

**Untersuchungen zur akuten metabolischen Azidose  
bei herzchirurgischen Patienten und  
in einem tierexperimentellen Modell**

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
– Dr. rer. nat. –

vorgelegt von

**Johanna Katharina Teloh**

geboren in Duisburg

Institut für Physiologische Chemie  
der  
Universität Duisburg-Essen

**2015**

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Oktober 2012 bis September 2015 im Arbeitskreis von Prof. Dr. Dr. Herbert de Groot am Institut für Physiologische Chemie der Universität Duisburg-Essen durchgeführt.

Tag der Disputation: 15. Januar 2016

Gutachter:	Prof. Dr. Dr. Herbert de Groot
	Prof. Dr. Christian Mayer
Vorsitzender:	Prof. Dr. Jochen Gutmann

**Anmerkung**

Geschützte Warennamen (Warenzeichen) werden nicht besonders gekennzeichnet. Aus dem Fehlen eines solchen Hinweises kann nicht geschlossen werden, dass es sich um einen freien Warennamen handelt.

**Inhaltsverzeichnis**

Anmerkung.....	III
Inhaltsverzeichnis.....	IV
1 Einleitung .....	1
1.1 Metabolische Azidose.....	1
1.2 Volumensubstitutionslösungen.....	7
1.3 Metabolische Azidose bei herzchirurgischen Interventionen.....	8
2 Problemstellung und Zielsetzung .....	10
3 Material & Methoden .....	11
3.1 Klinische Beobachtungsstudie.....	11
3.1.1 Verwendete Lösungen.....	11
3.1.2 Studiendesign .....	11
3.1.3 Einschlusskriterien .....	11
3.1.4 Operationsablauf und Flüssigkeitsmanagement.....	12
3.1.5 Datenerhebung .....	13
3.1.6 Referenzwerte zur Beurteilung von Störungen des Säure-Base-Haushalts.....	13
3.1.7 Beeinflussung des BE-Wertes durch verabreichtes Natriumbicarbonat .....	14
3.1.8 Berechnung des Blutvolumens bei Menschen .....	14
3.1.9 Berechnung des Deprotonierungsgrades des Histidin-Imidazols.....	14
3.2 Tierversuche .....	15
3.2.1 Chemikalien und Pharmaka .....	15
3.2.2 Geräte .....	16
3.2.3 Verbrauchsmaterialien .....	17
3.2.4 Versuchstiere .....	18
3.2.5 Anästhesie und Analgesie .....	18
3.2.6 Operatives Vorgehen und Euthanasie .....	19
3.2.7 Biomonitoring .....	21
3.2.8 Blutgasanalyse.....	21
3.2.9 Uringewinnung und Analyse.....	21
3.2.10 Versuchsserien .....	21
3.2.11 Berechnung der entnommenen Bicarbonatmenge nach Henderson-Hasselbalch.....	23
3.2.12 Berechnung des Blutvolumens bei Ratten .....	24
3.3 Allgemeine Methoden .....	24
3.3.1 Quantifizierung von Gelatinepolysuccinat in Urin .....	24

3.3.2	Quantifizierung von Ammonium in Urin.....	24
3.3.3	Quantifizierung von Ammonium in Plasma.....	26
3.3.4	Quantifizierung von Phosphat in Urin .....	27
3.3.5	Quantifizierung von Harnstoff in Urin und Plasma .....	27
3.3.6	Quantifizierung von Aminosäuren in Urin und Plasma.....	27
3.3.7	Software .....	27
3.3.8	Statistik.....	28
4	Ergebnisse .....	29
4.1	Klinische Beobachtungsstudie.....	29
4.1.1	Dilutionsazidose .....	30
4.1.2	Aminosäuren .....	33
4.1.3	Deprotonierung des Histidin-Imidazolrings.....	40
4.1.4	Stickstoffhaltige Stoffwechselprodukte .....	40
4.1.5	Laktatazidose.....	41
4.2	Tierversuche .....	42
4.2.1	Hämatokrit.....	42
4.2.2	Vitalparameter .....	43
4.2.3	Säure-Base-Parameter .....	45
4.2.4	Elektrolytparameter .....	47
4.2.5	Bilanzierung von Kalium und Natrium .....	50
4.2.6	Laktatkonzentration.....	54
4.2.7	Urinanalytik.....	55
5	Diskussion .....	62
5.1	Ursachen der Dilutionsazidose und ihre Auswirkungen im Patienten .....	62
5.2	Denkbare Ansätze zur Reduzierung des Ausmaßes einer intraoperativen Dilutionsazidose .....	64
5.3	Auswirkungen der Histidininkorporation im Patienten.....	65
5.4	Ursachen der Laktatazidose im Patienten.....	69
5.5	Einschränkungen der Beobachtungsstudie .....	70
5.6	Begründung des Tiermodells.....	70
5.7	Erzeugung der Dilutionsazidose im Tiermodell.....	71
5.8	Beitrag genereller Kompensationsmechanismen bei metabolischer Azidose im Tiermodell .....	71
5.8.1	Extrazelluläre Pufferung .....	71
5.8.2	Respiratorische Kompensation.....	72
5.8.3	Intrazelluläre Pufferung.....	72

5.8.4	Renale Kompensation .....	74
5.9	Effekte metabolisierbarer Anionen.....	75
5.10	Ursachen für Elektrolytveränderungen und Steigerung der Diurese im Tiermodell .....	76
6	Relevanz und Ausblick.....	79
7	Zusammenfassung .....	81
8	Summary .....	83
9	Literatur .....	85
10	Anhang .....	92
10.1	Abkürzungsverzeichnis .....	92
10.2	Zusammensetzung weiterer Lösungen.....	93
10.3	Publikationsliste .....	94
10.4	Lebenslauf.....	95
10.5	Erklärung.....	96
10.6	Danksagung.....	97

# 1 Einleitung

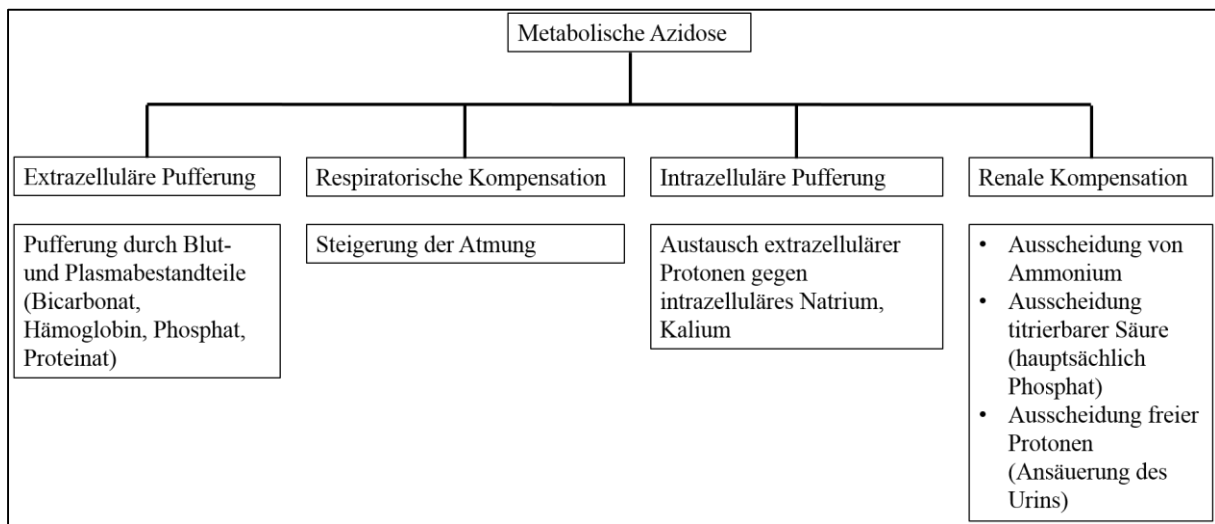
## 1.1 Metabolische Azidose

Metabolische Azidosen werden durch einen erniedrigten arteriellen pH-Wert ( $< 7,4$ ) und eine gleichzeitig reduzierte plasmatische Bicarbonatkonzentration charakterisiert sowie durch kompensatorische Hyperventilation zur Senkung des Kohlenstoffdioxidpartialdrucks [1]. Demzufolge befindet sich der Base Excess (BE) unterhalb  $-2$  mEq/L [2, 3]. Im Gegensatz zu einer chronischen metabolischen Azidose, welche mehrere Wochen anhalten kann, dauert die akute Form nur einige Stunden bis Tage. Die profunde Ausprägung einer metabolischen Azidose ist sowohl mit einer gesteigerten Morbidität als auch Mortalität und somit einem verschlechterten klinischen Outcome assoziiert [2, 4]. Diese schlechte Prognose kann durch die Auswirkung zahlreicher inhärenter Eigenschaften einer akuten metabolischen Azidose auf verschiedene Parameter und Organsysteme des Organismus erklärt werden. Zu den Folgen zählt eine verminderte Kontraktilität des Herzens woraufhin als Konsequenz sowohl das Herzminutenvolumen als auch der Blutdruck absinken [5, 6]. Zusätzlich kommt es zu einer verstärkten peripheren Vasodilatation, einer erhöhten Gefahr von Arrhythmien und einer Katecholaminresistenz [6, 7]. Insbesondere nach herzchirurgischen Eingriffen mit der Notwendigkeit einer intraoperativen Kardioplegie und damit einhergehender kalter Ischämie sind zusätzliche das Herz-Kreislauf-System schwächende Faktoren wie eine metabolische Azidose äußerst ungünstig, weshalb sie unbedingt vermieden werden sollten. Darüber hinaus ergeben sich weitere systemische Auswirkungen einer generalisierten Azidose (Tabelle 1).

**Tabelle 1: Auswirkungen einer metabolischen Azidose auf verschiedene Parameter bzw. Organsysteme.** Nach: [1, 5-9].

Betroffener Parameter/ betroffenes Organ(system)	Effekt
<b>Hämoglobin</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O<sub>2</sub>-Abgabe ans Gewebe ↑</li> </ul>
<b>Kardiovaskuläres System</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kontraktilität ↓</li> <li>• Herzminutenvolumen ↓</li> <li>• Blutdruck ↓</li> <li>• Herzrhythmusstörung</li> <li>• Katecholaminresistenz</li> <li>• Vasodilatation der Arteriolen ↑</li> <li>• Konstriktion der Venen ↑</li> <li>• Pulmonal-vaskulärer Widerstand ↑</li> </ul>
<b>Kaliumhaushalt</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• plasmatische Hyperkaliämie</li> </ul>
<b>Leber</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glutaminsynthese ↑</li> <li>• Harnstoffsynthese ↓</li> </ul>
<b>Lunge</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kompensatorische Hyperventilation</li> </ul>
<b>Metabolismus</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemmung der Glykolyse</li> <li>• Proteinabbau ↑</li> </ul>
<b>Niere</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ammoniumausscheidung ↑</li> <li>• Bicarbonatausscheidung ↓</li> <li>• pH-Wert Urin ↓</li> </ul>

Zur Kompensation bzw. Korrektur einer extrazellulären metabolischen Azidose stehen dem Körper vier Mechanismen zur Verfügung, die sich teilweise in ihrem zeitlichen Auftreten unterscheiden (Abbildung 1).



**Abbildung 1: Zusammenfassende Übersicht über die generellen Kompensationsmöglichkeiten des Organismus bei metabolischer Azidose.**

Unmittelbar nach Entstehung überschüssiger Protonen werden diese mittels extrazellulärer Puffer, d.h. im Blut enthaltener Substanzen, gebunden und somit neutralisiert. Die Konzentration aller Pufferbasen im Blut beträgt näherungsweise 48 mM [10], wobei die Hälfte auf Bicarbonat entfällt, sodass das Kohlenstoffdioxid/Bicarbonat-System die bedeutendste Rolle im Extrazellularraum spielt. Die übrigen 24 mM verteilen sich auf die sogenannten „Nicht-Bicarbonat“-Puffer, welche von Proteinat und Phosphat gebildet werden. Erstgenannter unterteilt sich nochmals in das intraerythrozytäre Hämoglobin sowie Plasmaproteine [1]. Der quantitative Beitrag dieser Komponenten nimmt gemäß ihrer Aufzählung ab. Die Besonderheit des Kohlenstoffdioxid/Bicarbonat-Systems besteht darin, dass es ein sogenanntes offenes System ist, d.h. die beiden Pufferkomponenten (Bicarbonat und Kohlenstoffdioxid) können weitestgehend unabhängig voneinander über Niere und Lunge reguliert werden [10, 11]. Das Zusammenspiel dieser beiden Organe bei der Regulation des pH-Wertes wird anhand der Henderson-Hasselbalch-Gleichung ersichtlich (s. auch Kapitel 3.2.11). Eine weitere sehr rasch einsetzende Art der Kompensation stellt eine angepasste Respiration dar. Vermittelt durch eine Stimulation zentraler und peripherer Chemorezeptoren erfolgt eine kompensatorische Hyperventilation, wodurch vermehrt Kohlenstoffdioxid abgeatmet werden kann, sodass die Konzentration an Protonen im Blut gesenkt wird [1]. Eine solche respiratorische Kompensation wird innerhalb von einigen Minuten realisiert und erreicht nach spätestens sechs bis zwölf Stunden ihr Maximum. Neben diesen beiden relativ zeitnah zur Entstehung überzähliger Protonen eintretenden Mechanismen besteht mit der intrazellulären Pufferung eine dritte Möglichkeit der Pufferung, deren zeitliches Einsetzen teils widersprüchlich angegeben wird. Bei der intrazellulären Pufferung werden im Austausch gegen monovalente Kationen wie Natrium und Kalium Protonen aus dem Extrazellularraum in die Zelle transportiert. Aufgrund der ionalen Zusammensetzung von Intra- (Kalium: 150 mM, Natrium: 10 mM) und Extrazellularraum (Kalium: 4 mM, Natrium: 144 mM) verursacht der Austausch von Protonen gegen Kalium



größere prozentuale Veränderungen der plasmatischen Kaliumkonzentration, sodass eine metabolische Azidose mit einer plasmatischen Hyperkaliämie assoziiert wird (Tabelle 1). Vermutlich ist der Mechanismus der intrazellulären Pufferung ebenfalls Teil einer Akutantwort. Auf diese Weise können 30% - 70% der überschüssigen Protonen vorübergehend neutralisiert werden [1, 12-16]. Im weiteren Verlauf werden die intrazellulär gespeicherten Protonen erneut sukzessive gegen Natrium und Kalium ausgetauscht und fortan renal ausgeschieden bzw. neutralisiert. Eine vierte Möglichkeit besteht in der renalen Kompensation, welche sich wiederum in drei verschiedene Mechanismen unterteilen lässt [17]. Zum einen können freie Protonen sekretiert werden, die die messbare Azidifizierung des Urins bedingen. Die physiologisch maximal mögliche Absolutmenge der auf diese Weise ausgeschiedenen Protonen ist sehr gering ( $< 0,05$  mM) [1, 18-20]. Wenngleich die Sekretion freier Protonen unter quantitativen Gesichtspunkten vollends zu vernachlässigen ist, so stellt sie aufgrund der Ansäuerung des Urins den ersten und elementaren Schritt bei der renalen Säureausscheidung mittels Phosphat und Ammonium dar. Zum anderen können Protonen mit Hilfe des Phosphatpuffersystems ausgeschieden werden, wobei Dinatriumhydrogenphosphat ein weiteres Mal protoniert und folglich zu Natriumdihydrogenphosphat wird. Hierfür ist die oben erwähnte Azidifizierung des Urins von enormer Bedeutung, da der pH-Wert des Urins nach erfolgter Ansäuerung von einem Wert oberhalb des  $pK_s$ -Wert des Phosphatsystems von 6,8 auf einen Wert unterhalb fällt [21]. Unter physiologischen Bedingungen ist das Phosphatsystem mit einer Kapazität von ca. 25 mmol/Tag [21, 22] (entsprechend etwa 40% der Nettosäureausscheidung [11]) ein nennenswertes System. Störungen des Säure-Base-Haushalts stellen demnach eine wesentliche, über mehrere Mechanismen vermittelte, regulatorische Einflussgröße auf die Phosphaturie dar [23]. Die Leistung dieses Systems ist im Falle einer Azidose jedoch nicht ausreichend steigerbar (maximal Verdopplung bis Verdreifachung [1, 19-21, 24]). Sowohl aufgrund seines quantitativen Vorkommens als auch der Pufferkapazität bei physiologischen pH-Werten des Urins stellt Phosphat das vorherrschende direkte Puffersystem im Urin dar [21, 25]. Kreatinin und Citrat gehören ebenfalls zu den „Nicht-Bicarbonat“-Puffern im Urin, welche jedoch beide unter quantitativen Gesichtspunkten keine bedeutende Rolle spielen und aufgrund dessen im Weiteren nicht behandelt werden (Tabelle 2) [11, 21].

**Tabelle 2: Verschiedene im Urin vorkommende „Nicht-Bicarbonat“-Puffer beim Menschen, deren  $pK_s$ -Werte sowie die durchschnittliche Ausscheidung pro Tag bei ausgeglichenem Säure-Base-Haushalt.**  
Nach: [1, 21, 25-27].

<b>Puffersubstanz</b>	<b><math>pK_s</math>-Wert</b>	<b>Ausscheidung bei normalem Säure-Base-Status (mmol/Tag)</b>
<b>Phosphat</b>	6,8	25
<b>Ammonium</b>	9,0	40 - 80
<b>Kreatinin</b>	4,9	11
<b>Citrat</b>	5,6	3

Die dritte Möglichkeit der renalen Kompensation besteht im Ammoniak/Ammoniumsystem, das mit etwa 40 mmol/Tag – 80 mmol/Tag (entsprechend etwa 60% der Nettosäureausscheidung [11]) bereits unter physiologischen Bedingungen die dominierende Komponente hinsichtlich der Neutralisierung überschüssiger Säureäquivalente darstellt (Tabelle 2) [28, 29]. Da der  $pK_s$ -Wert dieses Systems bei 9,0 liegt, kann es innerhalb des physiologischen Bereiches kein effektives direktes Puffersystem darstellen [21], sodass sich dessen Einfluss auf den Säure-Base-Haushalt etwas komplizierter gestaltet. Bei einem ausgeglichenen Säure-Base-Haushalt kommt die Stickstoffausscheidung der Stickstoffaufnahme über die Nahrung gleich. Die Eliminierung des im Metabolismus anfallenden und zu entsorgenden Stickstoffs geschieht zu 99% über die Bildung von Harnstoff und Ammonium, der Anteil stickstoffhaltiger Komponenten wie Nitrate, Harnsäure, im Urin ausgeschiedene Proteine oder Metabolite des Stickstoffmonoxids beträgt zusammen weniger als ein Prozent [27]. Bei normalem Säure-Base-Status erfolgt die Entsorgung über Ammonium nur zu etwa 5% - 10% und dementsprechend zu 89% - 94% über Harnstoff [26, 27]. Zur Harnstoffsynthese werden pro Molekül Harnstoff zwei Moleküle Bicarbonat verbraucht. Dieser Verbrauch findet zum einen während der Generation von Carbamoylphosphat aus Bicarbonat und Ammonium statt, als auch bei der Synthese von Citrullin aus Ornithin und Carbamoylphosphat [30]. Bei dieser Reaktion wird ein Proton frei, das mittels Bicarbonat neutralisiert werden muss (Abbildung 2).

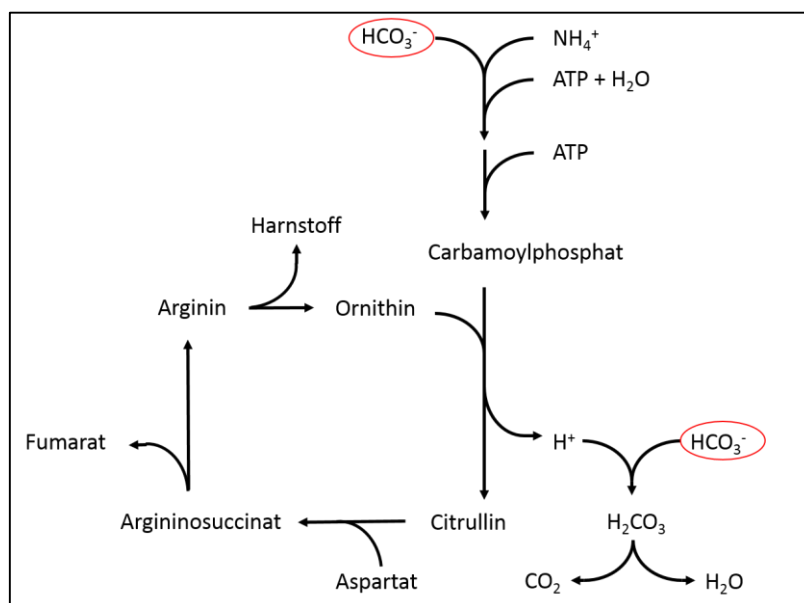
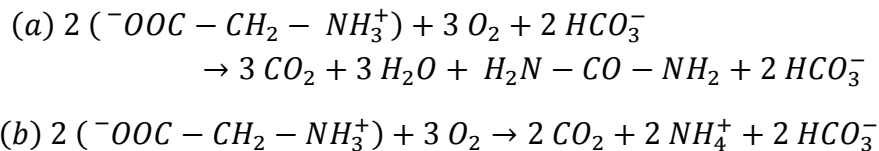


Abbildung 2: Verbrauch von Bicarbonat während des Harnstoffzyklus.

