Sperrgebiet für Erythrozyten“, den so genannten „Endothelial surface layer“ (ESL) aus. Unter physiologischen Bedingungen ist das Gefäßendothel mit diesem ESL ausgekleidet. Dieser besteht aus der endothelialen Glykokalyx und gebundenen, nicht zirkulierenden Plasmaproteinen.<sup>42,129</sup> Wird -wie bei der HDM Methode- ein peripherer Hämatokrit bestimmt, geht lediglich das zirkulierende, nicht jedoch das an Glykokalyx gebundene Blutvolumen mit in die Bestimmung ein.<sup>130,130</sup> Durch diese Tatsache lässt sich bereits die Ungenauigkeit dieser Methode zur Blutvolumenbestimmung erkennen. Eine Reduktion der ESL-Dicke verringert durch die Mobilisation von Plasma den Großgefäßhämatokrit, während die Verteilung von Erythrozyten zunimmt. Diese Tatsache verfälscht die Ergebnisse einer herkömmlichen Volumeneffektberechnung,<sup>130</sup> da dieses „neue Modell“ der Mikrozirkulation in Kapillaren impliziert, dass man das Plasmavolumen wiederum in zwei Kompartimente unterteilen kann: Das zirkulierende Plasmavolumen ( $PV_{circ}$ ) und das restliche, nicht-zirkulierende Plasmavolumen im ESL. Die alleinige Messung von Hämatokrit-(Hkt) oder Hämoglobin-(Hb)-Konzentrationen ist also ein zweifelhafter Ansatz um Veränderungen des Blutvolumens und damit des Volumeneffektes exakt zu bestimmen. Ein Vergleich der Double-Label-Blutvolumenmessung mit der HDM-Methode ergab sowohl für den kristalloiden als auch für den kolloidalen Volumeneffekt falsch hohe Werte um 8%. Die Double-Label-Blutvolumenmessung bietet die einzige Möglichkeit, Blutvolumen exakt zu quantifizieren. Nach unserer Kenntnis haben bisher nur sehr wenige Arbeitsgruppen Volumeneffekte durch die direkte Blutvolumenmessung bestimmt. Alternative Techniken können gelegentlich für

klinische Einschätzungen herangezogen werden, zur validen Bearbeitung wissenschaftlicher Fragestellungen sollte jedoch stets der Goldstandard zur Anwendung kommen.<sup>131</sup>

Das ESL-Volumen bleibt nicht konstant, wenn durch künstliche Zufuhr von Infusionslösungen Plasma ersetzt oder eine Hämodilution durchgeführt wird. Ein Großteil des im ESL gebundenen Plasmas kann dem zirkulierenden Blutvolumen zur Verfügung gestellt werden. Dabei erhöht sich das zirkulierende Blutvolumen und der ESL nimmt in seiner Dicke ab.<sup>41,132</sup> In den letzten Jahren wurden mehrere wichtige physiologische Eigenschaften des ESL beschrieben.<sup>133</sup> Die wichtigsten sind die vaskuläre Barrierefunktion und eine antiinflammatorische Wirkung. Die outcome-bezogene Relevanz einer Volumenveränderung des ESL kann derzeit nur geschätzt werden. Bei dem Versuch, das interstitiell angesammelte Wasser mit der 20%igen Humanalbuminlösung zurück nach intravasal zu rekrutieren, konnte in der vorliegenden Untersuchung jedoch nachgewiesen werden, dass die Potenz der Barrierefunktion nach der kristalloiden Hämodilution stark verändert war. Der Volumeneffekt der infundierten, hyperonkotischen Lösung war um 1/3 des erwarteten Volumeneffektes reduziert. Dennoch ist bei einem gemessenen Volumeneffekt von rund 200% hyperonkotisches Humanalbumin eine gute Option um ein interstitielles Ödem zu rekrutieren und dem Intravasalraum zurückzuführen. Diese Eigenschaft sollte sorgfältig gegen die Nebenwirkungen hyperonkotischer Lösungen wie z.B. die Reduktion der Nierenfunktion abgewogen werden.<sup>4,134</sup> Für die natürliche hyperonkotische Lösungen Humanalbumin konnten diese Nebenwirkungen in einer kürzlich durchgeführten Metaanalyse nicht nachgewiesen werden.<sup>135</sup> Hier sind weitere Studien notwendig, um die endgültige Rolle dieser Präparate zu klären.

Prinzipiell kann intravasales Volumen auf mehrere Arten für den Kreislauf verloren gehen. Zum einen über die renale Ausscheidung und die Perspiratio insensibilis, aber auch über die Verschiebung ins Interstitium. Eine Volumenverschiebung ins Interstitium ist vermutlich bei bestimmten Kollektiven mit einer höheren Mortalität assoziiert.<sup>136</sup> Der Ausgleich einer isolierten intravasalen Hypovolämie bei gesunden Erwachsenen mit ausschließlich Ringer-Laktat behindert die Aufrechterhaltung einer intravaskulären Normovolämie signifikant. Selbst bei intakter vaskulärer Barrierefunktion muss mindesten die 5-6 fache Menge des zu erwartenden Blutverlustes verabreicht werden um eine intravasale Hypovolämie zu vermeiden. Nebenwirkungen sind dann beeindruckende interstitielle Ödeme und ein Verlust

des ESL. Interessant war, dass trotz der signifikanten intravasalen Hypovolämie keine dieser Veränderungen durch makrohämodynamische Messungen nachgewiesen werden konnte.