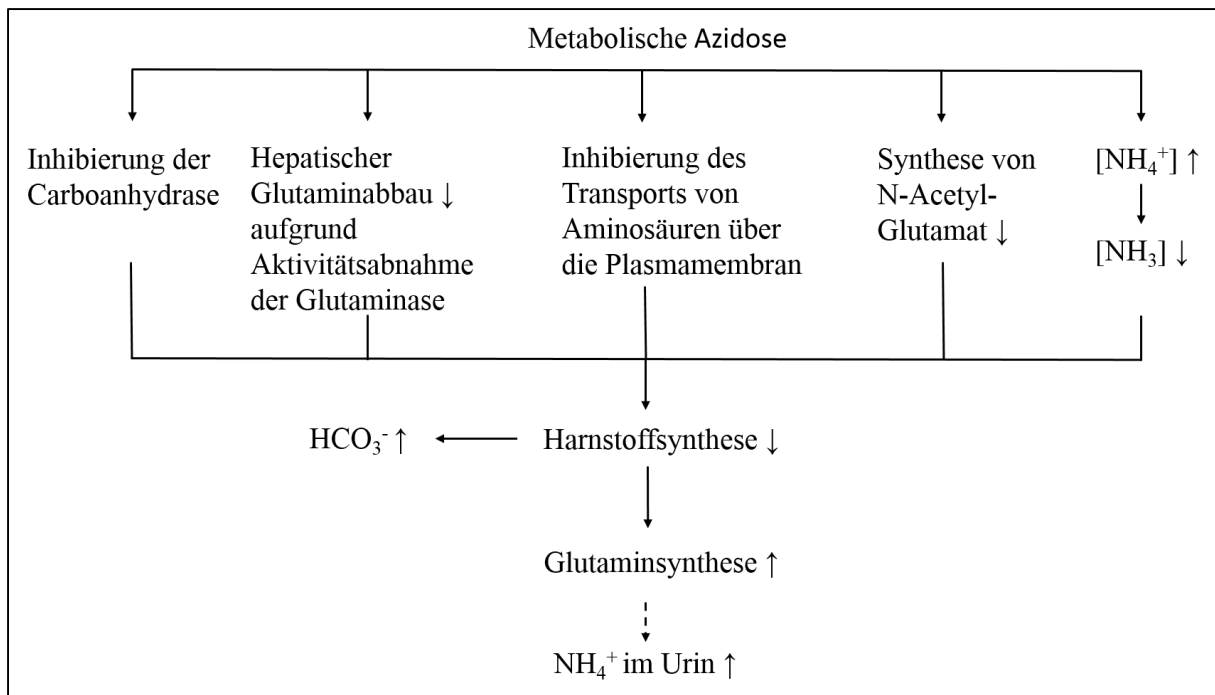
Das auszuschleidendes Ammonium hingegen stammt größtenteils aus den Desaminierungsreaktionen von Glutamin zu Glutamat bzw. Glutamat zu  $\alpha$ -Ketoglutarat in den proximalen Tubuluszellen der Niere [26, 27, 31]. Die Desaminierungsreaktionen werden durch zwei Enzyme, Glutaminase I bzw. Glutamatdehydrogenase, vermittelt [32-34], welche Schlüsselenzyme der Ammoniumsynthese darstellen und deren Expression bei Azidose gesteigert wird [28]. Folglich verbraucht im Gegensatz zur Harnstoffproduktion die Ammoniumsynthese kein Bicarbonat. Das bei der Desaminierung von Glutamin respektive Glutamat anfallende  $\alpha$ -Ketoglutarat kann seinerseits unter Generation von zwei Molekülen Bicarbonat mittels des dritten Schlüsselenzyms der Ammoniumsynthese, der

Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase, in ein neutrales Endprodukt (über Phosphoenolpyruvat schlussendlich zu Glukose) überführt werden. Demzufolge entspricht die durch die Steigerung der Ammoniums synthese eingesparte Menge Bicarbonat stöchiometrisch in etwa der ausgeschiedenen Menge Ammonium [35]. Der Vorteil der Stickstoffausscheidung mittels Ammoniumionen gegenüber Harnstoff besteht demnach in der Gewinnung bzw. Rückgewinnung von Bicarbonat, nicht jedoch über eine direkte gesteigerte Protonenausscheidung [33, 35-39] (Formel 1).



**Formel 1: Stickstoffausscheidung mittels (a) Harnstoffsynthese und (b) Ammoniums synthese.** Durch Steigerung der Ammoniums synthese auf Kosten der Harnstoffs synthese bei azidotischer Stoffwechsellage entsteht pro Ammoniumion in etwa ein Molekül Bicarbonat. Aus: [39]

Bei sowohl akuter als auch chronischer azidotischer Stoffwechsellage kann die Ammoniumausscheidung um das Fünf- bis Zehnfache gesteigert werden [21, 26, 27]. Dementsprechend kommt Glutamin und dessen Katabolismus eine Schlüsselrolle hinsichtlich der Kompensation zu [23]. Die Resynthese des hierfür abgebauten Glutamins erfolgt auf Kosten der Harnstoffs synthese [26, 40]. Eine solche Umverteilung wird durch die Existenz der metabolischen Azidose selbst erwirkt, da sie mehrere inhibitorische Effekte auf den hepatischen Aminosäureabbau besitzt [40], welcher der Harnstoffs synthese vorgeschaltet ist (Abbildung 3). Erstens kommt es zur Inhibierung der Carboanhydrase, die Bicarbonat für die Carbamoylphosphat-Synthetase bereitstellt. Zweitens wird die Synthese von N-Acetyl-Glutamat, dem allosterischen Aktivator der Carbamoylphosphat-Synthetase, vermindert. Drittens verringert sich aufgrund der gesteigerten Protonierung des Ammoniaks dessen Konzentration, welches, im Gegensatz zum Ammonium, das Substrat der Carbamoylphosphat-Synthetase darstellt. Viertens nimmt der hepatische Glutaminabbau aufgrund einer Aktivitätsabnahme der Glutaminase ab. Fünftens kommt es zu einer Inhibierung des Aminosäuretransports über die hepatozytäre Plasmamembran. Diese Veränderung besitzt den größten Einfluss und resultiert in einer Abnahme des Aminosäureverbrauchs der Leber. Hierdurch bedingt steht eine größere Menge an Aminosäuren extrahepatischem Gewebe zur Verfügung, wo sie im Rahmen eines modifizierten Aminosäure- bzw. Stickstoffstoffwechsels abgebaut werden.



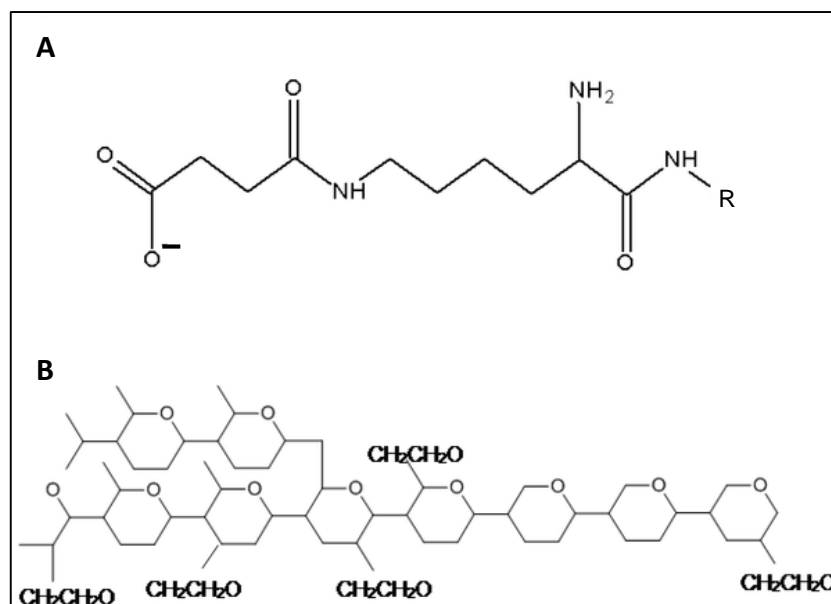
**Abbildung 3: Inhibitorische Effekte einer systemischen metabolischen Azidose auf den hepatischen Aminosäureabbau mit der Konsequenz einer Verminderung der Harnstoffsynthese.** Aufgrund der reduzierten Harnstoffsynthese verbleibender Stickstoff wird im Folgenden zur Glutaminsynthese verwendet. Der Abbau des auf diese Weise generierten Glutamins resultiert sowohl in einer gesteigerten renalen Ammoniumausscheidung als auch einer Erzeugung von Bicarbonat.

Bedingt durch den gesteigerten Glutamin-Katabolismus [23] beginnt die vermehrte Ammoniumexkretion sehr bald (in etwa zwei Stunden) nach Einsetzen einer Azidose [20, 36, 41]; maximale Werte der Ammoniumausscheidung werden jedoch erst nach Tagen erreicht [20, 25]. Somit wird für diesen Kompensationsmechanismus eine Bedeutung nur in chronischen Säure-Base-Störungen postuliert [41-45]. Da die Desaminierungsreaktion und der daraus resultierenden Ammoniums synthese mit Glutaminase I sowie Glutamatdehydrogenase zwei Enzyme erfordert, wird angenommen, dass bis zum Erreichen maximaler Werte der Ammoniumausscheidung zunächst eine vermehrte Enzyymbildung induziert werden muss [17, 43, 46], wodurch die zeitliche Verzögerung bedingt wird. Die Zunahme dieser beiden mitochondrialen Enzyme benötigt vier bis sieben Tage [47-49]. Andererseits existieren Veröffentlichungen, die nach Säurebelastung eine zeitnahe Ammoniumexkretion bescheinigen, welche durchschnittlich innerhalb von drei bis vier Stunden verdoppelt wird [17, 41, 46]. Zu diesem Zwecke muss das Level der Glutaminase I nicht erhöht sein [17, 36, 50]. Vielmehr konnte eine Aktivitätssteigerung der bereits existierenden Glutaminase I nachgewiesen werden [33, 43, 51], welche möglicherweise durch eine azidosebedingte Erniedrigung des  $K_M$ -Wertes des Enzyms zustande kommt [33, 51]. Zusätzlich wird die Ammoniumausscheidung wie bereits geschildert aus elektrochemischen Gründen durch einen niedrigen pH-Wert des Urins begünstigt [20]. Beobachtungen belegen eine direkte Abhängigkeit der Ammoniumausscheidung vom pH-Wert des Urins [41, 52]. Die Ansichten bezüglich der chronologischen Abfolge bzw. des Einsetzens der gesteigerten Ammoniumexkretion infolge einer Säurebelastung werden in der Literatur uneinheitlich und zum Teil sogar widersprüchlich angegeben. Möglicherweise liegen die Gründe hierfür in den verschiedenen Entstehungsarten der experimentell induzierten metabolischen Azidosen

(Infusion von Salzsäure vs. Schwefelsäure vs. Milchsäure), Fehlinterpretationen [53] sowie der Nichtbeachtung der zeitlichen Abfolge hinsichtlich der jeweiligen Fragestellung.

## 1.2 Volumensubstitutionslösungen

Bei den zur Volumentherapie zugelassenen Präparaten gibt es mit kristalloiden und kolloidalen Lösungen zwei unterschiedliche Kategorien. Kristalloide Lösungen stellen wässrige Elektrolytlösungen ohne Makromoleküle dar. Nach ihrer Verabreichung verteilen sie sich gleichmäßig im Intravasalraum und Interstitium, da die enthaltenen Komponenten über das Endothel der Gefäße diffundieren können [54]. Im Gegensatz dazu enthalten kolloidale Präparate hochmolekulare Substanzen, die das intakte Gefäßsystem nicht verlassen und somit einen onkotischen Druck aufbauen können [55]. Ein maßgebliches Kriterium bei der Entscheidung zwischen Kristalloid und Kolloid als auch zwischen verschiedenen Kolloiden stellt der Volumeneffekt dar. Dieser bezeichnet den Anteil einer Lösung, der nach Infusion im Gefäßsystem verbleibt (s.o.) und nicht ins Interstitium wandert. Anhand des Volumeneffektes lässt sich das benötigte Volumen bestimmen, welches zur Aufrechterhaltung oder zum Erreichen einer Normovolämie verabreicht werden muss [56]. Aufgrund der in kolloidalen Präparaten enthaltenen onkotischen Substanzen besitzen Kolloide gegenüber Kristalloiden einen sehr viel größeren Volumeneffekt. Klinische Daten zeigen, dass nur etwa 20% des infundierten kristalloiden Volumens im Intravasalraum verbleiben [56-58], weshalb ein Vielfaches des verlorenen Volumens verabreicht werden muss. Bei annähernd isoonkotischen kolloidalen Präparaten beträgt er hingegen, mit Ausnahme gelatinehaltiger Lösungen, etwa 100% [56]. Die eingesetzten Kolloide Gelatinepolysuccinat und Hydroxyethylstärke (HES) zeigen bei physiologischem pH-Wert aufgrund ihrer chemischen Struktur unterschiedliches Verhalten hinsichtlich eigener Ladung (Abbildung 4).



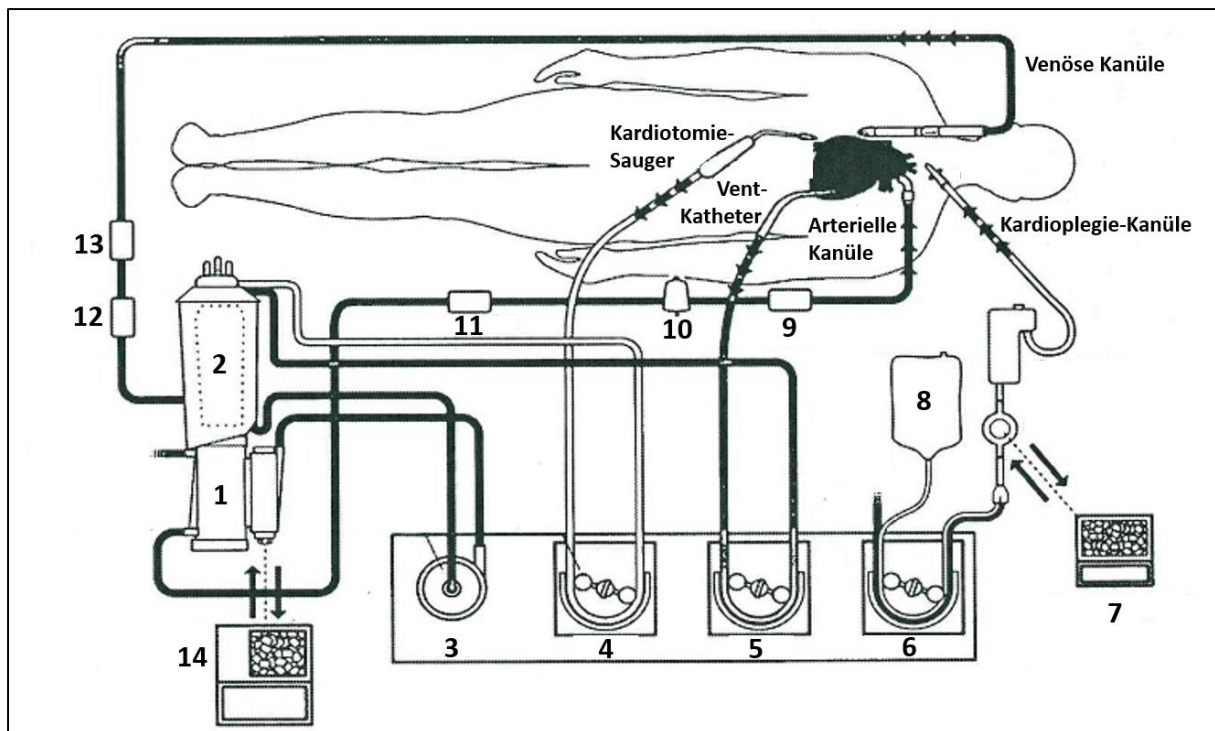
**Abbildung 4:** Ausschnitte aus den chemischen Strukturen von (A) Gelatinepolysuccinat und (B) Hydroxyethylstärke bei physiologischem pH-Wert. Im Gegensatz zum ungeladenen Molekül der Hydroxyethylstärke weist Gelatinepolysuccinat negative Ladung auf.

Kolloidosmotische Substanzen werden zur Infusion in wässrigem Medium gelöst, der sogenannten Trägerlösung. Um eine unproblematische Applikation zu gewährleisten, sind die derzeitigen Trägerlösungen alle ungefähr isosmotisch. Die einfachste Zusammensetzung

einer solchen kristalloiden Trägerlösung besteht aus Kochsalzlösung. Neben diesen NaCl-basierten Varianten gibt es zunehmend sogenannte plasmaadaptierte Trägerlösungen, die suprphysiologische Konzentrationen an Natrium und Chlorid vermeiden, indem sie, in Anlehnung an die Plasmakomposition, weitere Elektrolyte wie Kalium, Calcium oder Magnesium enthalten. Da Infusionslösungen, unabhängig ob kristalloider oder kolloider Herkunft, aus galenischen Gründen prinzipiell kein Bicarbonat enthalten, sind in den plasmaadaptierten Versionen organische Anionen wie beispielsweise Acetat, Laktat oder Malat hinzugefügt, die die ansonsten entstehende Anionenlücke von etwa 24 mM schließen sollen. Bei der Verstoffwechslung dieser sogenannten metabolisierbaren Anionen entsteht Bicarbonat (pro Acetat und Laktat jeweils ein Molekül Bicarbonat, pro Malat zwei Moleküle Bicarbonat). Dieses verbraucht im Zuge seiner eigenen Neutralisierung je ein Proton, sodass mit Wasser und Kohlenstoffdioxid neutrale Stoffwechselprodukte entstehen. Insgesamt tritt somit ein durch Protonenverbrauch bedingter alkalisierender Effekt ein. Nach diesem Prinzip sollen metabolisierbare Anionen einer metabolischen Azidose entgegenwirken und einen möglichst physiologischen pH-Wert aufrechterhalten [59].

### **1.3 Metabolische Azidose bei herzchirurgischen Interventionen**

Herzchirurgische Eingriffe können zumeist nur am ruhenden Herzen vorgenommen werden. Für den Zeitraum des Eingriffs muss die Zirkulation des Blutes sowie dessen Oxygenierung aufrechterhalten werden. Da sowohl das Herz als auch die Lunge im Zuge der Operation stillgelegt bzw. aus dem Körperkreislauf ausgeklemmt werden, übernimmt diese Aufgaben für die Zeit des kardiopulmonalen Bypasses (CPB) eine sogenannte Herz-Lungen-Maschine (HLM) (Abbildung 5). Die HLM verfügt über mehrere Pumpen, Reservoirs und einen Oxygenator, die über Schlauchsysteme miteinander verbunden sind. Grundprinzip ist hierbei, das venöse Blut aus dem rechten Vorhof in das venöse Reservoir der HLM zu leiten, von wo es durch einen Oxygenator über eine arterielle Linie in die Aorta gepumpt wird. Um Luftembolien zu vermeiden, muss das System der Maschine luftleer sein. Zu diesem Zwecke wird es mit einer Lösung, der sogenannten Priming Lösung, befüllt und entlüftet, wobei diese aus herkömmlichen Infusionslösungen oder einer Mischung solcher besteht. Nach Anschluss der HLM wird innerhalb von Sekunden das in den Schläuchen befindliche Priming Volumen über die arterielle Kanüle in den Patienten gepumpt und das venöse Reservoir mit venösem Blut gefüllt. Hieraus resultiert eine schlagartige Dilution intravaskulären Bicarbonats sowie intravaskulärer Proteine und Elektrolyte. Üblicherweise handelt es sich bei der Priming Lösung in der Erwachsenen Chirurgie derzeit um ein Volumen von rund einem Liter. Der für die meisten Operationen am Herzen notwendige Herzstillstand wird durch die Verabreichung der sogenannten kardioplegischen Lösung erwirkt, welche bei Verwendung einer Zweistufenkanüle über den *Sinus venosus* in den rechten Vorhof und damit in den systemischen Kreislauf gelangt.



**Abbildung 5: Schematische Darstellung eines typischen HLM-Kreislaufs.** 1: Oxygenator mit Wärmetauscher zur Sauerstoffanreicherung bzw. Kohlenstoffdioxidabreicherung sowie Temperaturregulation des Blutes; 2: Venöses Reservoir; 3: Arterielle Pumpe als Herzersatz; 4: Kardiotomie-Sauger mit Pumpe zur Absaugung von Blut aus dem Operationsgebiet; 5: Vent-Katheter mit Pumpe zur Absaugung von Blut aus dem linken Ventrikel zur Vermeidung einer volumenbedingten Überladung; 6: Kardioplegie-Pumpe zur Verabreichung der kardioplegischen Lösung; 7: Wärmetauscher; 8: Kardioplegische Lösung zur Induktion des Herzstillstandes; 9: Blasendetektor zur Abschaltung der HLM im Falle einer Luftembolie; 10: Arterieller Filter zur Zurückhaltung von Luftblasen und Partikeln; 11: Blutgasanalysator in der arteriellen Linie; 12: Blutgasanalysator in der venösen Linie; 13: Messgerät zur Sauerstoffsättigung; 14: Monitorsystem mit Temperaturregler. Nach [60].

Im Zusammenhang mit herzchirurgischen Eingriffen unter Verwendung eines CPBs wird die Manifestation einer intraoperativen akuten metabolischen Azidose beobachtet [61-65], deren Entstehung bis heute kausal nur unzureichend geklärt werden konnte [64]. Als Gründe für die Genese dieser metabolischen Azidose werden zum einen die massive Verdünnung der im Blut enthaltenen Puffersubstanzen (wie Bicarbonat und Albumin) durch das benötigte Priming Volumen der HLM, der Gebrauch kardioplegischer Lösung und deren Einbringen in den Kreislauf sowie die intraoperativ stattfindende Infusionstherapie (sofern die verabreichten Lösungen ebenfalls bicarbonatfrei sind) zur Entstehung einer dilutionsbedingten metabolischen Azidose angeführt. Zum anderen stellt der im Vergleich zum physiologischen Niveau drastisch reduzierte nicht-pulsatile Perfusionsdruck von 50 mmHg – 60 mmHg während des CPBs eine weitere Einflussgröße dar. Dieser geringe Perfusionsdruck führt möglicherweise zu einer Minderperfusion der Organe mit begleitender Gewebhypoxie. Hypoxie bedingt die Akkumulation von Laktat als Endprodukt des anaeroben Metabolismus [62, 66, 67]. Während der Phase des CPBs ist in früheren Studien bereits der Anstieg der Laktatkonzentration beschrieben worden [68-70].

## 2 Problemstellung und Zielsetzung

In Übereinstimmung mit dem klassischen Dilutionskonzept verursacht die Infusion großer Volumina kristalloider Salzlösungen in die systemische Zirkulation eines Patienten eine Verdünnung der intravasalen Bicarbonatkonzentration [71-75]. Dies führt zu einer Störung des Säure-Base-Haushalts, der sogenannten Dilutionsazidose. Es wird angenommen, dass der Grund für die Entwicklung dieser Dilutionsazidose in dem offenen Kohlenstoffdioxid/Bicarbonatpuffersystem liegt, bei dem während einer massiven Infusion bicarbonatfreier Lösung die Pufferbase Bicarbonat verdünnt wird, wohingegen in Gegenwart eines konstanten Kohlenstoffdioxidpartialdrucks die korrespondierende Säure Kohlensäure (nach Hydratation des Kohlenstoffdioxids) nicht verdünnt wird [76, 77]. In der Diskussion des Säure-Base-Haushalts löst die Dilutionsazidose zurzeit die meisten Kontroversen aus [73, 74, 78-81]. Hierbei ist nicht nur das Ausmaß Gegenstand der Diskussion, sondern ebenso deren generelle Existenz. Wissenschaftler, die das generelle Auftreten der Dilutionsazidose nicht komplett verneinen, sind jedoch der Ansicht, dass sie *per se* nur von ausgesprochen geringer Bedeutung in der klinischen Routine ist [80], da die Applikation eines großen Volumens innerhalb kürzester Dauer erfolgen muss, um einen deutlichen Verdünnungseffekt hervorrufen zu können [74]. In der überwiegenden Mehrheit der klinischen Fälle erfolgt die Verabreichung aufgrund der bestehenden physiologischen und anatomischen Limitationen des menschlichen Körpers hierfür jedoch zu langsam. Anhand einer Beobachtungsstudie soll zunächst die generelle Existenz der Dilutionsazidose im Rahmen einer im klinischen Alltag standardisierten herzchirurgischen Bypass-Operation überprüft werden. Sofern die Existenz bestätigt werden kann, soll die klinische Relevanz bestimmt sowie die generelle Notwendigkeit therapeutischer Interventionen abgewogen werden. Der Zeitpunkt der Inbetriebnahme der HLM stellt ein geeignetes Modell für die extrem schnelle Verabreichung von über einem Liter dar, anhand dessen die Dilutionsazidose am Patienten in einer klinisch realistischen und daher relevanten Situation untersucht werden soll. In Abgrenzung zu dilutionsbedingten Effekten sollen zusätzlich weitere intraoperative Ursachen einer metabolischen Azidose untersucht werden.

Im zweiten Teil dieser Arbeit steht die systematische Analyse des Einflusses einer metabolischen Azidose auf die Aktivierung verschiedener Kompensationsmechanismen und deren jeweilige quantitative Beiträge im Mittelpunkt. Von zentralem Interesse ist hierbei die Ammoniumausscheidung. Die Ammoniumausscheidung stellt die dominante Größe der renalen Kompensation dar. Allerdings soll dessen Steigerung auf maximale Werte einige Tage in Anspruch nehmen, sodass die Kompensation einer akuten metabolischen Azidose laut Literatur nicht über eine gesteigerte Ammoniumausscheidung realisiert werden kann. Sie soll lediglich in chronischen metabolischen Azidosen Bedeutung besitzen. Für diese Untersuchungen soll ein in der Vergangenheit bereits etabliertes tierexperimentelles Modell der stufenweisen normovolämischen Hämodilution genutzt werden.



### 3 Material & Methoden

#### 3.1 Klinische Beobachtungsstudie

##### 3.1.1 Verwendete Lösungen

Im Rahmen der Infusionstherapie und den operativen Maßnahmen wurden verschiedene Lösungen eingesetzt (Tabelle 3).

**Tabelle 3: Auflistung der während Bypass-Operationen verwendeten Infusionslösungen.**

Produkt	Hersteller
Custodiol	Dr. F. Köhler Chemie, Bensheim
Gelafundin 4%	B. Braun, Melsungen
Jonosteril	Fresenius Kabi, Bad Homburg
Mannitol 20%	B. Braun, Melsungen
NaCl 0,9%	B. Braun, Melsungen
Natriumbicarbonat 8,4%	B. Braun, Melsungen
Ringerlösung	Fresenius Kabi, Bad Homburg

##### 3.1.2 Studiendesign

Die Durchführung der Beobachtungsstudie wurde am 9. Januar 2014 bei der Ethikkommission des Universitätsklinikums Essen beantragt. Diesem Antrag (Bearbeitungsnummer 14-5705-BO) wurde durch die Kommission am 24. Februar 2014 stattgegeben. Die Studie befolgte die Prinzipien aus der Deklaration von Helsinki. Sie entsprach vom Design einer prospektiven Beobachtungsstudie. Der Einschluss von 33 Patienten erfolgte zwischen Juli und Oktober 2014.

Den genommenen Proben wurde eine eindeutige Nummer zugeordnet, die mit weiteren Daten der Patienten verknüpft wurde. Diese Daten umfassten Alter und Geschlecht des Patienten, Grund- und Nebenerkrankungen, die für das untersuchte Krankheitsbild relevant sein könnten, die klinische Verlaufsdokumentation, erhobene Laborparameter sowie die Medikation. Die Persönlichkeitsrechte des Patienten wurden hierbei durch eine vollständige Pseudonymisierung des Namens und Geburtsdatums gewahrt.

##### 3.1.3 Einschlusskriterien

Es wurden alle herzchirurgischen Patienten mit einem Alter von über achtzehn Jahren eingeschlossen, die einer Teilnahme an der genannten Beobachtungsstudie zustimmten und einer isolierten Bypass-Operation zugeführt wurden. Bei der Auswertung zur Dilutionsazidose blieben Patienten unberücksichtigt, die entweder eine präoperative Azidose aufwiesen (n=4), oder postoperativ dialysepflichtig wurden (n=4). Für die Aminosäureanalyse blieben nur Patienten unberücksichtigt, die eine präoperative Azidose zeigten.

### 3.1.4 Operationsablauf und Flüssigkeitsmanagement

Die herzchirurgischen Eingriffe nach standardisiertem Ablauf (Abbildung 6) mit begleitender Anästhesie wurden durch Ärzte der Klinik für Thorax- und Kardiovaskuläre Chirurgie bzw. Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin des Universitätsklinikums Essen durchgeführt. Die Sammlung der Plasma- und Urinproben wurde unterstützt von Herrn cand. med. Serhat Sönmez.

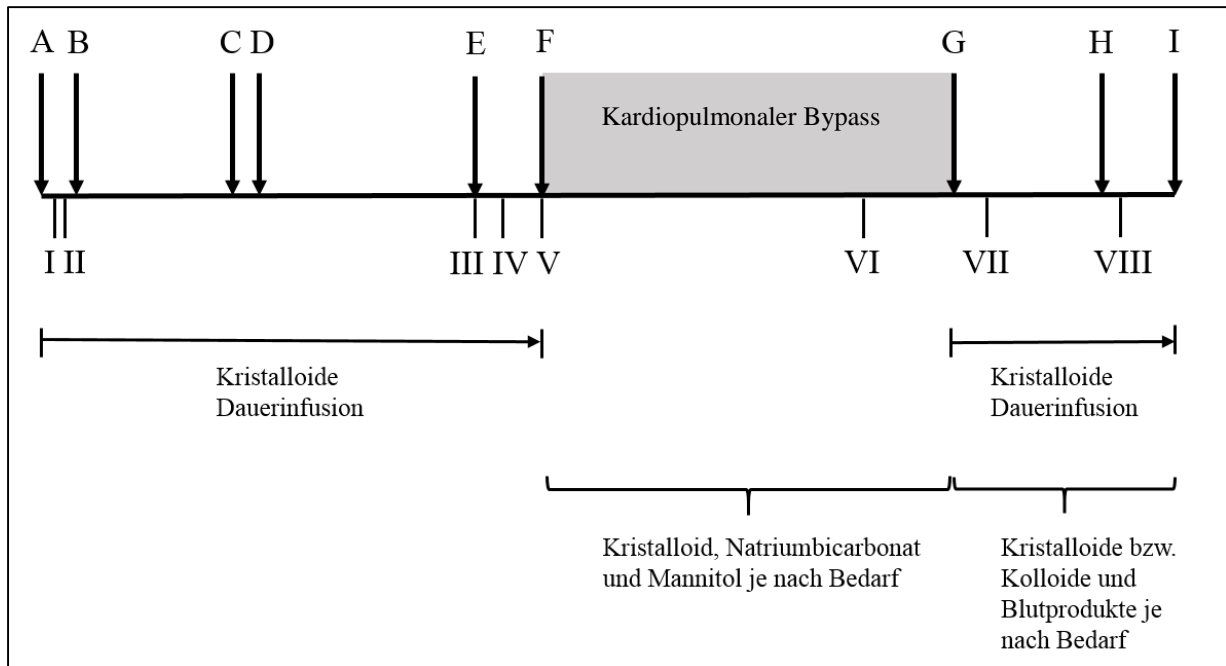
Im Rahmen des anästhesiologischen Managements wurden die benötigten Gefäßkatheter (zentraler Venenkatheter, Sheldonkatheter, 8F Schleuse mit Swan-Ganz-Katheter, arterieller Katheter) sowie der Blasenkatheter angelegt. Nach Katheteranlage begann die kristalloide Dauerinfusion mit Jonosteril. Daraufhin erfolgte die erste Gabe der perioperativen antibiotischen Therapie mittels Cephazolin (2,0 g in 100 ml 0,9% NaCl). Zum Zeitpunkt des Hautschnitts wurde Tranexamsäure (2,0 g in 50 ml 0,9% NaCl) zur Prophylaxe einer Hyperfibrinolyse als Kurzinfusion verabreicht. Die Gabe von Heparin zur Antikoagulation wurde so dosiert, dass eine aktivierte Gerinnungszeit (ACT) größer 400 s gesichert war (400 IE/kg). Zur Gewährleistung einer adäquaten Diurese wurde Furosemid (20 mg) als Schleifendiuretikum verabreicht. Zur Antagonisierung der Heparinwirkung erfolgte nach Entwöhnung von der HLM und Dekanülierung die Gabe von Protamin (300 IE/kg). In diesem Zeitraum wurde zusätzliches Volumen in Form von Kristalloiden oder Gelafundin als kolloidale Lösung sowie Erythrozyten- und Thrombozytenpräparaten nach Bedarf verabreicht. Zwischen Sternumverschluss und Hautnaht erhielt der Patient eine weitere perioperative antibiotische Therapie in Form von Cephazolin (2,0 g in 100 ml 0,9% NaCl).

Nach Hautschnitt und Sternotomie erfolgte standardisiert die Entnahme der linken *Arteria thoracica interna* in Pedikeltechnik mit simultaner Entnahme der *Vena saphena magna* als Graftmaterial. Nach Perikardiotomie erfolgte der Anschluss an die HLM mit arterieller Kanülierung der distalen *Aorta ascendens* und venöser Kanülierung des rechten Vorhofs mittels Zweistufenkanüle. Mit Beginn des CPBs (2,4 L/min/m<sup>2</sup>, angestrebter mittlerer arterieller Blutdruck (MAP) von 50 mmHg – 60 mmHg) begann die Induktion einer milden Hypothermie (32 °C Blasetemperatur). Zur Induktion des Herzstillstandes und Protektion des Herzens während Ischämie erfolgte nach Klemmen der aufsteigenden Aorta proximal der arteriellen Kanüle („Cross-Clamp“) die Infusion von 1,6 L 4 °C kalter kardioplegischer Lösung (Custodiol) über die proximal der Aortenklammstelle positionierten Aortenventkanüle, die vor und nach der Kardioplegiegabe dem Absaugen von Blut diente. Diese Lösung gelangte über den *Sinus venosus* bei der gewählten Form der Kanülierung in den systemischen Kreislauf. Als zusätzliche Protektionsmaßnahme erfolgte während der Infusion der kardioplegischen Lösung die lokale Kühlung mittels 4 °C kalter NaCl Lösung. Nach Induktion des Herzstillstandes erfolgte die Darstellung der Koronargefäße und Anlage der distalen Bypassanastomosen. Nach Wiedereröffnen der Aortenklamme erfolgte während der Reperfusion des Herzens und Wiedererwärmens des Körpers auf 36 °C die Anlage der zentralen Anastomosen an der aufsteigenden Aorta. Mittels *transit time flow measurement* wurde im Anschluss die Funktion des Bypasses geprüft. Nach gründlicher Blutstillung folgte bei stabilen hämodynamischen Verhältnissen der Thoraxverschluss.

Das Schlauch- und Reservoirsystem der HLM war mit 0,9% NaCl Lösung als Priming Lösung und einem durchschnittlichen Volumen von 1,1 L befüllt. Nach Beginn des CPBs erfolgte die Gabe von 1 M Natriumbicarbonat Lösung, dessen Volumen sich nach dem jeweiligen Bedarf, d.h. dem Ausmaß der existierenden metabolischen Azidose richtete. Damit eine ausreichende Diurese gewährleistet war, wurde in der Phase des CPBs in vielen Fällen

neben Furosemid zusätzlich auf Mannitol als osmotisches Diuretikum zurückgegriffen. Die Entscheidung der Verabreichung sowie das infundierte Volumen durch den Kardiotechniker richteten sich jeweils nach der aktuellen Diurese.

Während der gesamten intraoperativen Phase wurden Adrenalin und Noradrenalin bedarfsadaptiert über Perfusoren verabreicht sowie nach Beenden des CPBs eine Kaliumaspartat Lösung.



**Abbildung 6: Standardisierter Operationsablauf bei Bypass-Operationen.** A: Narkoseeinleitung, B: Katheteranlage (Gefäße und Blase), Entnahme initiale Urinprobe, C: Hautschnitt; Gewinnung des Graftmaterials, D: Sternotomie, E: Beginn kardiopulmonaler Bypass (CPB), F: Kardioplegie, G: Ende CPB, H: Sternumverschluss, I: Hautnaht, Entnahme der zweiten Urinprobe. I: Antibiose, II: Tranexamsäure, III: Priming Lösung der HLM, IV: Natriumbicarbonat, V: Kardioplegische Lösung, VI: Mannitol, VII: Protamin, VIII: Antibiose

### 3.1.5 Datenerhebung

In der intraoperativen Phase wurde die genaue Dauer des CPBs sowie der kardialen Ischämie dokumentiert. Die Gabe der Infusionslösungen, Natriumbicarbonat, Mannitol und Blutprodukte sowie das jeweilig verabreichte Volumen wurden ebenfalls uhrzeitlich festgehalten, sodass eine exakte Chronologie erstellt werden konnte. Die Ergebnisse der Blutgasanalyse (BGA) wurden aus dem Operationsprotokoll übernommen. Die Reste des zur Anfertigung einer BGA entnommenen Blutes wurden zum Zwecke der Plasmagewinnung bei 300 x g für 10 Minuten abzentrifugiert, aliquotiert und bei -80 °C tiefgefroren. Die Zeitpunkte der Blutgasanalysen waren nicht kontrolliert, jedoch nach klinikinterner Routine standardisiert. Nach Anlage des Blasenkatheters, welche unmittelbar der Narkoseeinleitung folgte, wurde eine Urinprobe genommen, die zur Bestimmung der Basalwerte diente. Während der Operation wurde sämtlicher Urin im Sammelgefäß des Katheters aufgefangen, aus dem bei Operationsende eine weitere Probe entnommen wurde.

### 3.1.6 Referenzwerte zur Beurteilung von Störungen des Säure-Base-Haushalts

Zur Bewertung sowohl respiratorischer als auch metabolischer Entgleisungen des Säure-Base-Haushalts wurden anerkannte Referenzwerte zugrunde gelegt (Tabelle 4).

**Tabelle 4: Referenzbereiche metabolischer und respiratorischer Parameter des Säure-Base-Haushalts.**  
Aus: [5, 82].

Parameter	Art der Blutprobe	
	Arteriell	Venös
pH-Wert	7,37 - 7,45	7,35 – 7,43
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	35 - 45	35 - 50
BE (mEq/L)	-2 – + 2	-2 – + 2
Laktat (mM)	< 2	<i>Keine Angabe</i>

pCO<sub>2</sub>= Kohlenstoffdioxidpartialdruck, BE = Base Excess

### 3.1.7 Beeinflussung des BE-Wertes durch verabreichtes Natriumbicarbonat

Der BE-Wert wird aufgrund seiner Definition durch die Verabreichung von Natriumbicarbonat beeinflusst. Zur Korrektur der nach Verabreichung gemessenen Werte wird im klinischen Alltag routinemäßig untenstehende Formel verwendet (Formel 2) [83].

$$\Delta BE (mM) = \frac{NaHCO_3^- (mmol)}{0,3 \times kg \text{ Körpergewicht}}$$

**Formel 2: Zusammenhang zwischen der verabreichten Menge Bicarbonat und der dadurch erzielten Veränderung des BE-Wertes.** Nach: [83]

Anmerkung: 1 Liter Lösung wird näherungsweise gleich einem Kilo Körpergewicht gesetzt.

### 3.1.8 Berechnung des Blutvolumens bei Menschen

Zur Berechnung des individuellen Blutvolumens werden sowohl Geschlecht, Gewicht als auch Körpergröße des Patienten berücksichtigt (Formel 3).

$$\sigma \text{ Blutvolumen (L)} = 0,3669 \times \text{Größe}^3 (m) + 0,03219 \times \text{Gewicht (kg)} + 0,6041$$

$$\varphi \text{ Blutvolumen (L)} = 0,3561 \times \text{Größe}^3 (m) + 0,03308 \times \text{Gewicht (kg)} + 0,1833$$

**Formel 3: Geschlechterspezifische Formeln zur Berechnung des Blutvolumens bei Menschen nach Nadler et al..** Aus: [84].

### 3.1.9 Berechnung des Deprotonierungsgrades des Histidin-Imidazols

Der deprotonierte Anteil des Imidazolrings wurde mit Hilfe der Henderson-Hasselbalch-Gleichung berechnet (Formel 4):

$$pH = pK_s + \log \frac{[Base]}{[Säure]}$$

**Formel 4: Henderson-Hasselbalch-Gleichung zur Berechnung der Beziehung zwischen pH-Wert und Verhältnis von Base zu Säure.**

## 3.2 Tierversuche

### 3.2.1 Chemikalien und Pharmaka

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Chemikalien und Pharmaka sind Tabelle 5 zu entnehmen.

**Tabelle 5: Auflistung verwendeter Chemikalien und Pharmaka bei der Durchführung tierexperimenteller Versuche.**

<b>Produkt</b>	<b>Hersteller</b>
Gelafundin	B. Braun, Melsungen
Isofluran	Abbott, Baar, Schweiz
Ketamin 10% als Hydrochlorid	Ceva Sante Animale, Libourne, Frankreich
NaCl Lösung 0,9%	B. Braun, Melsungen
Ringerlösung	Fresenius Kabi, Bad Homburg
Urinverdünner	Radiometer, Kopenhagen, Dänemark
Volulyte	Fresenius Kabi, Bad Homburg
Voluven	Fresenius Kabi, Bad Homburg
Xylocain 1%	Astra Zeneca, Wedel

### 3.2.2 Geräte

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Geräte sind in Tabelle 6 aufgelistet.

**Tabelle 6: Auflistung verwendeter Geräte bei der Durchführung tierexperimenteller Versuche.**

<b>Produkt</b>	<b>Hersteller</b>
Biomonitor Sirecust 1281	Siemens Medical Electronics, Danvers, USA
Blutgasanalyse-Gerät ABL 715	Radiometer, Kopenhagen, Dänemark
Chirurgische Instrumente	Fine Science Tools GmbH, Heidelberg
Druckmanschette	MediPlac, Borchten
Hämatokrit-Zentrifuge Universal 320R	Hettich, Tuttlingen
Isofluran Verdampfer Vapor 19,3	Dräger, Lübeck
Kapillarelektrophorese	Beckmann Coulter, Fullerton, USA
Kleintier OP-Tisch (beheizbar)	Medax, Olching
Matrix Anesthetic Gas Scavenger	Midmark, Orchard Park, USA
Perfusor Secura FT	B. Braun, Melsungen
pH-Elektrode	Mettler Toledo, Gießen
Spritzenpumpe Model 2010	Medfusion Inc, Raleigh, USA
Temperatursonde D-RB3	Asmuth Medizintechnik GmbH, Minden
Trajan 808 Narkosegerät	Dräger, Lübeck

### 3.2.3 Verbrauchsmaterialien

Im Rahmen dieser Arbeit sind verschiedene Verbrauchsmaterialien verwendet worden (Tabelle 7).

**Tabelle 7: Auflistung verwendeter Verbrauchsmaterialien bei der Durchführung tierexperimenteller Versuche.**

<b>Produkt</b>	<b>Hersteller</b>
1 ml-Spritze	Terumo, Eschborn
10 ml-Spritze	Terumo, Eschborn
2 ml-Spritze	Terumo, Eschborn
Aldasorber (Aktivkohlefilter)	Aldasorber, Shirley Aldred, England
Chirurgisches Nahtmaterial	Resorba, Nürnberg
Dreiwegehahn + Spülsystem (Druckdomen)	Smiths Medical International, Rossendale, UK
Druckwandler	Smiths Medical International, Rossendale, UK
Infusionsschlauch	B. Braun, Melsungen
Kanüle	Becton Dickinson, Heidelberg
Kapillare ( <i>fused silica</i> )	Beckmann Coulter, Fullerton, USA
Kationen Kit (Kapillarelektrophorese)	Beckmann Coulter, Fullerton, USA
Mikro-Hämatokrit-Kapillare (Natrium-heparinisiert) + Versiegelungskit	Brand GmbH und Co KG, Wertheim
Mini-Spike	B. Braun, Melsungen
Perfusorleitung 30 cm	B. Braun, Melsungen
Perfusorleitung 150 cm	B. Braun, Melsungen
Perfusorspritze 50 ml	B. Braun, Melsungen
Pico50 Probennehmer mit 80 IU Elektrolyt-kompensiertem Heparin	Radiometer, Bronshoj, Dänemark
Portex Polyethylen-Schlauch; 0,58 mm ID; 0,96 mm OD	Smiths Medical, Grasbrunn
Reaktionsgefäße 1,5 ml und 2,0 ml	Eppendorf, Hamburg
Venenverweilkanüle 22G	B. Braun, Melsungen

Produkt	Hersteller
Vials 2 ml	Thermo Fisher Scientific, Rockwood, USA
Vial caps (rot)	Beckmann Coulter, Fullerton, USA
Vierwegehahn	Smiths Medical, Grasbrunn
Vliesskompressen	Karl Beese GmbH, Barsbüttel
Wasser für die Chromatographie	Merck, Darmstadt
Wattestäbchen	MaiMed GmbH, Neuenkirchen

### 3.2.4 Versuchstiere

Für sämtliche Versuche wurden männliche Wistar-Ratten (WIS/WU) aus der Zucht des hauseigenen Zentralen Tierlabors des Universitätsklinikums Essen verwendet. Das Gewicht betrug zwischen 400 g und 470 g. Die Versuche wurden unter dem Aktenzeichen 84-02.04.2012.A327 (TSG-Nr.: G1314/12) vom Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz genehmigt. Haltung und Aufzucht erfolgte durch das Zentrale Tierlabor des Universitätsklinikums Essen nach geltendem Tierschutzgesetz. Für die Haltung wurden standardisierte Bedingungen gewählt (Raumtemperatur  $21\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ , Luftfeuchtigkeit  $55\% \pm 5\%$ , zwölfständiger Hell-/Dunkelrhythmus). Futter und Wasser standen den Tieren *ad libitum* zur Verfügung.