Insgesamt muss also der Gebrauch kristalloider Lösungen zur Volumensubstitution bei akuten Blutverlusten in Frage gestellt werden. Die Folgen sind erhebliche interstitielle Ödeme und die Zerstörung eines erheblichen Teils der vaskulären Barrierefunktion. Das Outcome nach elektiven Eingriffen oder die Übertragbarkeit der gewonnenen Erkenntnisse auf kritisch kranke Patienten bleibt weiterhin unklar und muss dringend in künftigen Studien untersucht werden. Aufgrund der aktuell vorliegenden Datenlage ist jedoch ein schlechteres Outcome bei deutlich positiver Flüssigkeitsbilanz durch Überinfusion anzunehmen.<sup>134</sup> Die große und seit langem geführte Kristalloid-Kolloid-Debatte ist also nach wie vor nicht beendet. Die mit der vorliegenden Studie klar dargestellten Volumeneffekte von Kristalloiden stellen für diese Debatte nun jedoch eine neue, sachliche Grundlage dar.

## 6. Abkürzungsverzeichnis

ANH	-	Akute normovoläme Hämodilution
ANP	-	Atriales natriuretisches Peptid
ATLS	-	Advanced Trauma Life Support
BE	-	Blutentzug
BMI	-	Body Mass Index
BSA	-	Body surface area
BV	-	Blutvolumen
BV <sub>virt.</sub>	-	virtuelles Blutvolumen
CB <sub>0</sub>	-	theoretische ICG-Konzentration im Vollblut zum Zeitpunkt 0
CP <sub>0</sub>	-	theoretische ICG-Konzentration im Plasma zum Zeitpunkt 0
D	-	Menge injizierten ICG
E <sub>Beutel</sub>	-	Erythrozytengehalt ANH-Beutel
E <sub>i</sub>	-	Erythrozytenzahl pro ml Injektat
E <sub>p</sub>	-	Erythrozytenzahl pro ml Patientenblut
ESL	-	Endothelial surface layer
FACS	-	Fluorescent Activated Cell Sorting
F <sub>Rcf</sub>	-	Fraktion fluoreszierender Erythrozyten
Hb	-	Hämoglobin
HbO <sub>2</sub>	-	Sauerstoffgesättigtes Hämoglobin
HDM	-	Hämoglobin/Hämatokrit-Dilutionsmethode
HES	-	Hydroxyethylstärke
Hkt	-	Hämatokrit
Hkt <sub>LV</sub>	-	Großgefäßhämatokrit
Hkt <sub>WB</sub>	-	Ganzkörperhämatokrit
ICG	-	Indocyaningrün
IE <sub>ANH</sub>	-	interstitieller Wassergehalt nach ANH
IE <sub>KO</sub>	-	interstitieller Wassergehalt nach Kolloidinfusion
kD	-	Kilodalton
KO	-	Kolloidinfusion
KR	-	Kristalloidlösung
Max.	-	Maximalwert

Min.	-	Minimalwert
mV	-	Millivolt
MW	-	Mittelwert
n	-	Patientenanzahl
PDK	-	Periduale Katheter
PV	-	Plasmavolumen
PV <sub>circ.</sub>	-	zirkulierendes Plasmavolumen
PV <sub>gesamt</sub>	-	gesamtes Plasmavolumen
PV <sub>virt.</sub>	-	virtuelles Plasmavolumen
RCV	-	Erythrozytenvolumen
RCV <sub>virt.</sub>	-	virtuelles Erythrozytenvolumen
SA	-	Standardabweichung
SoF	-	Natrium-Fluorescein
TH	-	therapeutische Infusion
TNF	-	Tumor-Nekrose-Faktor
UA <sub>ANH</sub>	-	Urinausscheidung während ANH
UA <sub>KO</sub>	-	Urinausscheidung während Kolloidinfusion
VE	-	Volumeneffekt
V <sub>i</sub>	-	Volumen injizierter markierter Zellen
VL	-	volume loading

## 7. Literatur

<sup>1</sup> de Leeuw PW, Dees A. Fluid homeostasis in chronic obstructive lung disease. *Eur Respir J Suppl* 2003; 46:33s-40s.

<sup>2</sup> Chappell D, Jacob M, Hofmann-Kiefer K, Conzen P, Rehm M. A rational approach to perioperative fluid management. *Anesthesiology* 2008; 109(4):723-740.

<sup>3</sup> Holte K, Kehlet H. Fluid therapy and surgical outcomes in elective surgery: a need for reassessment in fast-track surgery. *J Am Coll Surg* 2006; 202(6):971-989.

<sup>4</sup> Brunkhorst FM, Engel C, Bloos F et al. Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *N Engl J Med* 2008; 358(2):125-139.

<sup>5</sup> Tamilselvan P, Fernando R, Bray J, Sodhi M, Columb M. The effects of crystalloid and colloid preload on cardiac output in the parturient undergoing planned cesarean delivery under spinal anesthesia: a randomized trial. *Anesth Analg* 2009; 109(6):1916-1921.

<sup>6</sup> Zander R. et al. Requirements and expectations for optimal volume replacement. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 2005 Dec;40(12):701-19.

<sup>7</sup> Finfer S, Bellomo R, Boyce N, French J, Myburgh J, Norton R. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *N Engl J Med* 2004; 350(22):2247-2256.

<sup>8</sup> Hartog CS, Bauer M, Reinhart K. The efficacy and safety of colloid resuscitation in the critically ill. *Anesth Analg.* 2011 Jan;112(1):156-64. Epub 2010 Dec 2.

<sup>9</sup> Committee on Trauma (2004) Advanced trauma life support (ATLS). American College of Surgeons, Chicago

<sup>10</sup> Napolitano LM: Resuscitation following trauma and hemorrhagic shock: Is hydroxyethyl starch safe? *Crit. Care Med.* 1995; 23:1795 – 797

<sup>11</sup> Warren BB, Durieux MD: Hydroxyethyl starch: Safe or not? *Anesth. Analg.* 1997;84:206-212

- <sup>12</sup> Hartmann AF et al. (1932) Studies in the metabolism of sodium r-lactate. Response of normal human subjects to the intravenous injection of sodium r-lactate. *J Clin Invest.* Mar;11(2):327-35.
- <sup>13</sup> Adams H, Flemming A et al. (2010) Infusionstherapie im Rettungsdienst. *Intensivmed*; 47:370-380
- <sup>14</sup> Shires GT, Holman J (1948) Dilution acidosis *Ann Intern Med.* 1948 Mar;28(3):557-9
- <sup>15</sup> Adams Ha (2007) Volumen- und Flüssigkeitsersatz – Physiologie, Pathophysiologie, Pharmakologie und klinischer Einsatz (1 und 2) *Anästhesiol Intensivmed* 48:448-460,518-540
- <sup>16</sup> Zander R (2002) Base Excess und Laktatkonzentration von Infusionslösungen und Blutprodukten. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 37:359-363
- <sup>17</sup> Haller M, Finsterer U. (1994) Blood Volume: Not one single volume but the sum of two volumes with various mixing in different parts of the Circulation. *Infusionsther Transfusionsmed*; 21: 136-137
- <sup>18</sup> Shippy CR et al. Reliability of clinical monitoring to assess blood volume in critically ill patients. *Crit Care Med.* 1984 Feb;12(2):107-12.
- <sup>19</sup> Blajchman MA (1998) Immunomodulatory effects of allogenic blood transfusions: clinical manifestations and mechanisms. *Vox Sang* 74: 315–319
- <sup>20</sup> Schmidt D (1973) Die Blutvolumenbestimmung. *Z Exper Chirurg* 6: 78–102
- <sup>21</sup> Grehant M, Quinquard E (1882) Mesures dusang contenu dans l’organisme d’un mammifère vivant. *C. R.Acad Sci Paris* 94: 1450
- <sup>22</sup> Hahn L, Hevesy GA (1940) A method of blood volume determination. *Acta Physiol Scand* 1: 3–10
- <sup>23</sup> International Committee for Standardization in Haematology (1980) Recommended methods for measurement of red-cell and plasma volume. *J Nucl Med* 21: 793–800

- <sup>24</sup> Price DC, Swann SJ, Hung STC, Kaufmann L, Huberty JP, Shohet SB (1976) The measurement of red cell volume using nonradioactive cesium and fluorescent excitation analysis. *J Lab Clin Med* 87: 535–543
- <sup>25</sup> Cavill I, Trevett D, Fisher J, Hoy T (1988) The measurement of the total volume of red cells in man: a non-radioactive approach using biotin. *Br J Haematol* 70: 491–493
- <sup>26</sup> Veillon C, Patterson K, Nagey D, Tehan A (1994) Measurement of blood volume with an enriched stable isotope of chromium (<sup>53</sup>Cr) and isotope dilution by combined gas chromatography- mass spectrometry. *Clin Chem* 40: 71–73
- <sup>27</sup> Haller M, Dressel H, Thiel M, Orth V, Brechtelsbauer H, Pfeiffer M, Finsterer U (1997) Determination of red cell volume with a nonradioactive marker (sodium fluorescein) in humans using flow cytometry. *Infusionsther Transfusionsmed* 1997;24:132-137
- <sup>28</sup> Bjerkhoel P, Lundvall J (1994) Rapid and large plasma volume decrease upon shortterm quiet standing. *Acta Physiol Scand* 150: 347–48
- <sup>29</sup> Renkin EM (1986) Some consequences of capillary permeability to macromolecules: starling's hypothesis reconsidered. *Am J Physiol* 250: H706-H710
- <sup>30</sup> Schmidt D (1973) Die Blutvolumenbestimmung. *Z Exper Chirurg* 6: 78–102
- <sup>31</sup> Rehm M, Orth V, Kreimeier U, Thiel M, Haller M, Brechtelsbauer H, Finsterer U (2000) Changes in intravascular volume during acute normovolemic hemodilution and intraoperative retransfusion in patients with radical hysterectomy. *Anesthesiology* 92:657–664
- <sup>32</sup> Rehm M, Haller M, Orth H et al. (2001) Changes in blood volume and hematocrit during acute preoperative volume loading with 5% albumin or 6% starch solutions in patients before radical hysterectomy. *Anesthesiology* 95:849–856
- <sup>33</sup> Rehm M, Orth V, Kreimeier U, Thiel M, Mayer S, Brechtelsbauer H, Finsterer U (2001) Veränderungen des Blutvolumens während akuter normovolämer Hämodilution mit 5% Albumin oder 6% Hydroxyethylstärke und intraoperativer Retransfusion; eine prospektive randomisierte Untersuchung. *Anaesthesist* 50:569–579
- <sup>34</sup> Jacob M, Chappell D, Rehm M. Clinical update: perioperative fluid management. *Lancet* 2007; 369(9578): 1984-1986.