### 3.2.5 Anästhesie und Analgesie

Zunächst erfolgte die Bestimmung des jeweiligen Körpergewichts (KGW) der verwendeten Ratte. Die zu applizierende Menge des Narkotikums bzw. Analgetikums, Ketamin und Xylocain, entsprach  $0,437\text{ ml/kg KGW}$  bzw.  $0,5\text{ ml/kg KGW}$ .

Zur Anästhesie wurde ein aus 2,0% (v/v) Isofluran und reinem Sauerstoff bestehendes Gasmisch in den Narkosetopf eingeleitet. Die Fließgeschwindigkeit betrug  $4\text{ L/min}$ . Bei Erreichen des Narkosestadiums III nach Guedel [85], dem chirurgischen Toleranzstadium, erkennbar an einer verringerten Atemfrequenz bei erhöhter Atemtiefe, wurde die Ratte rücklings auf den beheizbaren, zuvor auf  $40\text{ °C}$  vorgewärmten Operationstisch gelegt. Die Nase des Tieres wurde in einer Narkosemaske platziert, über welche die Inhalationsnarkose fortgesetzt wurde. Die Fließgeschwindigkeit des Gasmisches wurde ab diesem Zeitpunkt auf  $1\text{ L/min}$  heruntergeregelt. Die Isoflurankonzentration wurde bedarfsadaptiert eingestellt und während des gesamten Versuchs zwischen 1,0% und 2,0% gehalten. Für eine zusätzliche Anästhesie bzw. Analgesie erfolgte die subcutane (s.c.) Applikation von Ketamin in die rechte Bauchseite. Xylocain als Lokalanästhetikum wurde ebenfalls s.c. unter die zu eröffnende Stelle in der Leistengegend gespritzt sowie im unteren Abdomen im Bereich der *Linea alba*. Bei den Applikationen war zur Vermeidung einer versehentlichen intravenösen Gabe eine vorherige Aspiration obligat.

Um einer Auskühlung des Tieres entgegenzuwirken, wurde es auf dem Operationstisch fixiert und in Alufolie eingewickelt. Zur versuchsbegleitenden Messung der Körpertemperatur wurde eine Temperatursonde ein bis zwei Zentimeter rektal eingeführt und ebenfalls mittels



eines Klebestreifens auf dem Operationstisch befestigt. In die Alufolie wurde an geeigneter Stelle ein Operationsfenster eingefügt.

Bevor mit der Operation begonnen wurde, erfolgte anhand des Zwischenzehreflexes ein Schmerztest. Bei Ausbleiben eines Schmerzreizes befand sich das Tier in einer ausreichend tiefen Narkose. Dieser Test wurde während der Operation regelmäßig wiederholt, um die Narkosetiefe zu überprüfen. Gegebenenfalls wurde die Narkosetiefe über die Nachregulierung der Isoflurankonzentration angeglichen.

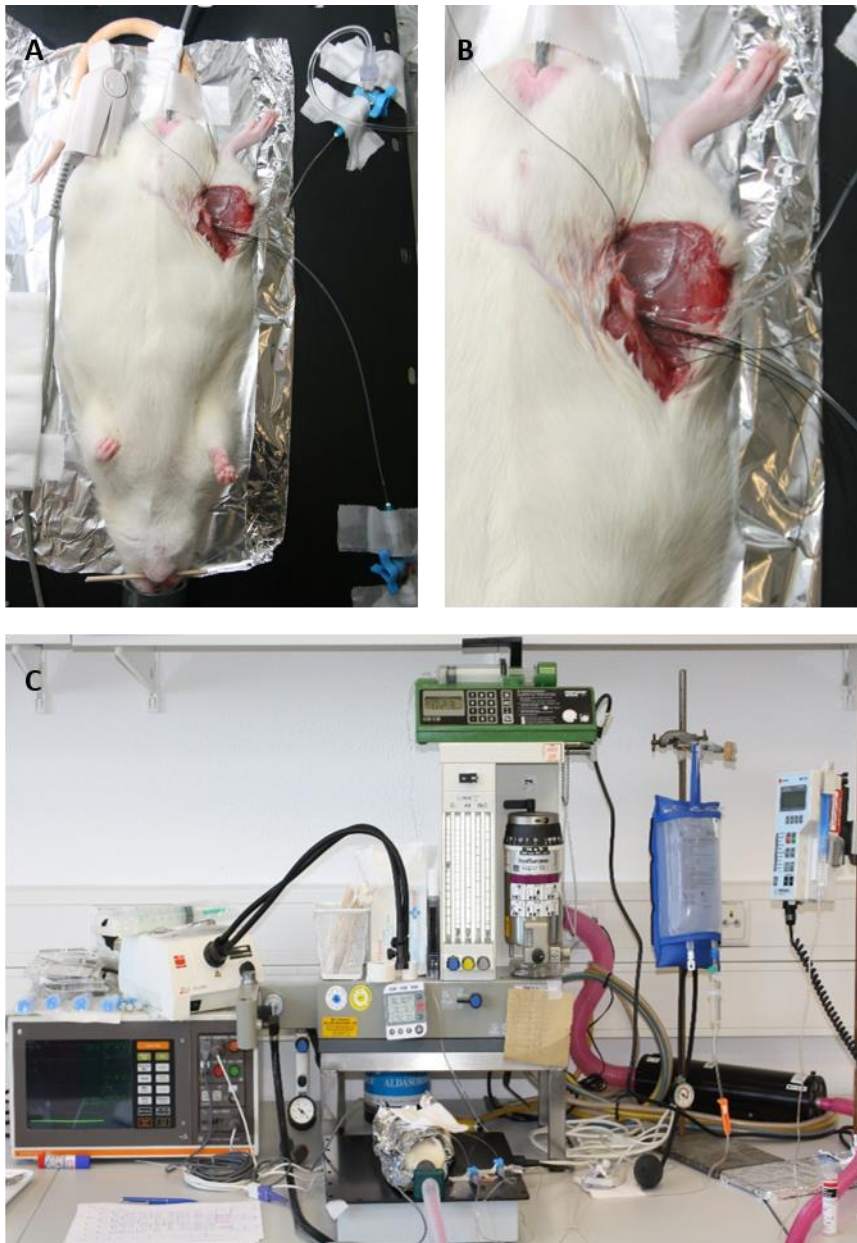
### 3.2.6 Operatives Vorgehen und Euthanasie

Nach initialem Hautschnitt in der rechten Leistengegend folgte die Durchtrennung von Haut- und Fettgewebe. Unter Sicht wurde ein weiterer Längsschnitt ausgeführt. Unter Verwendung einer Arterienklemme erfolgte eine bauchseitige Fixierung der Haut. Mit Hilfe zweier Wattetupfer wurde eine stumpfe Präparation in die Tiefe durchgeführt bis *Arteria* und *Vena femoralis* auf Höhe des *ligamentum inguinale* zu sehen waren. Die Gefäße wurden unter Zuhilfenahme von Pinzetten voneinander separiert und von dem assoziierten Nervenbündel getrennt. Abschließend fand eine Säuberung der Gefäße von anliegenden Faszien und Bindegewebe statt.

Damit das Biomonitoring zeitnah gestartet werden konnte, wurde zuerst die *Arteria femoralis* katheterisiert. Zu diesem Zwecke wurden zunächst zwei Ligaturen um das Gefäß gelegt, wobei die distale Ligatur verknotet, die proximale jedoch lediglich angeschlungen wurde. Die zwischen den Ligaturen befindliche Gefäßwand wurde an einer Stelle angeschnitten, sodass der angeschrägte Katheterschlauch eingeführt werden konnte. Mit Hilfe der angeschlungenen Ligatur wurde dieser im Gefäß fixiert. Die distale Ligatur wurde um den Katheterschlauch geknotet und sorgte so für eine parallele Führung von Katheter und Gefäß. Der mit dem Katheter über einen Druckdomen verbundene und mit Ringerlösung luftblasenfrei befüllte Perfusionschlauch erlaubte die fortlaufende Kontrolle sowohl des Blutdrucks als auch der Herzfrequenz.

Die Katheterisierung der *Vena femoralis* erfolgte nach gleichem Prinzip. Die Kompensation des Flüssigkeitsverlustes über die Operationswunde und die Atmung wurde über den venösen Zugang während des gesamten Versuchszeitraumes eine Flüssigkeitssubstitution mit 0,9% NaCl Lösung realisiert. Eine hierzu eingesetzte Perfusionsgeschwindigkeit von 5 ml/h/kg KGW sicherte einen adäquaten Ersatz.

Über den weiteren Anschluss des Vierwegehahns des venösen Katheters wurde eine zusätzliche Pumpe angeschlossen, dessen Spritze, in Abhängigkeit der Versuchsgruppe, die jeweilige kolloidale Volumenssubstitutionslösung enthielt.



**Abbildung 7: Katheterisierte Femoralgefäße bei einer Ratte (A) und (B) sowie der typische Aufbau eines Arbeitsplatzes (C).** Die Ratte liegt mit der Nase in der Narkosemaske über welche die Inhalationsnarkose fortgesetzt wird. Über das Flowmeter (hinten mittig) kann die Fließgeschwindigkeit von Sauerstoff geregelt werden. Der Verdampfer (rechts neben dem Flowmeter) erlaubt eine bedarfsadaptierte Regelung der Isoflurankonzentration im Narkosegas. Der Monitor (links) ist mit dem arteriellen Katheter verbunden, sodass Blutdruck und Herzfrequenz abgelesen werden können. Über den venösen Katheter erfolgt mittels eines Perfusors (mittig, über der Narkosegasanlage) die Basisinfusion mit 0,9% NaCl. Die Infusion der Volumensubstitutionslösung im Rahmen der normovolämischen Hämodilution wird mittels Spritzenpumpe (rechts im Bild) durchgeführt. Die Perfusorleitung wird an den verbleibenden Anschluss des Vierwegehahns angeschlossen. Der Blasenkatheter ist aufgrund einer besseren Übersicht nicht gezeigt.

Zur Katheterisierung der Blase erfolgte zunächst ein Schnitt im unteren Abdomen von etwa zwei Zentimetern Länge. Darauffolgend wurde die Blase freipräpariert, ein Venenverweilkatheter durch die Blasenwand eingeführt und mit Nahtmaterial fixiert.

Die Tötung des Tieres am Versuchsende erfolgte in tiefer Narkose bei 4% (v/v) Isofluran durch einen Herzschnitt.

### 3.2.7 Biomonitoring

Während des gesamten Versuchs wurden in der Dilutionsphase alle achtzehn Minuten sowie in der Nachbeobachtungsphase alle zehn Minuten systemische Parameter zur Beurteilung der Vitalfunktionen dokumentiert. Zu den systemischen Parametern zählten sowohl der systolische als auch der diastolische und der mittlere arterielle Blutdruck sowie die Herzfrequenz. Blutdruck und Herzfrequenz wurden über den femoralen Arterienkatheter auf den Monitor übertragen. Die Anzahl der Atemzüge wurde innerhalb eines Intervalls von fünfzehn Sekunden bestimmt.

Das Biomonitoring startete unverzüglich nach Katheterisierung der *Arteria femoralis*.

### 3.2.8 Blutgasanalyse

Aus dem während der Hämodilution mittels heparinierter Spritzen (2,0 ml Fassungsvermögen, 80 IU Heparin) abgenommenen Blut wurde zu vier verschiedenen Zeitpunkten am Blutgasanalysegerät (Radiometer ABL 715) eine BGA erstellt (3 min, 57 min, 111 min, 147 min nach Versuchsbeginn). Im Nachbeobachtungszeitraum erfolgten zur Verlaufskontrolle weitere Blutentnahmen (300 µl heparinisiertes Blut 80 IU Heparin) zu den Zeitpunkten 177 min, 207 min, 252 min, 315 min.

Zur Beurteilung des Säure-Base-Status wurden pH-Wert, BE sowie Kohlenstoffdioxidpartialdruck bestimmt. Glukose und Laktat dienten zur Beurteilung des Metabolismus. Bei den Elektrolyten wurden Natrium, Kalium und Chlorid erfasst.

### 3.2.9 Uringewinnung und Analyse

Nach Platzierung des Blasenkatheters wurde die Blase entleert. Der auf diese Weise gewonnene Urin wurde als Initialurin bezeichnet. Sowohl während der Dilutions- als auch der Nachbeobachtungsphase wurde kontinuierlich Urin gesammelt (Abbildung 8). Am Ende jedes Intervalls fand eine komplette Entleerung der Blase statt. Die erhaltenen Proben wurden sofort bei -80 °C tiefgefroren.

Der pH-Wert wurde unter Zuhilfenahme einer pH-Elektrode bestimmt. Die Elektrolyte wurden mit Hilfe des Blutgasanalysegerätes bestimmt. Hierfür wurden die Proben im Verhältnis 1:2 mit Urinverdünner (Radiometer Urine diluent) verdünnt.

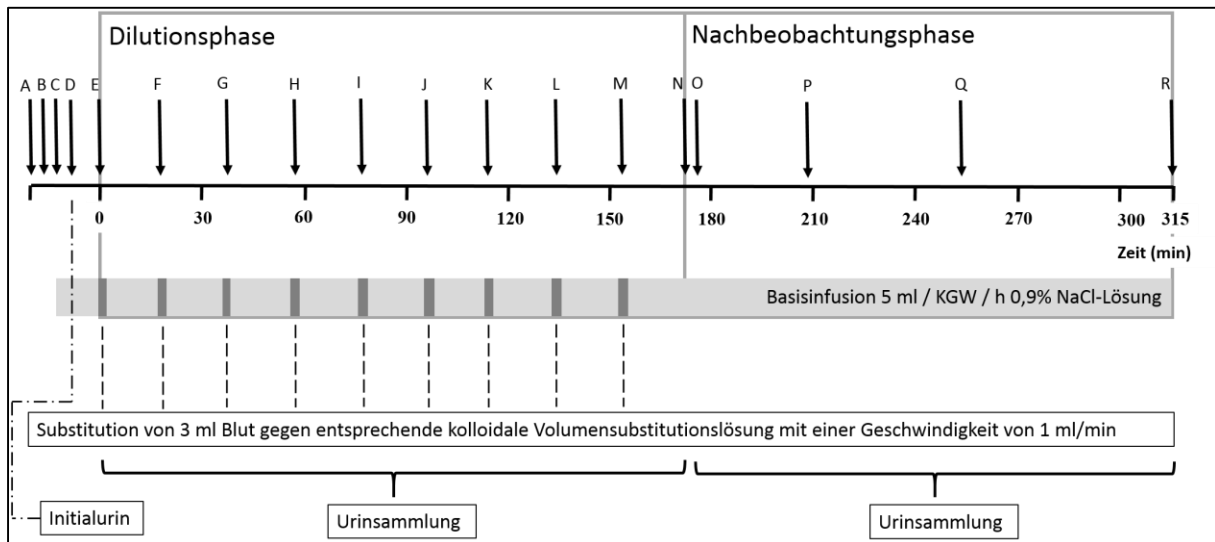
### 3.2.10 Versuchsserien

#### 3.2.10.1 Hämodilution

Das Modell der Hämodilution sieht eine Substitution von 3 ml pro Dilutionsschritt vor. In vorherigen Experimenten zeigte sich, dass zum Erreichen eines finalen Hämatokrits von  $10\% \pm 1\%$  neun Dilutionsschritte benötigt wurden. Damit der Hämatokrit exakt eingestellt werden konnte, war das zu substituierende Volumen des letzten Schrittes variabel und lag zwischen 0,3 ml und 3 ml. Nach Anlage der Katheter in die Femoralgefäße und Blase wurden die Tiere für zehn Minuten ohne weitere Eingriffe beobachtet, um Basiswerte der Vitalparameter zu erhalten.

Im Anschluss an das Basismonitoring wurde mit der Hämodilution begonnen (Abbildung 8). Vor jedem Dilutionsschritt wurden zunächst 300 µl Blut zur Bestimmung des aktuellen Hämatokrits abgenommen. Zur Hämatokrit-Bestimmung wurde eine natriumheparinisierte Kapillare bis ca. 5 mm vor dem oberen Ende mit Blut gefüllt. Ein Ende der Kapillare wurde mit einer speziellen Versiegelungsmasse verschlossen. Die zehnmünütige Zentrifugation erfolgte bei 4000 x g. Der Hämatokrit der Probe wurde mit Hilfe einer Schablone bestimmt.

Das zur Hämatokritbestimmung entnommene Volumen (300  $\mu$ l) wurde nicht simultan, sondern nach beendeter Abnahme substituiert. Anschließend erfolgte der jeweilige Hämodilutionsschritt durch Entnahme von weiteren 2,7 ml Blut (händisch) in Anlehnung an das Modell von Yang *et al.* [86] bei einer Flussrate von 1 ml/min. Simultan zu dieser Blutentnahme erfolgte die venöse Substitution der jeweiligen Volumenersatzlösung mithilfe einer Spritzenpumpe. Hierzu wurde die Dauerinfusion von 0,9% NaCl Lösung zur kontinuierlichen Flüssigkeitssubstitution kurzzeitig unterbrochen. Zwischen den einzelnen Dilutionsschritten lagen in Anlehnung an ähnliche Modelle Pausenintervalle von fünfzehn Minuten [87, 88].



**Abbildung 8: Operationsschema im Modell der normovolämischen Hämodilution.** Der Versuch gliederte sich in eine Dilutions- sowie Nachbeobachtungsphase. Pro Dilutionsschritt kam es zu einer Substitution von 3 ml Blut mit der je nach Versuchsgruppe eingesetzten kolloidalen Volumenersatzlösung bei einer Geschwindigkeit von 1 ml/min. Über den gesamten Verlauf fand eine kontinuierliche Flüssigkeitssubstitution mit 0,9% NaCl statt. A: Narkoseeinleitung, B: Katheterisierung der Arteria femoralis, C: Katheterisierung der Vena femoralis, D: Katheterisierung der Blase, E: 1. Dilutionsschritt, 1. Blutgasanalyse (BGA), F: 2. Dilutionsschritt, G: 3. Dilutionsschritt, H: 4. Dilutionsschritt, 2. BGA, I: 5. Dilutionsschritt, J: 6. Dilutionsschritt, K: 7. Dilutionsschritt, 3. BGA, L: 8. Dilutionsschritt, M: 9. Dilutionsschritt, 4. BGA, N: Bestimmung des aktuellen Hämatokrits, O: 5. BGA, P: 6. BGA, Q: 7. BGA, R: 8. BGA, Euthanasie

### 3.2.10.2 Verwendete Volumenersatzlösungen

Die in dieser Serie eingesetzten kolloidalen Volumenersatzlösungen zur normovolämischen Hämodilution variieren hinsichtlich ihrer Zusammensetzung sowohl das Kolloid als auch die Zusammensetzung der kristalloiden Trägerlösung betreffend (Tabelle 8). Gelafundin enthält Gelatinepolysuccinat, wohingegen die kolloide Komponente in Voluven und Volulyte aus HES besteht. Volulyte besitzt eine sogenannte plasmaadaptierte Trägerlösung. Sie enthält neben den Elektrolyten Natrium, Kalium, Magnesium und Chlorid als metabolisierbares Anion Acetat. Voluven und Gelafundin hingegen weisen eine NaCl-basierte Trägerlösung auf.

**Tabelle 8: Zusammensetzung verwendeter kolloidaler Volumensubstitutionslösungen im tierexperimentellen Modell der normovolämischen Hämodilution.**

	<b>Voluven</b>	<b>Volulyte</b>	<b>Gelafundin</b>
<b>Kolloidale Substanz</b>	Hydroxyethylstärke	Hydroxyethylstärke	Gelatinepolysuccinat
<b>Menge kolloidaler Substanz (g/L)</b>	60	60	40
<b>Reale Osmolalität (mOsm/kg)</b>	304	283	265
	<b>Molarität (mM)</b>		
<b>Na<sup>+</sup></b>	154	137	154
<b>K<sup>+</sup></b>	-	4,0	-
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	-	1,5	-
<b>Cl<sup>-</sup></b>	154	110	120
<b>Acetat</b>	-	34	-

Die scheinbare Anionenlücke im Falle des Gelafundins wird durch die negative Ladung des Gelatinepolysuccinats kompensiert.

### 3.2.11 Berechnung der entnommenen Bicarbonatmenge nach Henderson-Hasselbalch

Die durch die steten Blutentnahmen bedingte Entfernung von Bicarbonat wurde quantitativ nach Henderson-Hasselbalch berechnet (Formel 5). In untenstehender Formel wurde der  $pK_s$ -Wert bereits durch den systemspezifischen Wert von 6,1 ersetzt, sowie der Löslichkeitskoeffizient durch 0,03. Für die Bestimmung der aktuellen Bicarbonatkonzentration wurden der jeweils zu diesen Zeitpunkten gemessene pH-Wert sowie der Kohlenstoffdioxidpartialdruck eingesetzt.

$$pH = 6,1 + \log \frac{HCO_3^- \left( \frac{mmol}{L} \right)}{0,03 \left( \frac{mmol}{L \times mmHg} \right) \times pCO_2 (mmHg)}$$

bzw. nach Umformung

$$HCO_3^- \left( \frac{mmol}{L} \right) = (10^{(pH-6,1)}) \times 0,03 \left( \frac{mmol}{L \times mmHg} \right) \times pCO_2 (mmHg)$$

**Formel 5: Darstellung der Formel nach Henderson-Hasselbalch zur Berechnung der aktuellen Bicarbonatkonzentration.** Für den  $pK_s$ -Wert ist der spezifische Wert des Bicarbonat/Kohlensäure-Systems von 6,1 eingesetzt worden; 0,03 kennzeichnet den Löslichkeitskoeffizienten und ist eine Materialkonstante.