- <sup>35</sup> Whipple GH et al. (1920) Blood regeneration following simple anemia I. Mixed diet reaction. *Am J Physiol*; 53: 151-166
- <sup>36</sup> Orth V, Rehm M, Thiel M, Kreimeier U, Haller M, Brechtelsbauer H, and Finsterer U. (1998) First clinical implications of perioperative red cell volume measurement with a nonradioactive marker (sodium fluorescein). *Anesth Analg*;87:1234-8.
- <sup>37</sup> Bradley EC, Barr JW. (1968) Determination of blood volume using indocyanine green (Cardio green) dye. *Life SK*;7:1001-1007
- <sup>38</sup> Nieuwdorp M, Meuwese MC, Vink H et al. (2005) The endothelial glycocalyx: a potential barrier between health and vascular disease. *Curr Opin Lipidol* 16: 507–511
- <sup>39</sup> Klitzman B, Duling BR. (1979) Microvascular hematocrit and red cell flow in resting and contracting striated muscle. *Am J Physiol*;237:H481-H490
- <sup>40</sup> Vink H, Duling BR. (1996) Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leucocytes within mammalian capillaries. *Arc Res*;79:581-9
- <sup>41</sup> Pries AR, Secomb TW, Sperandio M, Gaehtgens P. (1998) Blood flow resistance during hemodilution: effect of plasma composition. *Cardiovasc Res*;37:225-35
- <sup>42</sup> Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P. (2000) The endothelial surface layer. *Pflügers Arch Eur J Physiol*;440:653-66.
- <sup>43</sup> Squire JM, Chew M, Nneij G, Neal C, Barry C, Michel C. (2001) Quasi-periodic substructure in the microvessel endothelial glycocalyx: a possible explanation for molecular filtering? *J Struct Biol*;136:239-255
- <sup>44</sup> Chappell D, Jacob M et al. (2007) Hydrocortisone preserve the vascular barrier by protecting the endothelial glycocalyx. *Anaesthesiology* 107: 776-784
- <sup>45</sup> Pries AR, Neuhaus D, Gaehtgens P. (1992) Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. *Am J Physiol.* 1992 Dec;263(6 Pt 2):H1770-8.

- <sup>46</sup> Bryson GL, Laupacis A, Wells GA for the International Study of Perioperative Transfusion (1998) Does acute normovolemic hemodilution reduce perioperative allogeneic transfusion? A Meta-analysis. *Anesth Analg* 86:9–15
- <sup>47</sup> Lauermann I. (1991) A new method for determination of circulating blood volume - erythrocyte marking with sodium fluorescein. *Infusionsther*; 18:130-6
- <sup>48</sup> Lauermann I, Wilhelm G, Kirchner E. (1994) Blood volume determination with sodium fluorescein and radioactive chromium - a clinical comparison of methods. *Infusionsther Transfusionsmed*;21:138-42
- <sup>49</sup> Rehm M. Volumeneffekt kolloidaler Infusionslösungen (Albumin 5% und Hydroxyäthylstärke 6%): Einfluss der endothelialen Glykokalyx. Habilitationsschrift (2003)
- <sup>50</sup> Blair NP, Evans MA, Lesar TS, Zeimer RC. (1986) Fluorescein and fluorescein glucuronide pharmacokinetics after intravenous injection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27:1107-1114
- <sup>51</sup> Haller M, Akbulut C, Brechtelsbauer H, Fett W, Briegel J, Finsterer U, Peter K. (1993) Determination of plasma volume with indocyanine green in man. *Life Sci*;53:1597-1604
- <sup>52</sup> Haller M, Brechtelsbauer H, Finsterer U, Forst H, Bein T, Briegel J, Peter K. (1992) Bestimmung des Plasmavolumens mit Indocyaningrün beim Menschen. *Der Anaesthesist*;41:115-120
- <sup>53</sup> Landsman MLJ, Kwant G, Mook GA, Zijlstra WG (1976) Light-absorbing properties, stability and spectral stabilization of indocyanine green. *J Appl. Physiol*; 40: 575-583
- <sup>54</sup> Chaplin H, Mollison PL. (1952) Correction for plasma trapped in the red cell column of the hematocrit. *Blood*. 1952 Dec;7(12):1227-38
- <sup>55</sup> Gehan EA, George SL. (1970) Estimation of human body surface area from height and weight. *Cancer Chemother Rep*;54:225-235
- <sup>56</sup> Latta T. (1831) Malignant Cholera. *Lancet* 2: 274
- <sup>57</sup> Goerig M. Geschichte der Volumentherapie. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2001; 36 (Suppl 2): 71-75