### 3.2.12 Berechnung des Blutvolumens bei Ratten

Das Blutvolumen wurde individuell für jedes Tier anhand der Formel nach Lee und Blaurock bestimmt (Formel 6).

$$\text{Blutvolumen (ml)} = 0,06 \times \text{Gewicht (g)} + 0,77$$

**Formel 6: Formel zur individuellen Bestimmung des Blutvolumens speziell in Ratten.** Zur Berechnung wird lediglich das Gewicht benötigt. Aus: [90]

## 3.3 Allgemeine Methoden

### 3.3.1 Quantifizierung von Gelatinepolysuccinat in Urin

Die Durchführung der Messungen mittels  $^1\text{H-NMR}$  sowie die Integration der Spektren erfolgten durch Professor Mayer vom Institut für Physikalische Chemie der Universität Duisburg-Essen. Das erhaltene Protonenspektrum wurde integriert und das Integral ( $I_x$ ) mit jenem des Referenzspektrums ( $I_n$ ; 4% Gelatinepolysuccinat) verglichen. Die Konzentration der im Urin enthaltenen Menge Gelatinepolysuccinat ( $c_x$ ) wurde ausgehend von einer Gelatinepolysuccinatkonzentration ( $c_n$ ) von 4% in der Infusionslösung laut Herstellerangabe berechnet (Formel 7). Aufgrund von Hintergrundsignalen und Schwankungen in den Basislinien wurde eine Ungenauigkeit der bestimmten Gelatinepolysuccinatkonzentration von 10% akzeptiert.

$$c_x = c_n \times \left( \frac{I_x}{I_n} \right)$$

**Formel 7: Berechnung der im Urin enthaltenen und somit ausgeschiedenen Menge Gelatinepolysuccinat.**

Zur Berechnung der Absolutwerte des ausgeschiedenen Gelatinepolysuccinats wurde das Urinvolumen der jeweiligen Probe berücksichtigt.

### 3.3.2 Quantifizierung von Ammonium in Urin

Zur quantitativen Analyse der Ammoniumionen mittels Kapillarelektrophorese (P/ACE MDQ, Beckmann Coulter) wurde das Kationen Kit der Firma ABSciex eingesetzt. Für die Elektrophorese fand eine *fused silica*-Kapillare mit einer effektiven Länge von 50 cm sowie einem Innendurchmesser von 75  $\mu\text{m}$  und einem Außendurchmesser von 375  $\mu\text{m}$  Verwendung. Vor erstmaligem Gebrauch wurde die Kapillare einmalig konditioniert (Tabelle 9).

**Tabelle 9: Ablauf der erstmaligen Konditionierung nach Einsetzen der Kapillare.**

Schritt	Beschreibung	Druck (psi)	Dauer (min)
1	Spülen mit Lithium-Conditioner	20	1
2	Warten	-	4
3	Spülen mit Lithium-Conditioner	20	0,5
4	Spülen mit Spüllösung	20	1

Nach Lagerung (auch über Nacht) wurde ein Konditionierungsschritt durchgeführt (Tabelle 10). Die zur effektiven Auftrennung der im Probengut enthaltenen Kationen eingesetzte Beschichtung besteht aus einer sogenannten dynamischen Doppelbeschichtung. Bei dieser Beschichtungsart wurde die Kapillare zunächst mit einem Polykation und im Anschluss mit einem Polyanion versehen. Resultat dieser Beschichtung war eine einheitlich negativ geladene Kapillaroberfläche, die den ohnehin bestehenden elektroosmotischen Fluss in Richtung Kathode stabilisierte. Der Vorteil besteht in schnelleren Analysezeiten.

**Tabelle 10: Ablauf der täglichen Konditionierung einer verwendeten Kapillare.**

<b>Schritt</b>	<b>Beschreibung</b>	<b>Spannung (kV)</b>	<b>Druck (psi)</b>	<b>Dauer (min)</b>
<b>1</b>	Spülen mit Natrium-Conditioner	-	20	1
<b>2</b>	Spülen mit Waschlösung	-	20	1
<b>3</b>	Spülen mit cation coating A	-	20	1
<b>4</b>	Spülen mit cation coating B	-	20	2
<b>5</b>	Spülen mit Separationspuffer	-	20	1,5
<b>6</b>	Separation	30	-	5
<b>7</b>	Spülen mit Natrium-Conditioner	-	20	0,5
<b>8</b>	Spülen mit Spüllösung	-	20	0,5

Die Ammonium-Quantifizierung erfolgte nach bestimmter Methodik (Tabelle 11).

Tabelle 11: Abfolge der zur Ammonium-Quantifizierung in Urinproben verwendeten Analyseschritte.

Schritt	Beschreibung	Spannung (kV)	Druck (psi)	Dauer (min)
1	Spülen mit cation coating A	-	20	0,5
2	Spülen mit cation coating B	-	20	0,5
3	Spülen mit Separationspuffer	-	20	1,5
4	Warten	-	-	0,2
5	Probeninjektion	-	0,5	0,08
6	Wasserinjektion	-	0,1	0,16
7	Separation	30	-	5
8	Spülen mit Natrium-Conditioner	-	20	0,5
9	Spülen mit Spüllösung	-	20	0,5

Die eingesetzten Vials mit einem Gesamtfassungsvermögen von zwei Millilitern wurden mit 1,5 ml Probenvolumen gefüllt und einem Gummistopfen verschlossen. Dieser besaß mittig zwei halbkreisartige dünne Aussparungen, sodass Kapillare und Elektroden in das Vial eintauchen konnten. Für die Analyse des Initialurins wurde eine 1:50 Verdünnung verwendet, wohingegen der Urin aus der Dilutions- und Nachbeobachtungsphase in einem Verhältnis von 1:100 verdünnt wurde. Die Verdünnung erfolgte jeweils mit Wasser für Chromatographiezwecke. Nach zwanzig Durchgängen wurden alle benötigten Reagenzien ausgetauscht und durch frische ersetzt. Das Probenvolumen wurde mittels Druckerzeugung (hydrodynamische Injektion) in die Kapillare injiziert. Die anschließende Separation wurde bei einer Spannung von 30 kV (entspricht einer Stromstärke von 33  $\mu$ A) mit normaler Polarität der Kapillare durchgeführt. Hierbei wurde eine sogenannte *ramp time* von einer Minute angewendet, d.h. die Maximalspannung von 30 kV musste innerhalb dieses Zeitintervalls erreicht sein. Zur indirekten Detektion wurde ein Photodiodenarray eingesetzt, der bei einer Wellenlänge von 200 nm detektierte.

### 3.3.3 Quantifizierung von Ammonium in Plasma

Die quantitative Bestimmung der Ammoniumkonzentration in Plasma erfolgte aufgrund der zu niedrigen Sensitivität der Kapillarelektrophorese durch das Zentrallabor des Universitätsklinikums Essen nach einer weiterentwickelten enzymatischen Methode von van Anken und Schiphorst. Hierbei katalysiert Glutamatdehydrogenase die Reaktion von Ammonium und  $\alpha$ -Ketoglutarat zu Glutamat bei gleichzeitiger Oxidation von NADPH in stöchiometrischen Anteilen, dessen Abnahme bei einer Wellenlänge von 340 nm detektiert wurde.



### 3.3.4 Quantifizierung von Phosphat in Urin

Die quantitative Bestimmung der Phosphatkonzentration in Urin erfolgte durch das Zentrallabor des Universitätsklinikums Essen. Der Nachweis besteht aus einem kolorimetrischen Test bei einer Wellenlänge von 340 nm [91]. Hierbei reagiert anorganisches Phosphat mit Ammoniummolybdat, sodass ein unreduzierter Phosphomolybdatkomplex entsteht.

### 3.3.5 Quantifizierung von Harnstoff in Urin und Plasma

Sowohl in Urin als auch in Plasma erfolgte die Bestimmung von Harnstoff mit Hilfe eines automatischen Analysegerätes (Respons 920, DiaSys Diagnostic, Holzheim). Hierzu wurden Plasmaproben 1:4 mit 0,9% NaCl verdünnt, Urinproben im Verhältnis 1:10. Das Messprinzip beruht auf einem enzymatischen Test, bei dem aus Harnstoff mittels des Enzyms Urease Ammoniumionen freigesetzt werden, welche im weiteren Verlauf mit Hilfe der Glutamatdehydrogenase und  $\alpha$ -Ketoglutarat unter NADH-Verbrauch zu Glutamat umgesetzt werden. Bei einer Wellenlänge von 340 nm wurde die Abnahme der NADH-Konzentration bestimmt.

### 3.3.6 Quantifizierung von Aminosäuren in Urin und Plasma

Die Durchführung der quantitativen Aminosäurebestimmung mittels *high performance liquid chromatography* (HPLC) erfolgte durch Frau Miriam Petersen und Herrn Markus Mallek von der Überörtlichen Berufsausübungsgemeinschaft MVZ Dr. Eberhardt und Partner, Dortmund.

Zur Enteiweißung wurden zunächst 300  $\mu$ l Probe mit 75  $\mu$ l 10%iger Sulfosalicylsäure versetzt und gründlich durchmischt. Die anschließende Zentrifugation erfolgte bei 12000 U/min für fünf Minuten. Von dem erhaltenen Überstand wurden 200  $\mu$ l zu 200  $\mu$ l Probenverdünnungspuffer gegeben. Nach gründlichem Durchmischen erfolgte die Injektion von 50  $\mu$ l in das Analysesystem (HPLC, biochrom 30+, biochrom, Cambridge, UK). Mittels Kationenaustauscher erfolgte in einem ersten Schritt die Trennung der Aminosäuren durch die Verwendung verschiedener citrathaltiger Laufpuffer mit sich ändernden pH-Werten und Molaritäten bei einer Geschwindigkeit von 0,25 ml/min. In einem zweiten Schritt reagierte die Amino-Gruppe mit Ninhydrin. Der sich bildende farbige Komplex wird bei einer Wellenlänge von 570 nm (primäre Aminosäuren) bzw. 440 nm (sekundäre Aminosäuren) detektiert. Die Farbintensität korreliert mit der Konzentration und wird mit Hilfe eines Standards quantifiziert. Plasma- und Urinproben wurden in gleicher Weise behandelt.

### 3.3.7 Software

Im Rahmen dieser Arbeit wurde verschiedene Software benutzt (Tabelle 12).

**Tabelle 12: Auflistung verwendeter Software.**

Bezeichnung	Hersteller
32 Karat Software 8.0	Beckmann Coulter, Fullerton, USA
Excel	Microsoft, Redmond, USA
XL STAT	Addinsoft, Wittenhausen

### 3.3.8 Statistik

Die Messwerte wurden auf Normalverteilung geprüft. Sofern keine Normalverteilung vorlag wurden sie als Median dargestellt, da dieser gegenüber dem Mittelwert als robuster gilt.

Die Entscheidung zur Verwendung von Standardabweichung bzw. Standardfehler wurde auf Basis allgemein akzeptierter Kriterien getroffen [92]. In der Tierstudie wurde bei der graphischen Darstellung der Mittelwerte der Standardfehler (SEM) als Fehlerindikator verwendet, da die biologische Variabilität der Tiere sowohl aufgrund der standardisierten Zucht als auch der vereinheitlichten Haltungsbedingungen und des uniformen Versuchsdesigns sehr gering war. In der Humanstudie wurde aufgrund der größeren biologischen Variabilität des untersuchten Kollektivs die Standardabweichung als Fehlerindikator verwendet, um ein Maß für die reale Streubreite der Messwerte zu bekommen.

Mit Hilfe des Statistikprogramms XL STAT wurden die Messwerte nach dem Test auf Ausreißer auf Signifikanz getestet. Der Test auf Signifikanz erfolgte mittels ANOVA mit anschließendem Fisher-Test. Das Konfidenzintervall betrug mindestens 95%. Signifikante ( $p < 0,05$ ) Ergebnisse wurden mit \* bzw. # gekennzeichnet, hoch signifikante ( $p < 0,01$ ) Ergebnisse mit \*\* bzw. ## und stark signifikante ( $p < 0,001$ ) mit \*\*\* bzw. ###.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Klinische Beobachtungsstudie

Für die Fragestellung der Dilutionsazidose konnten 25 Patienten ausgewertet werden bzw. für jene der Aminosäureanalyse 29 Patienten. Beide Kollektive zeigten sehr ähnliche patientenindividuelle Merkmale sowie CPB- als auch Cross-Clamp Zeiten (Tabelle 13).

**Tabelle 13: Merkmale der ausgewerteten Bypass-Patienten.**

Variable	Median (25% und 75% Quartile)	
	Dilutionsazidose (n=25)	Aminosäureanalyse (n=29)
<b>Männliches Geschlecht (%)</b>	76	76
<b>Alter (Jahre)</b>	71 (60; 76)	71 (60; 76)
<b>Größe (cm)</b>	173 (168; 180)	173 (168; 179)
<b>Gewicht (kg)</b>	88 (79; 92)	84 (77; 90)
<b>Körperoberfläche (m<sup>2</sup>)</b>	2,0 (1,9; 2,1)	2,0 (1,9; 2,1)
<b>Body Mass Index</b>	28,2 (26,0; 32,3)	27,5 (25,7; 31,2)
<b>Anzahl der Grafts</b>	3	3
<b>Kardiopulmonale Bypass Zeit (min)</b>	84 (71; 118)	85,5 (73; 110)
<b>Cross-Clamp Zeit (min)</b>	53 (40; 65)	53 (42; 64)

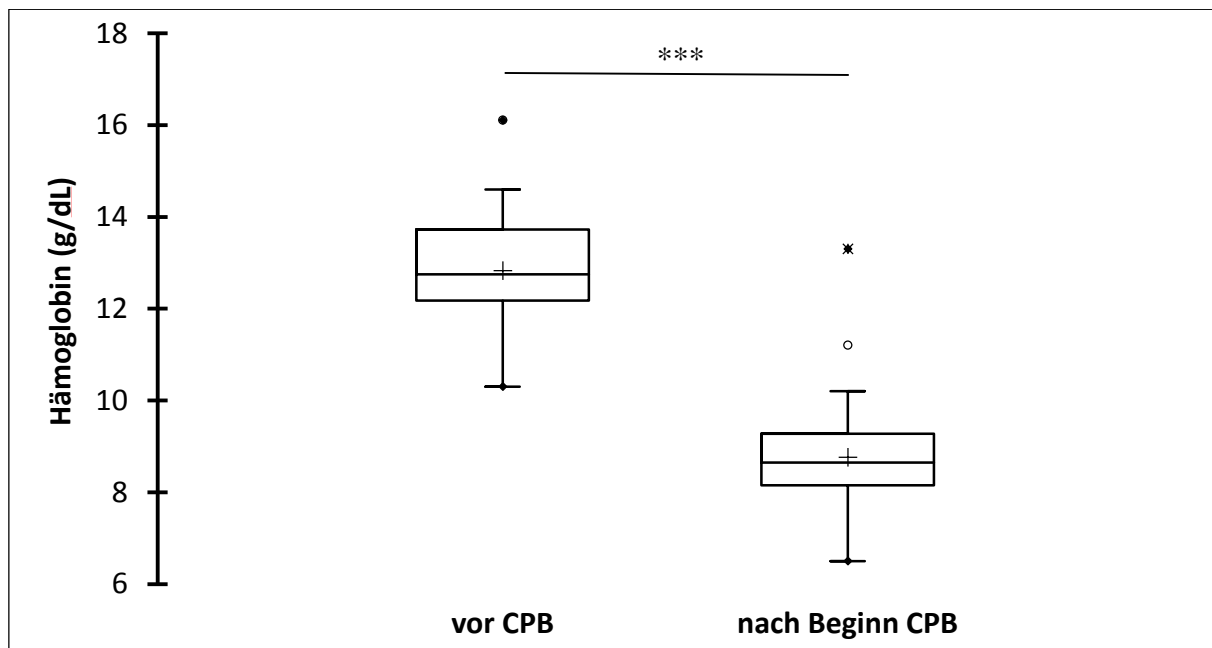
Die im Mittel intraoperativ verabreichten Volumina von sowohl der Priming als auch der kardioplegischen Lösung betragen bei beiden Patientenkollektiven 1,1 L bzw. 1,6 L (Tabelle 14). Die verabreichte Menge Bicarbonat lag bei dem Kollektiv zur Untersuchung der Dilutionsazidose im Mittel bei 102 mmol, bei dem Kollektiv zur Aminosäureanalyse im Mittel bei 108 mmol.

**Tabelle 14:** Im Rahmen der Bypass-Operation verabreichte Volumina von Priming als auch kardioplegischer Lösung sowie Natriumbicarbonat zur Antagonisierung der akuten metabolischen Azidose.

Variable	Mittelwert $\pm$ Standardabweichung	
	Dilutionsazidose (n=25)	Aminosäureanalyse (n=29)
Volumen Priming Lösung (L)	1,1 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1
Volumen kardioplegische Lösung (L)	1,6 $\pm$ 0,2	1,6 $\pm$ 0,2
Menge verabreichten Bicarbonats (mmol)	102 $\pm$ 31	108 $\pm$ 48

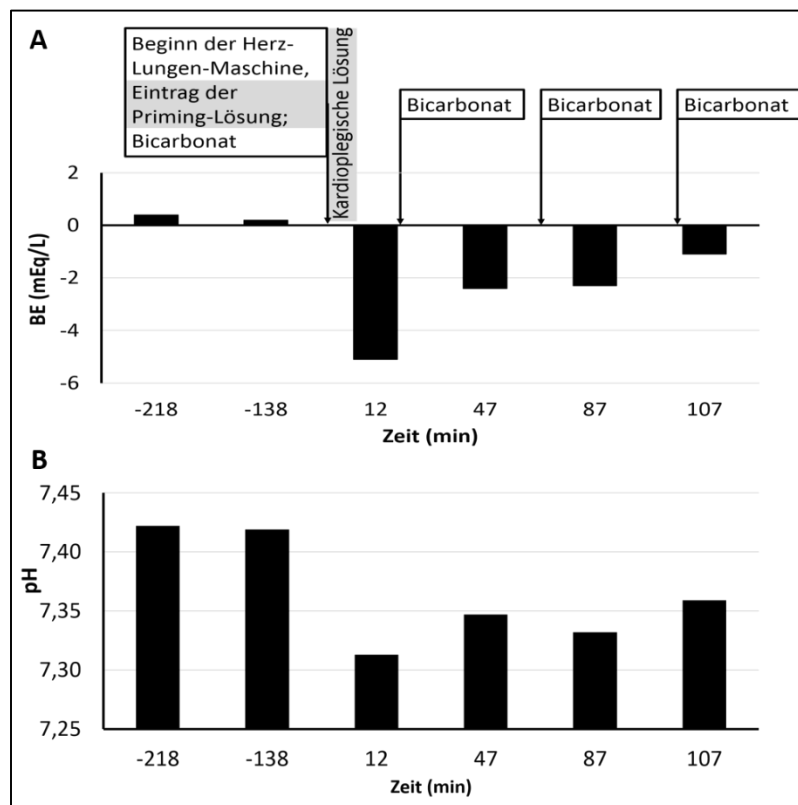
#### 4.1.1 Dilutionsazidose

Vor Beginn des CPBs lag die durchschnittliche intravasale Hämoglobinkonzentration bei 12,8 g/dL, nach Beginn sank sie auf 8,8 g/dL (Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Intravasale intraoperative Hämoglobinkonzentration der Bypass-Patienten. Der erste dargestellte Messzeitpunkt stammt aus der letzten BGA vor Beginn des kardiopulmonalen Bypasses (CPB), der zweite aus der ersten BGA während CPBs. \*\*\* p < 0,001.

Vor Beginn des CPBs lag der Mittelwert des pH-Wertes bei 7,41 und somit nahe am physiologischen Normwert (Abbildung 10 B, Abbildung 11 A). Nach Beginn des CPBs fiel der Wert innerhalb der ersten zwanzig Minuten signifikant auf durchschnittlich 7,33. In der verbleibenden Zeit des CPBs erholte er sich und stieg auf 7,38. Der BE lag vor Beginn des CPBs im Mittel bei 0,5 mEq/L und damit im physiologischen Referenzbereich (Abbildung 10 A, Abbildung 11 B). Innerhalb der ersten zwanzig Minuten des CPBs nahm der Wert signifikant ab und erreichte einen Durchschnittswert von -3,3 mEq/L. Bis zum Ende des CPBs stieg der BE auf einen Wert von -0,5 mEq/L an. Der Kohlenstoffdioxidpartialdruck blieb während der gesamten Zeit annähernd konstant mit Werten um den physiologischen Standardwert von 40 mmHg (39,3 mmHg vor CPB, 41,7 mmHg während der ersten zwanzig Minuten des CPBs und 40,4 mmHg in der restlichen Phase des CPBs; Abbildung 11 C). Der Mittelwert der plasmatischen Laktatkonzentration betrug 0,9 mM vor Beginn des CPBs, 1,0 mM während der ersten zwanzig Minuten nach Beginn des CPBs und 1,3 mM in der restlichen Zeit des CPBs (Abbildung 11 D).



**Abbildung 10: Veränderungen im (A) BE und (B) pH-Wert eines repräsentativen Patienten von Operationsbeginn bis Ende des kardiopulmonalen Bypasses.** Mit Inbetriebnahme der Herz-Lungen-Maschine zum Zeitpunkt Null erhielt der Patient das Priming Volumen von 1,1 L 0,9% NaCl Lösung. Anschließend wurden dem Patienten 1,8 L kardioplegische Lösung (Custodiol) zum kardioplegischen Arrest verabreicht. Zur Antagonisierung der Dilutionsazidose wurden der Priming Lösung 50 mmol Bicarbonat in Form von Natriumbicarbonat Lösung zugesetzt und in dem betrachteten Zeitraum drei weitere Male verabreicht (40 mmol, 20 mmol bzw. 30 mmol).

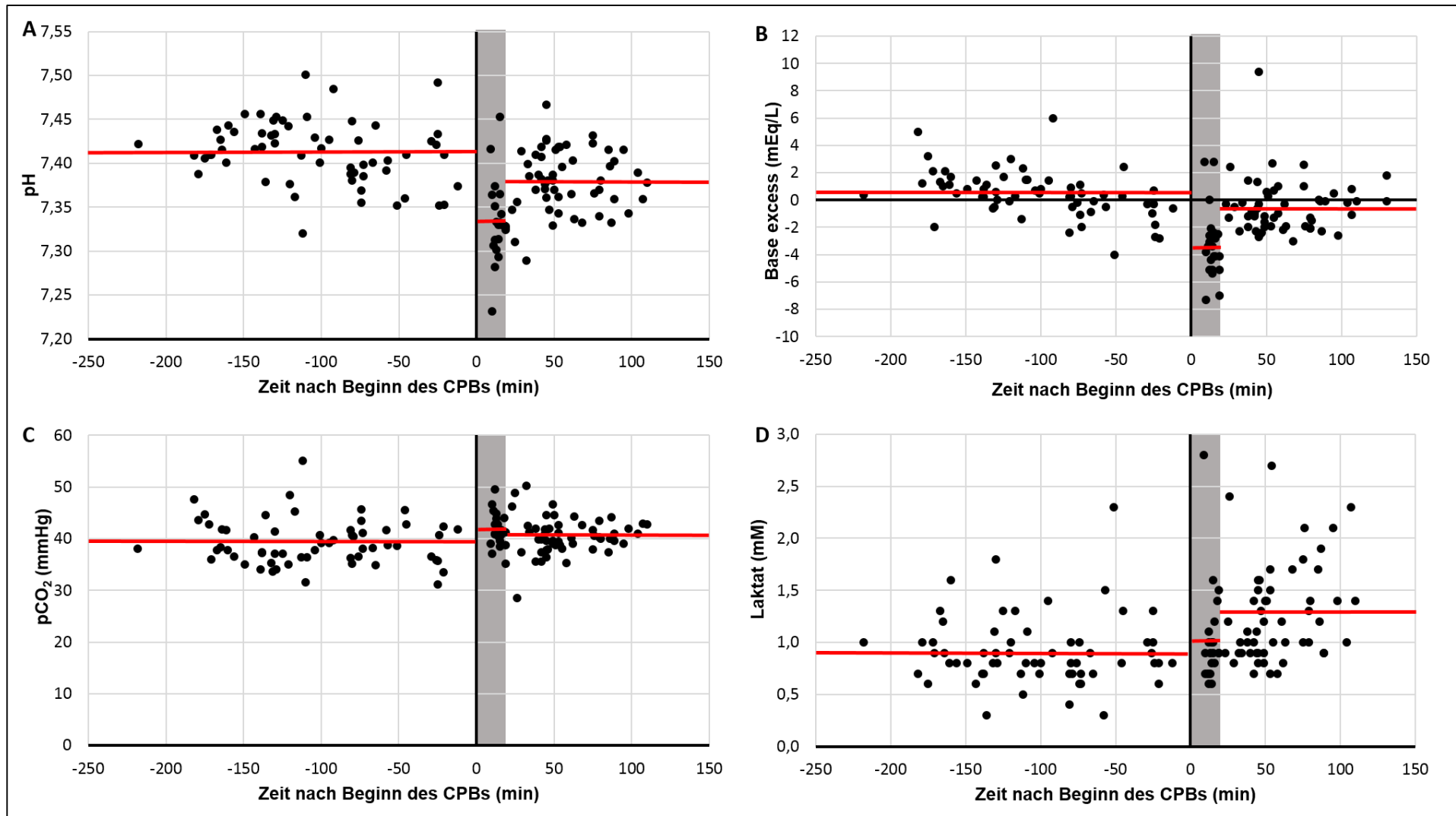
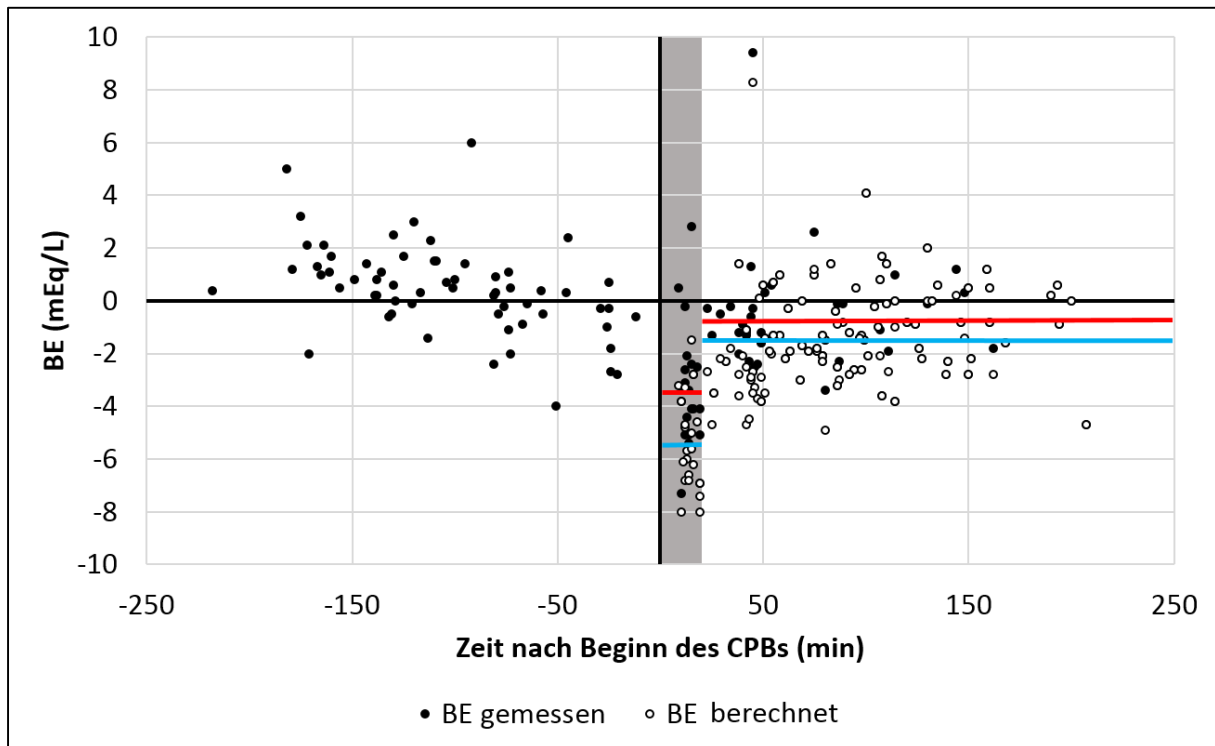


Abbildung 11: Veränderungen in Parametern des Säure-Base-Haushalts sowie Laktat vor und nach Beginn des CPBs: (A) pH-Wert, (B) Base Excess, (C) Kohlenstoffdioxidpartialdruck, (D) Laktatkonzentration. Der Zeitpunkt 0 kennzeichnet den Beginn des CPBs. Die Phase des CPBs ist in zwei Intervalle unterteilt: 0-20 Minuten (hinterlegt in grau) und die restliche Zeit während CPBs. Die roten Linien repräsentieren den Mittelwert im jeweiligen Intervall.

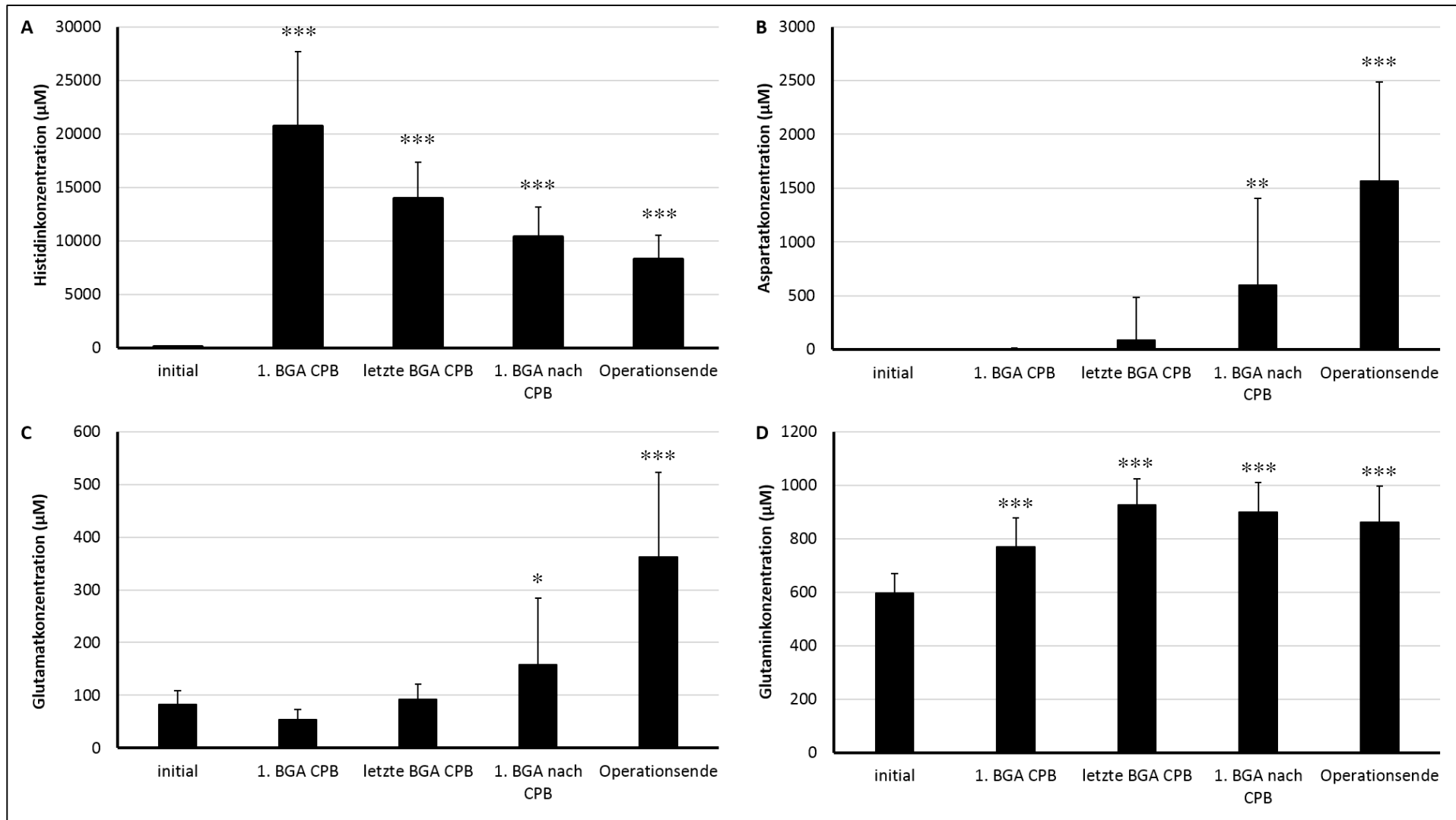
Während der ersten zwanzig Minuten des CPBs erhielten die Patienten je nach Ausmaß der metabolischen Azidose im Durchschnitt 54 mmol Bicarbonat; in der restlichen Zeit des CPBs im Mittel weitere 41 mmol. Daher müssen die intraoperativen BE-Werte um die jeweilige zuvor verabreichte Absolutmenge Basenäquivalente in Form von Natriumbicarbonat korrigiert werden (Formel 2, Abbildung 12). Während der ersten zwanzig Minuten des CPBs lag der gemessene Mittelwert bei  $-3,3$  mEq/L, wohingegen sich bei Berechnung ein Wert von  $-5,6$  mEq/L ergibt. Für das Intervall zwanzig Minuten nach Beginn des CPBs bis Operationsende betrug der Mittelwert der gemessenen Werte  $-0,8$  mEq/L, wohingegen der Mittelwert der korrigierten Werte bei  $-2,1$  mEq/L lag.



**Abbildung 12: Intraoperativer Verlauf der BE-Werte mit und ohne Einbeziehung des verabreichten Volumens an Natriumbicarbonat.** Offene Symbole kennzeichnen berechnete Werte, geschlossene Symbole gemessene. Blaue Linien repräsentieren den Mittelwert der berechneten Werte, rote Linien jene der gemessenen. Der graue Kasten kennzeichnet die ersten 20 min nach Beginn des kardiopulmonalen Bypasses (CPB). Aufgrund der Entwicklung einer metabolischen Azidose wurde bedarfsadaptiert Natriumbicarbonat Lösung verabreicht. Die auf diese Weise verabreichte absolute Menge an Basenäquivalenten kann in den BE umgewandelt und somit mit den tatsächlich gemessenen Werten verrechnet werden. Im Gegensatz zu Abbildung 11 zeigt Abbildung 12 die Werte nicht nur bis Ende des CPBs, sondern über die gesamte intraoperative Dauer.

#### 4.1.2 Aminosäuren

Nach Induktion des kardioplegischen Arrests nahm die plasmatische Histidinkonzentration von einem Initialwert von  $71 \mu\text{M}$  auf  $21000 \mu\text{M}$  zu (Abbildung 13 A). Im weiteren Verlauf nahm sie stetig ab, sodass sie bei Operationsende bei  $8000 \mu\text{M}$  lag. Die Aspartatkonzentration stieg von einem Basiswert von  $5 \mu\text{M}$  auf  $1600 \mu\text{M}$  bei Operationsende an (Abbildung 13 B). Im gleichen Intervall nahm die Glutamatkonzentration im Plasma von  $23 \mu\text{M}$  auf  $360 \mu\text{M}$  zu (Abbildung 13 C). Die plasmatischen Konzentrationen von Glutamin, Asparagin, Glycin, Alanin, und Serin unterlagen einer moderaten Erhöhung von  $596 \mu\text{M}$ ,  $38 \mu\text{M}$ ,  $214 \mu\text{M}$ ,  $318 \mu\text{M}$  bzw.  $108 \mu\text{M}$  auf  $862 \mu\text{M}$ ,  $65 \mu\text{M}$ ,  $325 \mu\text{M}$ ,  $807 \mu\text{M}$  bzw.  $174 \mu\text{M}$  (Abbildung 13 D, Abbildung 14 A-D). Arginin, Leucin, Lysin, Methionin, Ornithin, Phenylalanin, Prolin, Tyrosin sowie Valin unterlagen im Plasma einer nur geringfügigen Änderung; die Konzentrationen blieben in den jeweiligen Referenzbereichen (Daten nicht gezeigt).



**Abbildung 13: Intraoperativer Verlauf der plasmatischen Konzentration von (A) Histidin, (B) Aspartat, (C) Glutamat und (D) Glutamin.** \*  $p < 0,05$  verglichen mit dem initialen Wert, \*\*  $p < 0,01$  verglichen mit dem initialen Wert, \*\*\*  $p < 0,001$  verglichen mit dem initialen Wert.



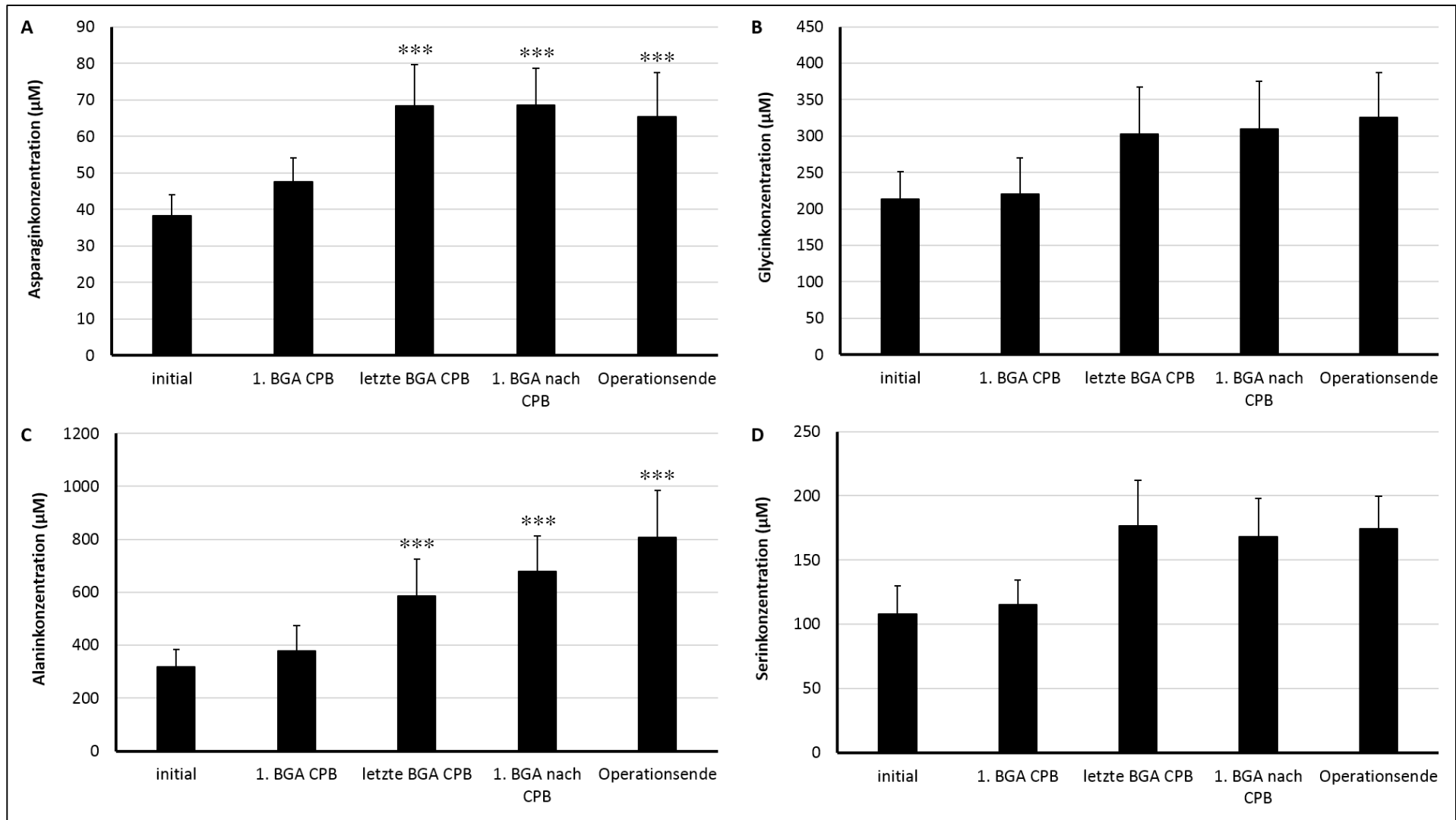


Abbildung 14: Intraoperativer Verlauf der plasmatischen Konzentration von (A) Asparagin, (B) Glycin, (C) Alanin und (D) Serin. \*\*\*  $p < 0,001$  verglichen mit dem initialen Wert.

Die Ausscheidung von Histidin nahm von einem Ausgangswert von 47  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin hoch signifikant auf 6760  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin innerhalb der intraoperativen Phase zu (Abbildung 15 A). Dies entspricht durchschnittlich 19,5 mmol und demzufolge knapp 7% der inkorporierten Menge (300 mmol, Tabelle 15). Im selben Intervall stieg die ausgeschiedene Menge Glutamat von 1  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin auf 126  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin, die des Glutamins von 33  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin auf 150  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin (Abbildung 15 C und D). Aspartat, Asparagin, Glycin, Alanin und Serin unterlagen ebenfalls einer gesteigerten Ausscheidung (von 1,4  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin, 6,0  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin, 80  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin, 17  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin bzw. 23  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin auf 2,2  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin, 29  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin, 102  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin, 66  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin bzw. 65  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin; Abbildung 15 B, Abbildung 16 A-D). Diese zuletzt genannten Aminosäuren blieben jedoch im jeweiligen Referenzbereich. Die ausgeschiedenen Mengen von Carnosin, 1-Methylhistidin als auch 3-Methylhistidin unterlagen nur geringen Änderungen und blieben ebenso im jeweiligen Referenzintervall (Daten nicht gezeigt).

**Tabelle 15: Gemessene Histidinkonzentrationen in postoperativen Urinproben der Patienten zur Bestimmung der absolut ausgeschiedenen Histidinmenge.**

Patient	Histidinkonzentration (mM)	Urinvolumen (L)	Absolute Histidinmenge (mmol)
1	9,2	0,97	8,9
3	12,3	2,13	26,2
4	13,9	1,25	17,4
5	12,5	1,80	22,5
6	7,0	1,75	12,3
9	11,9	2,25	26,8
10	6,8	2,75	18,7
12	3,9	1,55	6,0
13	9,5	0,80	7,6
14	8,7	1,95	17,0
15	7,8	1,97	15,4
16	13,9	1,75	24,3
17	9,7	1,05	10,2
18	9,5	1,40	13,3

Patient	Histidinkonzentration (mM)	Urinvolumen (L)	Absolute Histidinmenge (mmol)
19	10,4	1,15	12,0
20	12,4	1,65	20,5
21	9,4	3,90	36,7
22	13,7	3,95	<i>54,1</i>
23	7,0	0,80	5,6
24	-	0,25	-
25	7,8	1,45	11,3
26	12,9	2,30	29,7
27	12,4	3,40	42,2
28	11,7	0,65	7,6
29	9,3	2,30	21,4
30	15,1	1,60	24,2
31	12,3	2,45	30,1
32	12,3	1,60	19,7
33	16,4	2,35	38,5
<b>Mittelwert</b>	<b>10,7</b>	<b>1,89</b>	<b>19,5</b>

Zur Berechnung wurde das jeweils intraoperativ ausgeschiedene Urinvolumen berücksichtigt. Der kursiv gedruckte Wert stellt einen Ausreißer dar und wird bei der Mittelwertberechnung nicht berücksichtigt. Das gesammelte Urinvolumen bei Patient 24 war zu gering, als dass eine Aminosäurequantifizierung möglich gewesen wäre. Die Berechnung des Mittelwertes der ausgeschiedenen Absolutmenge Histidin erfolgte aus den Einzelwerten.

Die renal ausgeschiedene Menge von 19,5 mmol Histidin beträgt 6,5% der verabreichten Menge von etwa 300 mmol.