- <sup>58</sup> Landerer A (1890) Handbuch der allgemeinen chirurgischen Pathologie und Therapie. Urban & Schwarzenberg. Wien und Leipzig.
- <sup>59</sup> Ringer S; J. Physiol. 6 (1885) 361
- <sup>60</sup> White SA. Is Hartmann's the solution? *Anaesthesia* 1997; 52(5): 422-427
- <sup>61</sup> Fischer SR et al. Plasma volume expansion with solutions of hemoglobin, albumin, and Ringer lactate in sheep. *Am J Physiol.* 1999 Jun;276(6 Pt 2):H2194-203.
- <sup>62</sup> Zaar M. et al. (2009) Initial administration of hydroxyethyl starch vs. lactated Ringer after liver trauma in the pig. *Brit J Anaesth.* 102 (2): 221-6
- <sup>63</sup> Sabutsch et al. (1997) Systemic plasma expanders and their effect of blood volume, viscosity and coagulation.
- <sup>64</sup> Hahn RG et al. (1998) Volume effect of Ringer's solution in the blood during general anaesthesia. *European Journal of Anaesthesiology* Volume 15, Issue 4, pages 427–432, July 1998
- <sup>65</sup> Christensen P, Andersson J, Rasmussen P et al. (2001) Changes in circulating blood volume after infusion of hydroxyethyl starch 6% in critically ill patients. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2001 Apr;45(4):414-20.
- <sup>66</sup> Vogt NH, Bothner U, Lerch G, et al. Large-dose administration of 6% hydroxyethyl starch 200/0.5 for total hip arthroplasty: plasma homeostasis, hemostasis, and renal function compared to use of 5% human albumin. *Anesth Analg* 1996;83:262–8
- <sup>67</sup> Dehne MG, Muhling J, Sablotzki A, et al. Hydroxyethylstarch (HES) does not directly affect renal function in patients with no prior renal impairment. *J Clin Anesth* 2001;13:103–11.
- <sup>68</sup> Zaar M. et al. (2009) Initial administration of hydroxyethyl starch vs. lactated Ringer after liver trauma in the pig. *Brit J Anaesth.* 102 (2): 221-6

<sup>69</sup> Jungheinrich C, Scharf R, Wargenau M, et al. The pharmacokinetics and tolerability of an intravenous infusion of the new hydroxyethylstarch 130/0.4 (6%, 500 ml) in mild-to-severe renal impairment. *Anesth Analg* 2002;95:544–51.

<sup>70</sup> Sommermeyer K. et al. (1987) Klinisch verwendbare Hydroxyethylstärke; physikalisch-chemische Charakterisierung. *Krankenhauspharmazie*, 8: 271-278

<sup>71</sup> Stockwell MA, Scott A, Day A, Soni N. Colloid solutions in the critically ill: a randomised comparison of albumin and polygeline 2 serum albumin concentration and incidences of pulmonary oedema and acute renal failure. *Anaesthesia* 1992;47:7–9.

<sup>72</sup> Sommermeyer K. et al. (1987) Klinisch verwendbare Hydroxyethylstärke; physikalisch-chemische Charakterisierung. *Krankenhauspharmazie*, 8: 271-278

<sup>73</sup> Margaron M et al. (2004) Changes in serum albumin concentration and volume expansion effects following a bolus of albumin 20% in septic patient. *British J Anaesth* 92(6): 821-6

<sup>74</sup> Nieme T et al. (2010) Colloid solutions: a clinical update. *J Anesth.* 24: 913-925

<sup>75</sup> Orth V, Rehm M, Thiel M, Kreimeier U, Haller M, Brechtelsbauer H, and Finsterer U. (1998) First clinical implications of perioperative red cell volume measurement with a nonradioactive marker (sodium fluorescein). *Anesth Analg*;87:1234-8.

<sup>76</sup> Jacob M, Rehm M, Orth V, Lötsch M, Brechtelsbauer H, Weninger E, Finsterer U. (2003) Volumeneffekte von 6% Hydroxyethylstärke 130/0,4 (Voluven<sup>®</sup>) während präoperativer akuter normovolämer Hämodilution. *Der Anaesthesist* 2003;52:896-904

<sup>77</sup> Rehm M, Orth V, Kreimeier U, Thiel M, Mayr S, Brechtelsbauer H, Finsterer U. (2001) Veränderungen des Blutvolumens während akuter normovolämer Hämodilution mit 5% Albumin oder 6% Hydroxyethylstärke und intraoperativer Retransfusion: *Der Anaesthesist*;50:569-79

<sup>78</sup> Rehm M, Orth V, Weninger E, Jacob M, Mayr S, Brechtelsbauer H, Finsterer U. (2001) Akute "normovoläme" Hämodilution mit 3,5% Polygelin (Haemaccel<sup>®</sup>) bei einer Patientin vor Wertheim-Meigs-Operation. Blutverlust von 87% des Blutvolumens ohne perioperative Fremdbluttransfusion. *Der Anaesthesist*;50:580-84

<sup>79</sup> Rehm M, Orth V, Kreimeier U, Thiel M, Haller M, Brechtelsbauer H, Finsterer U. (2000) Changes in intravascular volume during acute normovolemic hemodilution and intraoperative retransfusion in patients with radical hysterectomy. *Anesthesiology*;92:657-664

- <sup>80</sup> Rehm M, Haller M, Brechtelsbauer H, Akbulut C, Finsterer U. (1998): Changes in plasma volume in immediate pre- and postoperative periods in patients with major gynaecologic surgery. *Infusionsther Transfusionsmed*;25:222-8
- <sup>81</sup> Schad H, Haider M, Brechtelsbauer H. (1987) Bestimmung des Plasmavolumens mit Indocyaningrün. *Der Anaesthesist*;36:608-614.
- <sup>82</sup> Jacob M, Rehm M, Orth V et al. (2003) Exact measurement of the volume effect of 6% hydroxyethyl starch 130/0.4 (Voluven) during acute preoperative normovolemic hemodilution. *Anaesthesist* 52: 896–904
- <sup>83</sup> Audibert G, Donner M, Lefevre JC, Stoltz JF, Laxenaire MC. Rheologic effects of plasma substitutes used for preoperative hemodilution. *Anesth Analg* 1994; 78(4): 740-745.
- <sup>84</sup> Jarnagin WR, Gonen M, Maithel SK et al. A prospective randomized trial of acute normovolemic hemodilution compared to standard intraoperative management in patients undergoing major hepatic resection. *Ann Surg* 2008; 248(3): 360-369.
- <sup>85</sup> Luft JH (1966) Fine structures of capillary and endocapillary layer as revealed by ruthenium red. *Fed Proc* 25: 1773–1783
- <sup>86</sup> Klitzman B, Duling BR (1979) Microvascular hematocrit and red cell flow in resting and contracting striated muscle. *Am J Physiol* 237: H481–H490
- <sup>87</sup> Fahraeus R, Lindquist T (1931) The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *Am J Physiol* 96: 562–568
- <sup>88</sup> Chappell D, Jacob M, Rehm M et al. (2008) Heparinase selectively sheds heparan sulphate from the endothelial glycocalyx. *Biol Chem* 389: 79–82
- <sup>89</sup> Desjardins C, Duling BR (1990) Heparinase treatment suggests a role for the endothelial cell glycocalyx in regulation of capillary hematocrit. *Am J Physiol* 258: H647–H654
- <sup>90</sup> Henry CB, Duling BR (1999) Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *Am J Physiol* 277: H508–H514

- <sup>91</sup> Vink H, Duling BR (1996) Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes and leukocytes within mammalian capillaries. *Circ Res* 79: 581–589
- <sup>92</sup> Reitsma S, Slaaf DW, Vink H et al. (2007) The endothelial glycocalyx: composition, functions and visualization. *Pflugers Arch* 454: 345–359
- <sup>93</sup> Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER (2007) The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng* 9: 121–167
- <sup>94</sup> Potter DR, Damiano ER (2008) The hydrodynamically relevant endothelial cell glycocalyx observed in vivo is absent in vitro. *Circ Res* 102: 770–776
- <sup>95</sup> Lipowsky HH (2005) Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation* 12: 5–15
- <sup>96</sup> Reitsma S, Slaaf DW, Vink H et al. (2007) The endothelial glycocalyx: composition, functions and visualization. *Pflugers Arch* 454: 345–359
- <sup>97</sup> Jacob M, Bruegger D, Rehm M et al. (2007) The endothelial glycocalyx affords compatibility of Starling's principle and high cardiac interstitial albumin levels. *Cardiovasc Res* 73: 575–586
- <sup>98</sup> Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P (2000) The endothelial surface layer. *Pflugers Arch* 440: 653–666
- <sup>99</sup> Reitsma S, Slaaf DW, Vink H et al. (2007) The endothelial glycocalyx: composition, functions and visualization. *Pflugers Arch* 454: 345–359
- <sup>100</sup> Starling EH (1986) On the absorption of fluids from connective tissue spaces. *J Physiol*; 19: 312-326.
- <sup>102</sup> Curry FE, Michel CC. (1980) A fiber matrix model of capillary permeability. *Microvasc Res.* 1980 Jul;20(1):96-9.
- <sup>103</sup> Baldwin AL, Thurston G. (2001) Mechanics of endothelial cell architecture and vascular permeability. *Crit Rev Biomed Eng.* 2001;29(2):247-78.