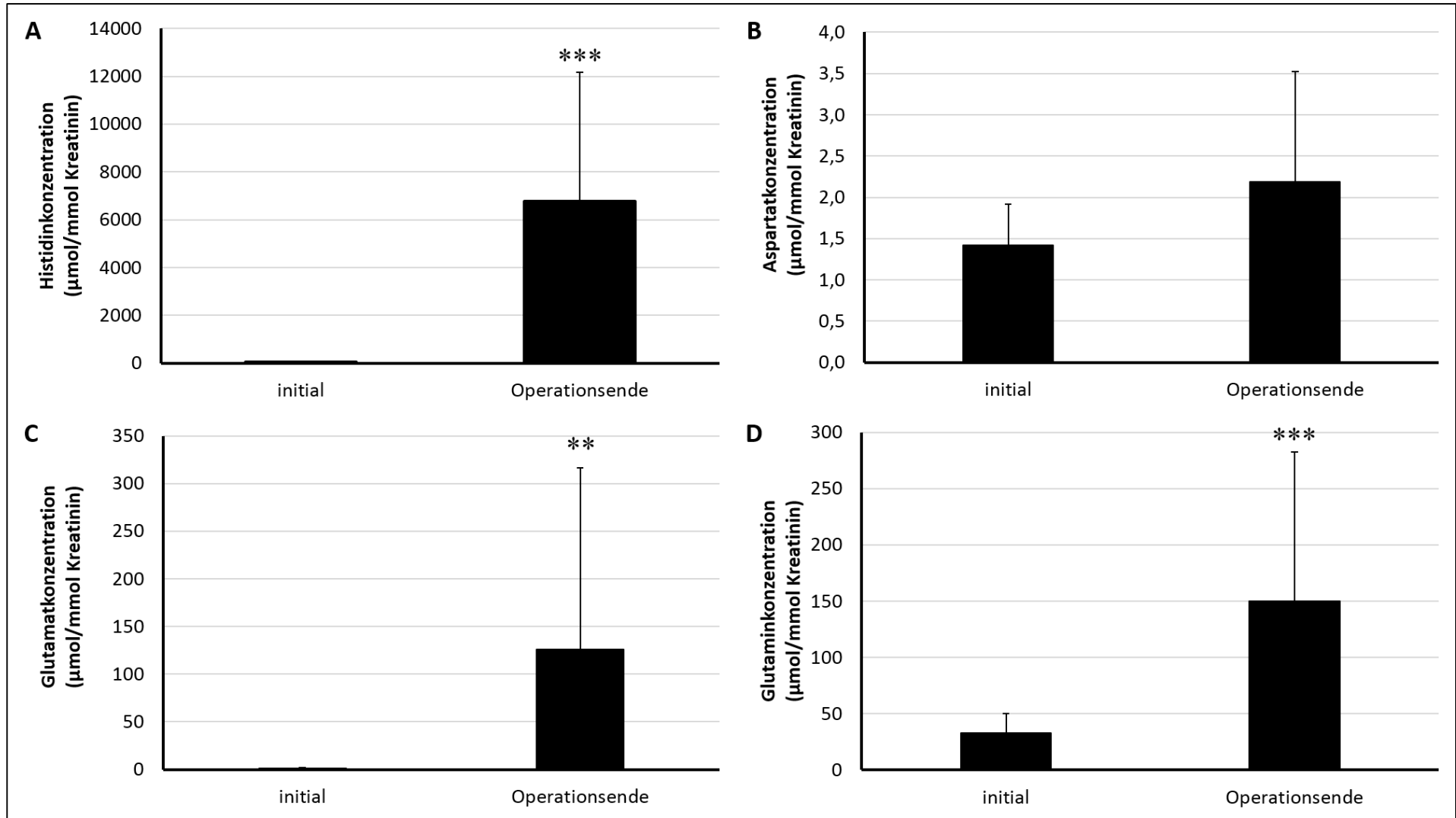


Abbildung 15: Verlauf der renal ausgeschiedenen Menge von (A) Histidin, (B) Aspartat, (C) Glutamat und (D) Glutamin während der intraoperativen Phase. \*\*  $p < 0,01$  verglichen mit dem initialen Wert, \*\*\*  $p < 0,001$  verglichen mit dem initialen Wert.

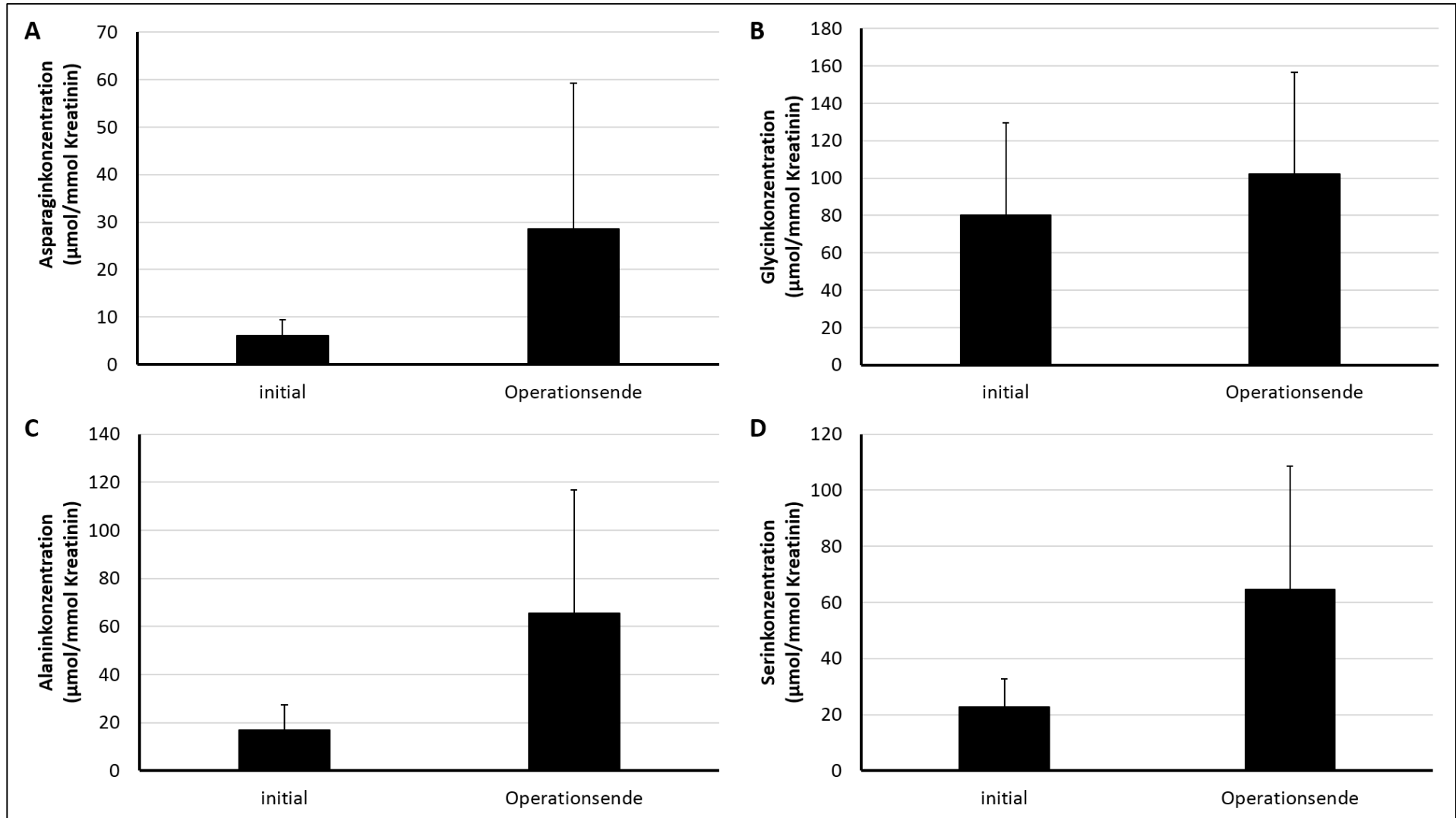


Abbildung 16 : Verlauf der renal ausgeschiedenen Menge von (A) Asparagin, (B) Glycin, (C) Alanin und (D) Serin während der intraoperativen Phase.

### 4.1.3 Deprotonierung des Histidin-Imidazolrings

Die im Rahmen der Kardioplegie verabreichte Lösung (Custodiol, Histidinkonzentration von 198 mM) gelangte mit einer Temperatur von 4 °C in den systemischen Kreislauf, woraufhin sie auf 36 °C erwärmt wurde. Aufgrund der Temperatursensitivität des  $pK_s$ -Wertes des Imidazolrings des Histidins bedingte die Erwärmung eine vermehrte Deprotonierung. Anhand der Henderson-Hasselbalch-Gleichung ließ sich der prozentuale deprotonierte Anteil berechnen (Formel 4, Tabelle 16). Dieser Anteil lag bei der Lagerungs- und Verabreichungstemperatur der kardioplegischen Lösung, einem pH-Wert der Lösung von 7,37 und einer Histidinkonzentration von 198 mM bei 87,9%. Das Einbringen in den systemischen Kreislauf hatte neben der Erwärmung auf Körpertemperatur ebenso eine Absenkung der Histidinkonzentration auf 33 mM zur Folge, welche sich unter Berücksichtigung des Blutvolumens, des Volumens der Priming als auch der kardioplegischen Lösung sowie des im Rahmen der Infusionstherapie verabreichten Volumens ergab. Der pH-Wert des Plasmas betrug zu diesem Zeitpunkt im Mittel 7,33 (Abbildung 11). Somit machte der Deprotonierungsgrad für die beschriebene Konstellation 96,3% aus. Die Differenz der beiden Anteile von 8,4% beschrieb demnach die Zunahme der Deprotonierung infolge der Erwärmung.

**Tabelle 16: Prozentualer Anteil deprotonierter Imidazolringe des Histidins an der Gesamtmenge.**

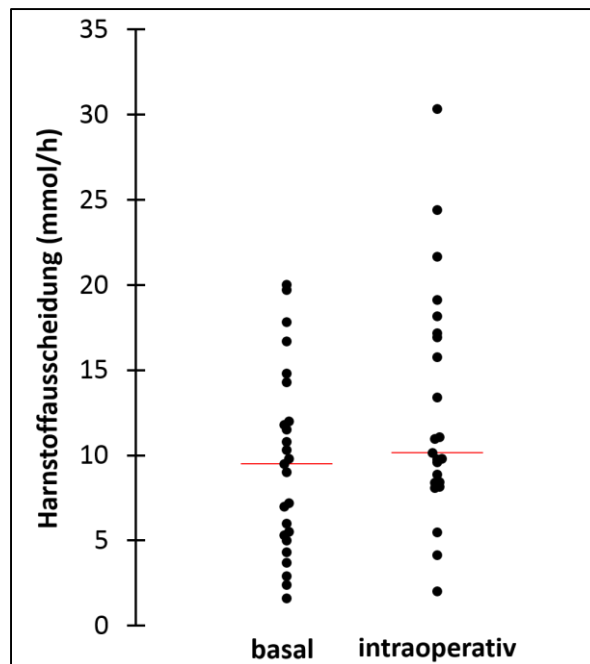
Temperatur (°C)	$pK_s$ -Wert Imidazolring	pH-Wert der Umgebung	Histidinkonzentration (mM)	Anteil deprotonierter Imidazolringe (%)
4	6,51	7,37	198	87,9
36	5,92	7,33	33	96,3

Die Kalkulation erfolgte mittels Henderson-Hasselbalch-Gleichung und den aufgeführten Werten der Parameter Temperatur,  $pK_s$ -Wert des Imidazolrings bei entsprechender Temperatur, pH-Wert der Umgebung sowie vorliegender Histidinkonzentration. Die endogene Histidinkonzentration von etwa 70  $\mu$ M wurde bei den Berechnungen nicht berücksichtigt, da sie im Vergleich zur infundierten Menge vernachlässigbar klein war.

Bei einem Eintrag von etwa 1,6 L kardioplegischer Lösung mit einer Histidinkonzentration von 198 mM betrug die Histidinaufnahme ungefähr 300 mmol. Werden 8,4% dieser Menge im Zuge der Erwärmung deprotoniert, so ergibt sich ein Wert von etwa 27 mmol freigesetzter Protonen.

### 4.1.4 Stickstoffhaltige Stoffwechselprodukte

Während der Operation nahm die Harnstoffausscheidung von einer Basalrate von 9,5 mmol/h auf 10,1 mmol/h zu (Abbildung 17). Dies entsprach im intraoperativen Intervall einer zusätzlich ausgeschiedenen Menge von 3 mmol Harnstoff (Median). Das Ausmaß des Anstiegs bei der Harnstoffausscheidung unterschied sich innerhalb des Patientenkollektivs teils stark und führte zu fluktuierenden Werten zwischen 2 mmol/h und 30 mmol/h.

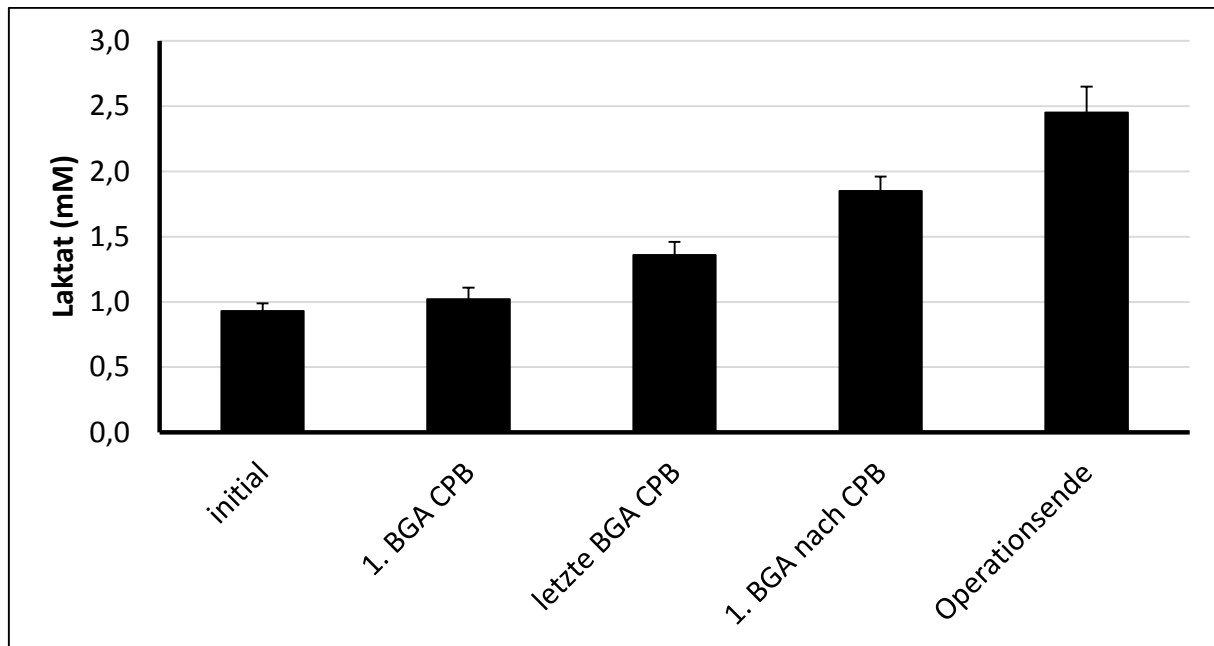


**Abbildung 17:** Absolut ausgeschiedene Menge von Harnstoff sowohl unter Basiskonditionen als auch in der intraoperativen Phase.

Die Harnstoffkonzentration im Plasma betrug sowohl vor Operationsbeginn als auch intraoperativ relativ konstant 30 mg/dL (Median, entsprechend etwa 5 mM). Initial lag die Ammoniumkonzentration im Plasma bei 67 µg/dL. Während der Operation nahm sie im Mittel leicht auf Werte bis zu 90 µg/dL (entsprechend etwa 50 µM) zu.

#### 4.1.5 Laktatazidose

Bei Operationsbeginn lag die plasmatische Laktatkonzentration im Durchschnitt bei 0,9 mM (Abbildung 18). Die erste BGA während des CPBs zeigte einen durchschnittlichen Wert von 1,0 mM. Bis zum Ende des CPBs stieg die Konzentration auf 1,4 mM an. Dieser Anstieg setzte sich nach Beenden des CPBs fort; der Mittelwert betrug 1,9 mM. Bei Operationsende lag die Laktatkonzentration im Mittel bei 2,5 mM.

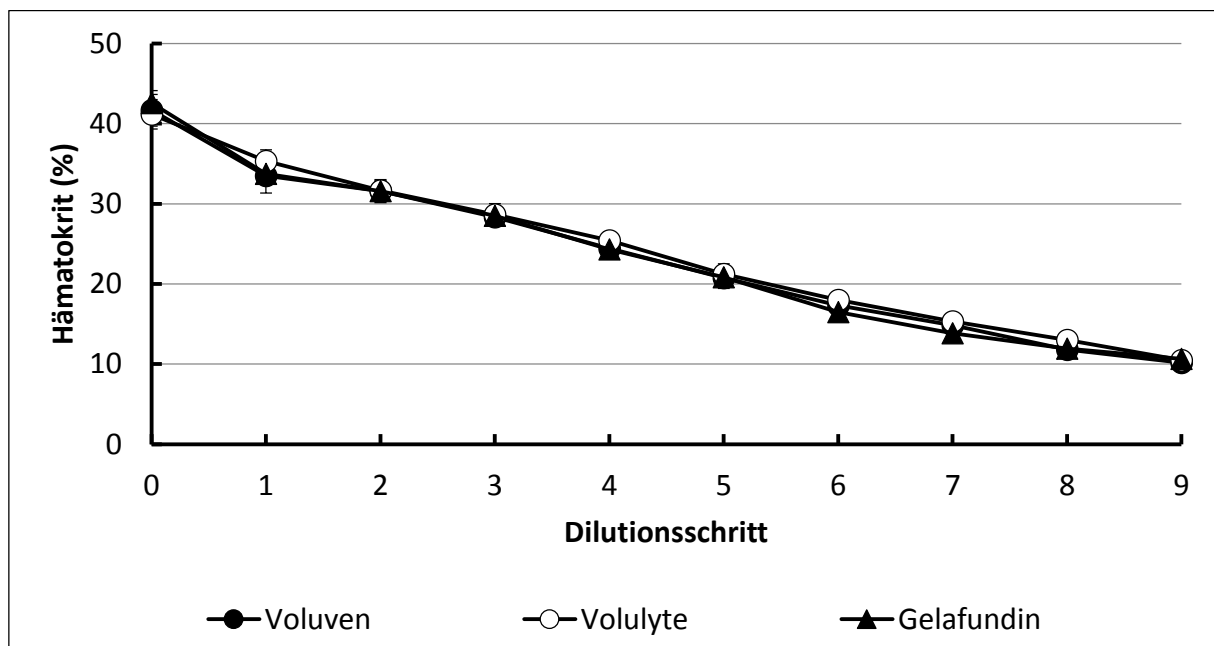


**Abbildung 18: Intraoperativer Verlauf der plasmatischen Laktatkonzentration.** Die erste Blutgasanalyse wurde bei OP-Beginn angefertigt, die zweite nach Beginn des kardiopulmonalen Bypasses (CPBs), die dritte am Ende des CPBs, die vierte nach CPB und die fünfte kurz vor Operationsende.

## 4.2 Tierversuche

### 4.2.1 Hämatokrit

Der Hämatokrit sank im Zuge der normovolämischen Hämodilution in allen Versuchsgruppen von einem initialen Wert von etwa 42% nach neun Dilutionsschritten auf 10% (Abbildung 19).

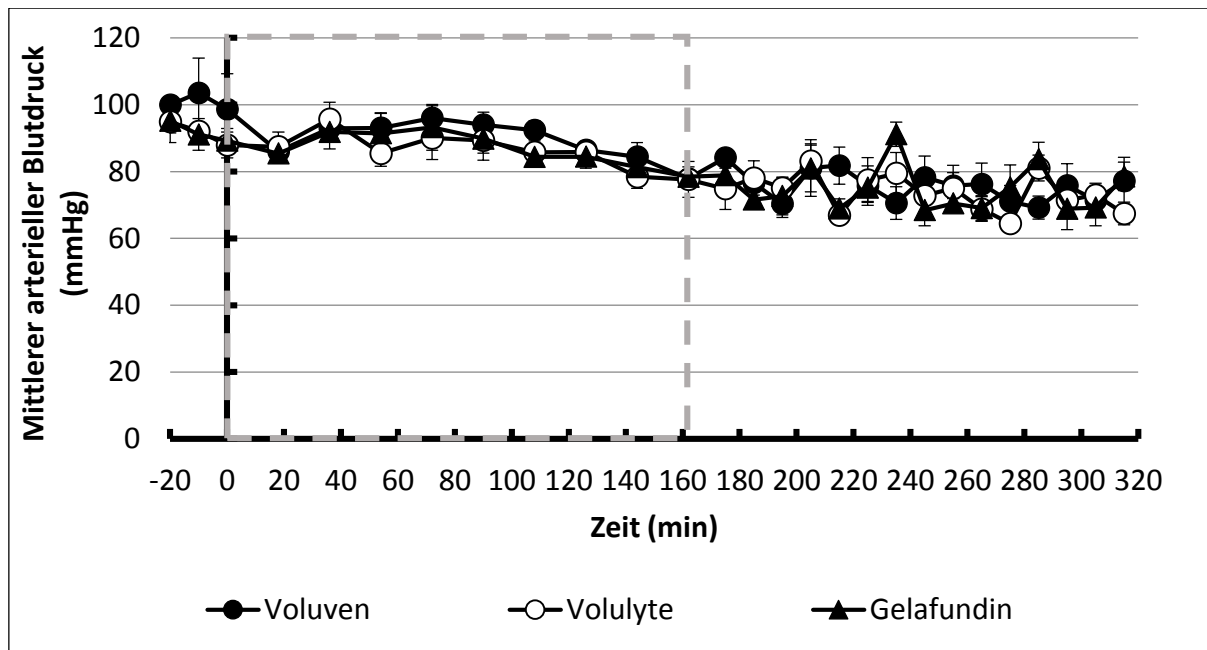


**Abbildung 19: Hämatokrit während normovolämischer Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Durch repetitive Entnahme von 3 ml Blut und simultanen Ersatz des Volumens wurde eine kontinuierliche Absenkung des Hämatokrits erreicht. Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung.



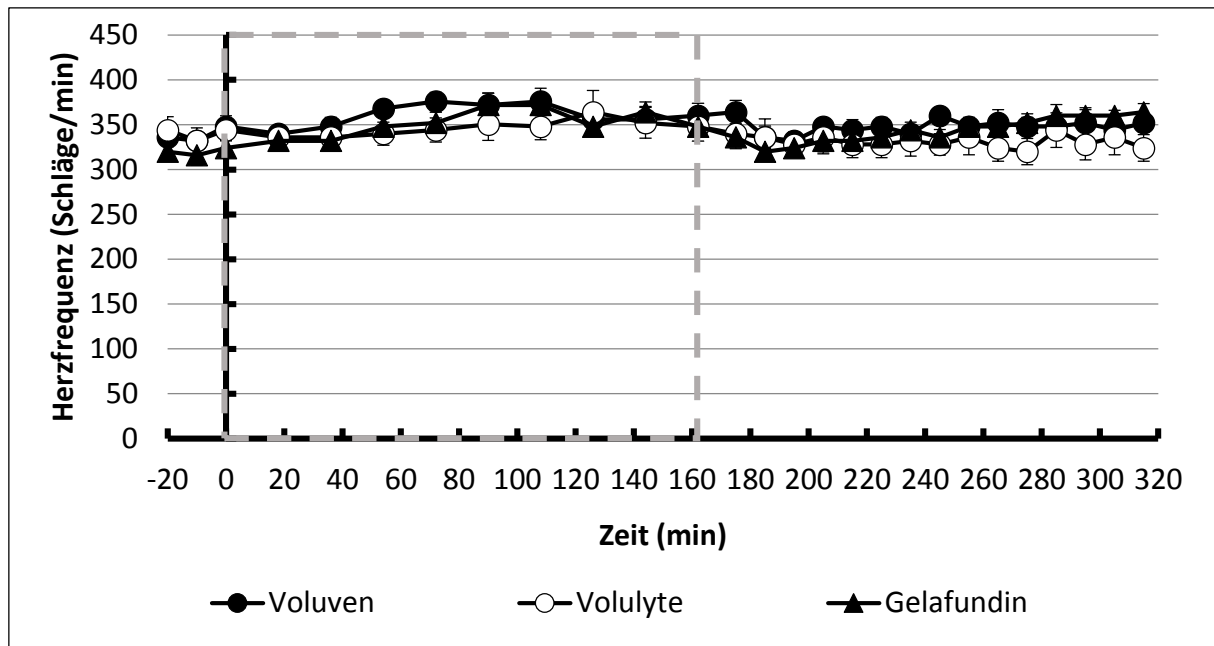
#### 4.2.2 Vitalparameter

Der MAP lag initial, je nach Versuchsgruppe, zwischen 95 mmHg und 100 mmHg (Abbildung 20). Während der Dilutionsphase sanken die gemessenen Werte im Mittel auf etwa 80 mmHg. In der anschließenden Nachbeobachtungsphase lag der MAP in einem Bereich zwischen 60 mmHg und 95 mmHg.



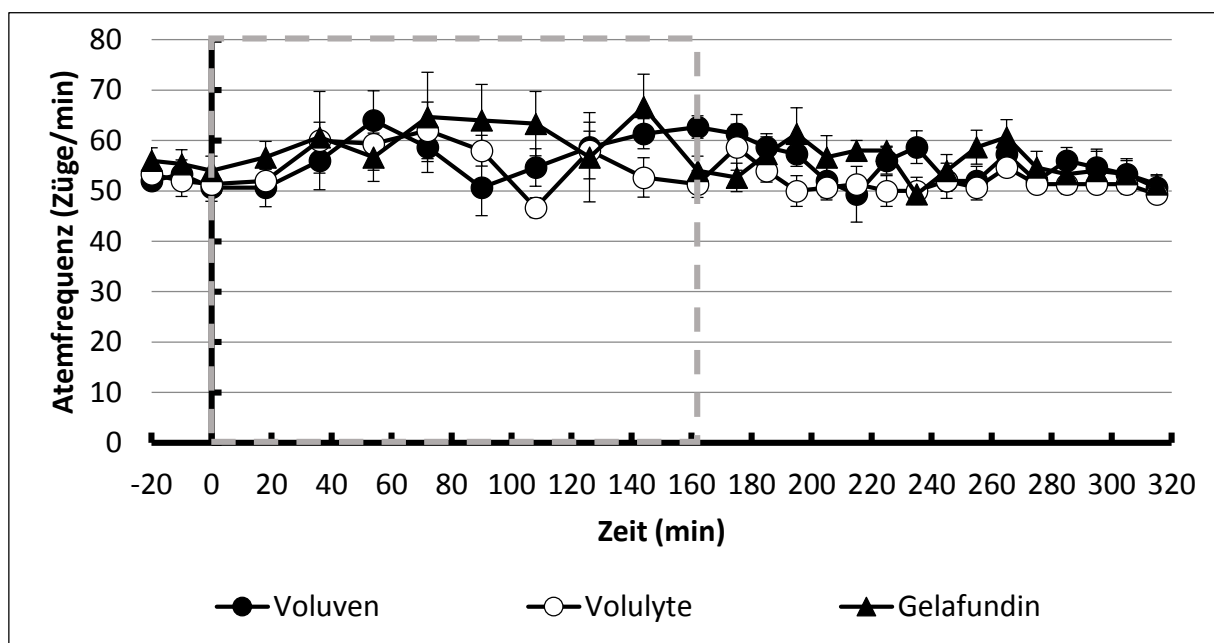
**Abbildung 20: Mittlerer arterieller Blutdruck im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung. Der graue Kasten kennzeichnet die Dauer der Dilution (162 Minuten), gefolgt von einer zweieinhalbstündigen Nachbeobachtungsdauer.

Zu Versuchsbeginn lag die Herzfrequenz in einem Bereich zwischen 300 Schlägen/Minute und 350 Schlägen/Minute (Abbildung 21). In der Dilutionsphase stieg die Frequenz in jeder Versuchsgruppe auf Werte von etwa 370 Schlägen/Minute an. Zu Beginn der Nachbeobachtungszeit fiel die Frequenz, sodass sie bis zum Versuchsende wie zu Beginn in einem Bereich zwischen 300 Schlägen/Minute und 350 Schlägen/Minute lag.



**Abbildung 21: Herzfrequenz im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung. Der graue Kasten kennzeichnet die Dauer der Dilution (162 Minuten), gefolgt von einer zweieinhalbständigen Nachbeobachtungsdauer.

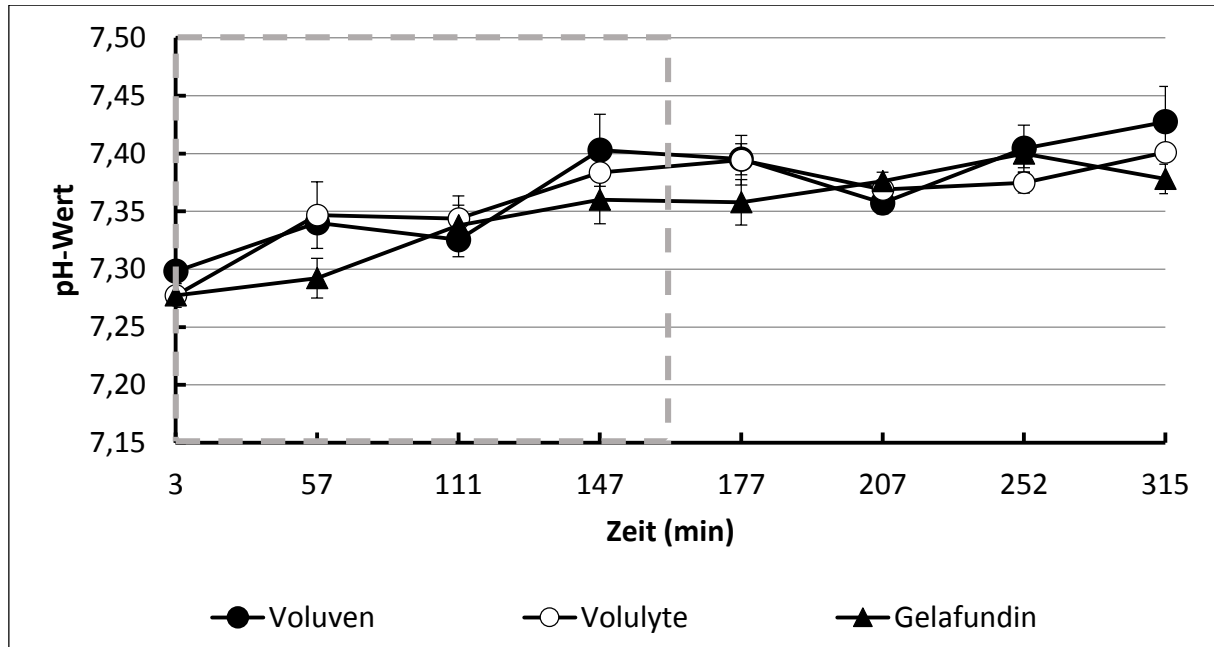
Initial lag die Atemfrequenz zwischen 50 Zügen/Minute und 55 Zügen/Minute (Abbildung 22). Während der Dilutionsphase stieg die Frequenz zunächst versuchsgruppenunabhängig auf Werte von etwa 65 Zügen/Minute an. In der Nachbeobachtungsphase glichen sich die Atemfrequenzen unabhängig von der Versuchsgruppe dem Ausgangsniveau an.



**Abbildung 22: Atemfrequenz im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung. Der graue Kasten kennzeichnet die Dauer der Dilution (162 Minuten), gefolgt von einer zweieinhalbständigen Nachbeobachtungsdauer.

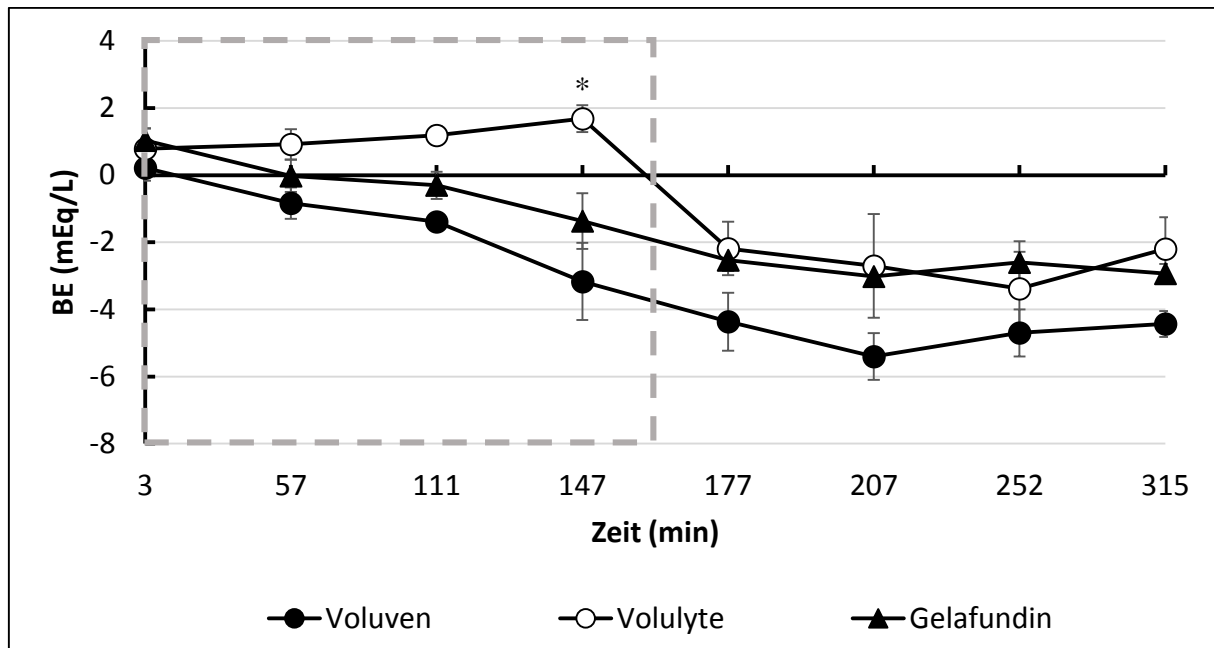
### 4.2.3 Säure-Base-Parameter

Der plasmatische pH-Wert lag bei Versuchsbeginn zwischen 7,27 und 7,30 (Abbildung 23). Während der Dilutionsphase nahm der pH-Wert versuchsgruppenunabhängig auf Werte zwischen 7,35 und 7,40 zu. Am Ende der Nachbeobachtungsphase lagen die Werte in einem Bereich zwischen 7,37 und 7,42.



**Abbildung 23: Plasmatischer pH-Wert im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung. Der graue Kasten kennzeichnet die Dauer der Dilution (162 Minuten), gefolgt von einer zweieinhalbständigen Nachbeobachtungsdauer.

Bei Versuchsbeginn lag der BE in allen Gruppen zwischen 0 mEq/L und 1 mEq/L (Abbildung 24). Die Messwerte sowohl in der Voluven- als auch Gelafundin-Gruppe sanken im Mittel während der Dilutionsphase stetig auf -3 mEq/L (Voluven) bzw. -1,7 mEq/L (Gelafundin). Der BE der Volulyte-Gruppe betrug am Ende dieses Intervalls im Mittel etwa 1,8 mEq/L. Zu Beginn der Nachbeobachtungsphase (177 min) fiel der BE dieser Gruppe auf -2 mEq/L ab. Bei 177 min betrug der BE der Gelafundin-Gruppe -2,5 mEq/L, jener der Voluven-Gruppe -4,5 mEq/L. Bis zum Versuchsende verblieben die Werte auf dem jeweiligen Niveau.



**Abbildung 24: Plasmatischer BE-Wert im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung. Die Bestimmung des Standard Basenüberschuss erfolgte anhand eines Kohlenstoffdioxidpartialdrucks von 40 mmHg. Der graue Kasten kennzeichnet die Dauer der Dilution (162 Minuten), gefolgt von einer zweieinhalbstündigen Nachbeobachtungsdauer. \*  $p < 0,05$  verglichen mit Voluven und Gelafundin zu diesem Zeitpunkt.

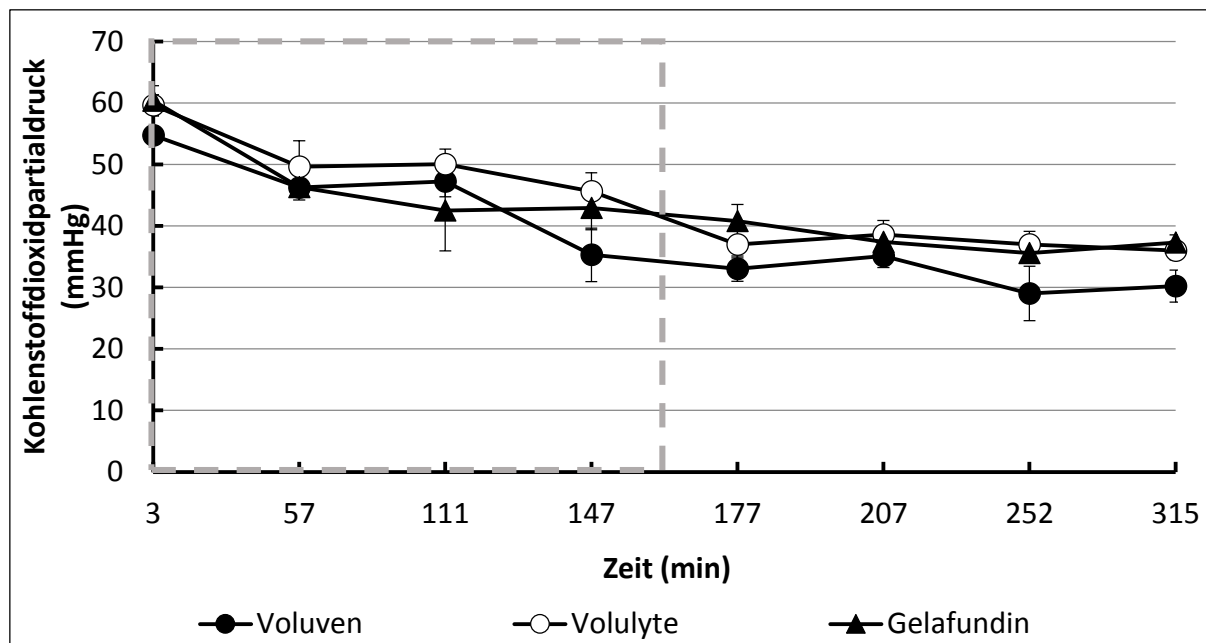
Durch Berechnung der im Zuge der normovolämischen Hämodilution entfernten Menge Bicarbonat anhand der Henderson-Hasselbalch-Gleichung (Formel 5) ergibt sich in den vorliegenden Experimenten ein Bicarbonatdefizit von ca. 0,6 mmol in jeder Versuchsgruppe (Tabelle 17). Da jedes entfernte Molekül Bicarbonat ein Proton zurückließ, war dieser Mangel quantitativ einem Protonenüberschuss gleichzusetzen. Demnach wurden während normovolämischer Hämodilution unter den angegebenen Bedingungen 0,6 mmol Protonen generiert.

**Tabelle 17: Berechnung überschüssiger Protonen, die während normovolämischer Hämodilution erzeugt wurden.**

Versuchsgruppe (Volumenssubstitutionslösung)	Aktuelles Bicarbonat (mM)	Ausgetauschtes Volumen während normovolämischer Hämodilution (ml)	Überschüssige Protonen (mmol)
Gelafundin	23	25	0,58
Voluven	23	26	0,60
Volulyte	26	26	0,68

Der Wert des aktuellen Bicarbonats wurde mit Hilfe der Henderson-Hasselbalch-Gleichung auf Grundlage des aktuellen pH-Wertes sowie des aktuellen Kohlenstoffdioxidpartialdruckes berechnet. Endpunkt der normovolämischen Hämodilution war ein finaler Hämatokrit von  $10\% \pm 1\%$ . Damit ein Hämatokrit von  $10\%$  präzise erreicht werden konnte, wurde das Volumen des neunten und letzten Dilutionsschrittes variabel gehalten. Die Berechnungen wurden auf Basis von sechs Tieren pro Gruppe zu drei verschiedenen Zeitpunkten gemacht. Dementsprechend können Berechnungen auf Basis von Mittelwerten abweichen.

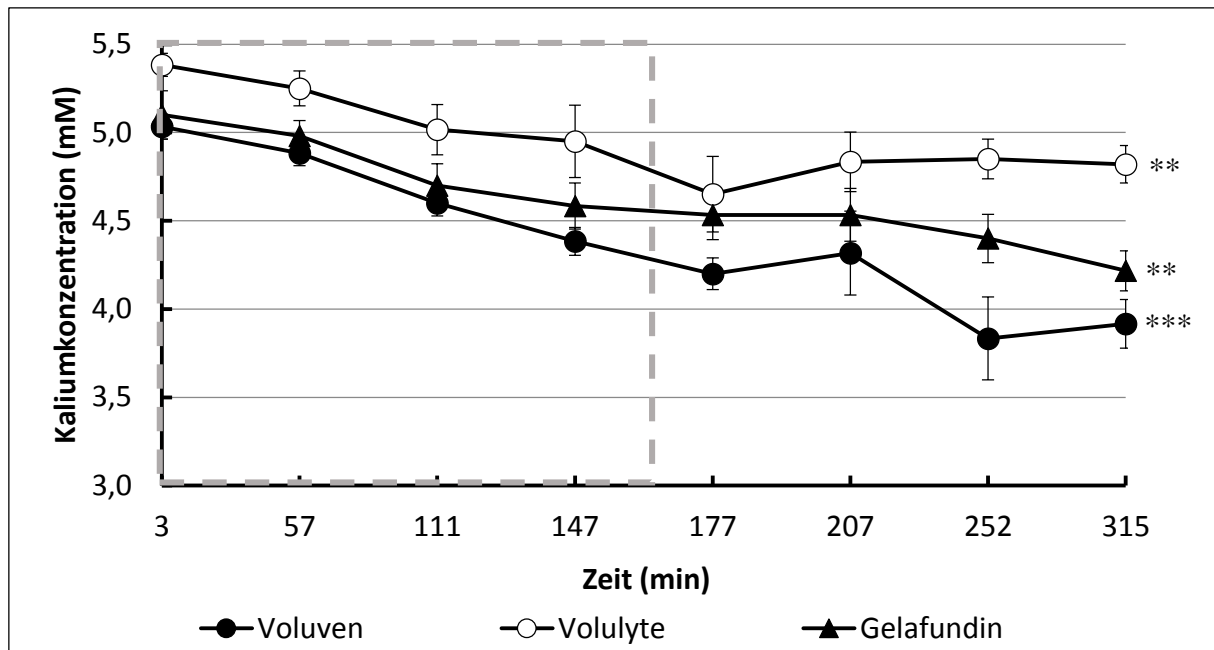
Zu Versuchsbeginn lag der Kohlenstoffdioxidpartialdruck in allen Versuchsgruppen zwischen 55 mmHg und 60 mmHg (Abbildung 25). Während der Dilutionsphase sank dieser, sodass am Ende des Intervalls Messwerte zwischen 35 mmHg und 46 mmHg erreicht wurden. Während der Nachbeobachtungszeit sanken die Werte weiterhin, sodass der Kohlenstoffdioxidpartialdruck final in einem Bereich zwischen 30 mmHg und 38 mmHg lag.



**Abbildung 25: Plasmatischer Kohlenstoffdioxidpartialdruck im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung. Der graue Kasten kennzeichnet die Dauer der Dilution (162 Minuten), gefolgt von einer zweieinhalbstündigen Nachbeobachtungsdauer.

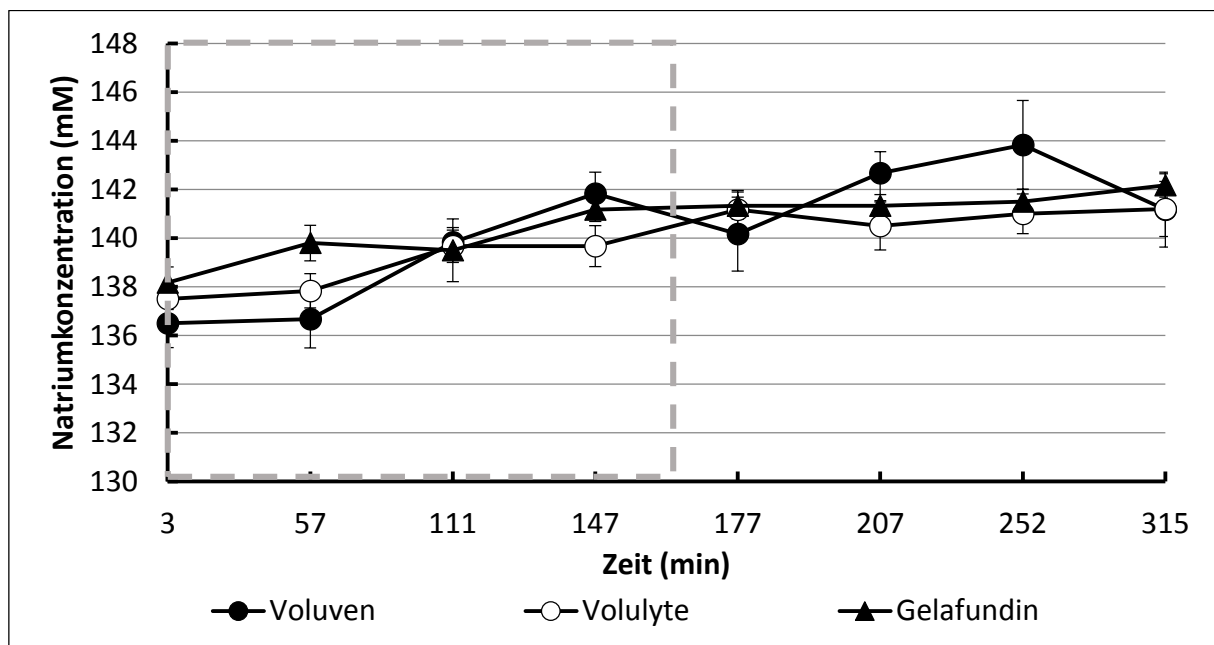
#### 4.2.4 Elektrolytparameter

Die initiale Kaliumkonzentration lag zwischen 5,0 mM und 5,4 mM (Abbildung 26). Während der Phase der Hämodilution nahm die Kaliumkonzentration auf Werte in einem Bereich zwischen 4,4 mM und 4,9 mM ab. Diese Abnahme setzte sich in allen Versuchsgruppen fort, sodass am Versuchsende Werte zwischen 3,9 mM und 4,8 mM erreicht wurden.