- <sup>104</sup> Kamm (2002) Cellular fluid mechanics. *Annu Rev Fluid Mech.* 2002;34:211-32.
- <sup>105</sup> Vink H, Duling BR. Capillary endothelial surface layer selectively reduces plasma solute distribution volume. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 Jan;278(1):H285-9.
- <sup>106</sup> Adamson RH, Clough G. Plasma proteins modify the endothelial cell glycocalyx of frog mesenteric microvessels. *J Physiol.* 1992 Jan;445:473-86.
- <sup>107</sup> Osterloh K, Ewert U, Pries AR. Interaction of albumin with the endothelial cell surface. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002 Jul;283(1):H398-405.
- <sup>108</sup> Henry CB, Durán WN, DeFouw DO. Permeability of angiogenic microvessels following alteration of the endothelial fiber matrix by oligosaccharides. *Microvasc Res.* 1997 Mar;53(2):150-5.
- <sup>109</sup> Hu X, Adamson RH, Liu B, Curry FE, Weinbaum S. Starling forces that oppose filtration after tissue oncotic pressure is increased. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 Oct;279(4):H1724-36.
- <sup>110</sup> Hu X, Weinbaum S. A new view of Starling's hypothesis at the microstructural level. *Microvasc Res.* 1999 Nov;58(3):281-304.
- <sup>111</sup> Rehm M, Zahler S, Lotsch M et al. (2004) Endothelial glycocalyx as an additional barrier determining extravasation of 6% hydroxyethyl starch or 5% albumin solutions in the coronary vascular bed. *Anesthesiology* 100: 1211–1223
- <sup>112</sup> Adamson RH, Lenz JF, Zhang X et al. (2004) Oncotic pressures opposing filtration across non-fenestrated rat microvessels. *J Physiol* 557: 889–907
- <sup>113</sup> Jacob M, Chappell D, Hofmann-Kiefer K et al. (2007) Determinants of insensible fluid loss. Perspiration, protein shift and endothelial glycocalyx. *Anaesthesist* 56: 747–764
- <sup>114</sup> Pouta AM, Karinen J, Vuolteenaho OJ, Laatikainen TJ (1996) Effect of intravenous fluid preload on vasoactive peptide secretion during Caesarean section under spinal anaesthesia. *Anaesthesia* 51: 128–132
- <sup>115</sup> Lamke LO, Nilsson GE, Reithner HL (1977) Water loss by evaporation from the abdominal cavity during surgery. *Acta Chir Scand* 143: 279–284

<sup>116</sup> Jacob M, Chappell D, Conzen P et al. (2008) Blood volume is normal after preoperative overnight fasting. *Acta Anaesthesiol Scand* 52: 522–529

<sup>117</sup> Jacob M, Chappell D, Conzen P et al. (2008) Blood volume is normal after preoperative overnight fasting. *Acta Anaesthesiol Scand* 52: 522–529

<sup>118</sup> Nisanevich V, Felsenstein I, Almogy G et al. (2005) Effect of intraoperative fluid management on outcome after intraabdominal surgery. *Anesthesiology* 103: 25–32

<sup>119</sup> Lowell JA, Schifferdecker C, Driscoll DF et al. (1990) Postoperative fluid overload: not a benign problem. *Crit Care Med* 18: 728–733

<sup>120</sup> Brandstrup B, Tonnesen H, Beier-Holgersen R et al. (2003) Effects of intravenous fluid restriction on postoperative complications: comparison of two perioperative fluid regimens: a randomized assessor-blinded multicenter trial. *Ann Surg* 238: 641–648

<sup>121</sup> Lobo DN, Bostock KA, Neal KR et al. (2002) Effect of salt and water balance on recovery of gastrointestinal function after elective colonic resection: a randomised controlled trial. *Lancet* 359: 1812–1818

<sup>122</sup> Rehm M, Haller M, Brechtelsbauer H et al. (1998) Extra protein loss not caused by surgical bleeding in patients with ovarian cancer. *Acta Anaesthesiol Scand* 42: 39–46

<sup>123</sup> Kamp-Jensen M, Olesen KL, Bach V et al. (1990) Changes in serum electrolyte and atrial natriuretic peptide concentrations, acid-base and haemodynamic status after rapid infusion of isotonic saline and Ringer lactate solution in healthy volunteers. *Br J Anaesth* 64: 606–610

<sup>124</sup> Bruegger D, Jacob M, Rehm M et al. (2005) Atrial natriuretic peptide induces shedding of endothelial glycocalyx in coronary vascular bed of guinea pig hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289: H1993–H1999

<sup>125</sup> Drummer C, Heer M, Baisch F et al. Diuresis and natriuresis following isotonic saline infusion in healthy young volunteers before, during and after HDT. *Acta Physiol Scand Suppl* 1992; 604:101-111.

<sup>126</sup> Nelson A. et al. (2008) Increased levels of glycosaminoglycans during septic shock: relation to mortality and the antibacterial actions of plasma. *Shock*. 2008 Dec;30(6):623-7.

- <sup>127</sup> Lauer mann I. (1991) A new method for determination of Circulating blood volume - erythrocyte marking with sodium fluorescein. *Infusionsther*; 18:130-6
- <sup>128</sup> Lauer mann I, Wilhelm G, Kirchner E. (1994) Blood volume determination with sodium fluorescein and radioactive chromium - a clinical comparison of methods. *Infusionsther Transfusionsmed*;21:138-42
- <sup>129</sup> Pries AR, Kuebler WM. Normal endothelium. *Handb Exp Pharmacol* 2006; 1:1-40.
- <sup>130</sup> Jacob M, Conzen P, Finsterer U, Krafft A, Becker BF, Rehm M. Technical and physiological background of plasma volume measurement with indocyanine green: a clarification of misunderstandings. *J Appl Physiol* 2007; 102(3):1235-1242.
- <sup>131</sup> Pearson TC, Guthrie DL, Simpson J et al. Interpretation of measured red cell mass and plasma volume in adults: Expert Panel on Radionuclides of the International Council for Standardization in Haematology. *Br J Haematol* 1995; 89(4):748-756.
- <sup>132</sup> Pries AR, Neuhaus D, Gaehtgens P. (1992) Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. *Am J Physiol*. 1992 Dec;263(6 Pt 2):H1770-8.
- <sup>133</sup> Weinbaum S, Tarbell JM, Damiano ER. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng* 2007; 9:121-167.
- <sup>134</sup> Schortgen F, Girou E, Deye N, Brochard L. The risk associated with hyperoncotic colloids in patients with shock. *Intensive Care Med* 2008; 34(12):2157-2168.
- <sup>135</sup> Jacob M, Chappell D, Conzen P, Wilkes MM, Becker BF, Rehm M. Small-volume resuscitation with hyperoncotic albumin: a systematic review of randomized clinical trials. *Crit Care* 2008; 12(2):R34.
- <sup>136</sup> Lowell JA, Schifferdecker C, Driscoll DF, Benotti PN, Bistrian BR. Postoperative fluid overload: not a benign problem. *Crit Care Med* 1990; 18(7): 728-733.

## **8. Danksagung**

Mein Dank gilt im Besonderen dem Betreuer dieser Dissertation, Herrn PD Dr. med. Matthias Jacob für die gute Zusammenarbeit und eine geduldige Unterstützung.

Dem Leiter der Arbeitsgruppe, Prof. Markus Rehm herzlichen Dank für die Koordination des Studienablaufs und die reibungslose Realisierung der aufwändigen Messungen während des laufenden klinischen Routinebetriebs.

Von Herzen möchte ich meiner Freundin Valérie Grun für die Unterstützung und Geduld während all meiner Vorhaben in Studium und Beruf, und somit auch im Rahmen dieser Arbeit danken.

Mein größter Dank gilt jedoch meinen Eltern Christian und Franziska Helfen für die geistige und materielle Unterstützung all meiner schulischen und beruflichen Bestrebungen. Ohne deren Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

## **9. Lebenslauf**

### **Persönliche Daten**

Name: Tobias Helfen

Geburtsdatum und -ort: 30.03.1982, Wadern

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: ledig

Konfession: römisch-katholisch

### **Schulische Bildung**

08/1988 - 08/1992      Grundschule Losheim

08/1992 - 06/2002      Gymnasium am Stefansberg, Merzig

### **Studium**

04/2003 – 06/2009      Studium der Humanmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität  
München

### **Praktisches Jahr**

02/2008 – 06/2008      1. Terial, Chirurgische Klinik und Poliklinik der LMU  
München, Standort Innenstadt

06/2008 – 10/2008      2. Terial, Klinik für Anaesthesiologie der LMU München  
Standort Innenstadt

10/2008 – 01/2009            3. Terial, Departement Innere Medizin, Universitätsspital  
Zürich

### **Famulaturen**

09/2005                        Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie  
Krankenhaus der Barmherzigen Brüder, Trier

02/2006                        Klinik für Hand-, plastische und rekonstruktive Chirurgie,  
Schwerbrandverletzentzentrum, BG Unfallklinik Ludwigshafen

08/2006                        Klinik für Kinderkardiologie und angeborene Herzfehler,  
Neugeborenen-Notarzdienst, Deutsches Herzzentrum München

09/2006                        Institut für Rechtsmedizin der Universität München

06/2007                        Klinik für Kinderchirurgie der Charité Berlin

07/2007                        Abteilungen für klinische Flugmedizin und Flugunfallmedizin  
der Luftwaffe, Fürstenfeldbruck

08/2007                        Notaufnahme der Chirurgische Klinik und Poliklinik der LMU  
München, Standort Innenstadt

### **Beruflicher Werdegang**

Seit 08/2009                    Assistenzarzt in Weiterbildung zum Facharzt für Orthopädie und  
Unfallchirurgie; Chirurgische Klinik und Poliklinik der LMU  
München, Standort Innenstadt  
Direktor: Prof. Dr. med. W. Mutschler

## **Monographien / Buchbeiträge / Publikationen**

Autor des BASICS Notfall- und Rettungsmedizin, ELSEVIER Urban & Fischer Verlag München, 2008.

Mitarbeit am BASICS Rechtsmedizin, Prof. Dr. med. W. Keil, ELSEVIER Urban & Fischer Verlag München, 2009.

Helfen T. (2009) Die kombinierte Vasopressin-Adrenalin- vs. die alleinige Adrenalininjektion. Notfall- und Rettungsmedizin, Volume 12, Number 3, Pages 221-222

Helfen T., Zobel S. (2011) Adipöser Notfallpatient. Zu schwer, um gerettet zu werden? MMW Fortschr. Med. Oct 27;153(43):58-9

## **Vorträge / Postervorträge**

T. Helfen, P.H. Thaller (2011) Brief Deformity Course. Analysis and Planning for Lengthening (EPF-Method) 1<sup>st</sup> ISKD-HBO Munich, 16<sup>th</sup>-18<sup>th</sup> January 2011.

T. Helfen (2011) Die Korrektur einer 140 mm Beinlängendifferenz als Spätfolge einer kindlichen Meningokokkensepsis. IX. ASAMI Kongress, 30.09.-01.10.2011 Wiesbaden

## **weitere Ausbildungen**

07/2002 Ausbildung zum Rettungssanitäter, Rettungsdienstschule Saar

04/2010 ALS Provider des ERC, European Resuscitation Council

## **Mitgliedschaften**

AGSWN - Arbeitsgemeinschaft südwestdeutscher Notärzte

DGU - Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie

DIVI - Deutsche interdisziplinäre Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin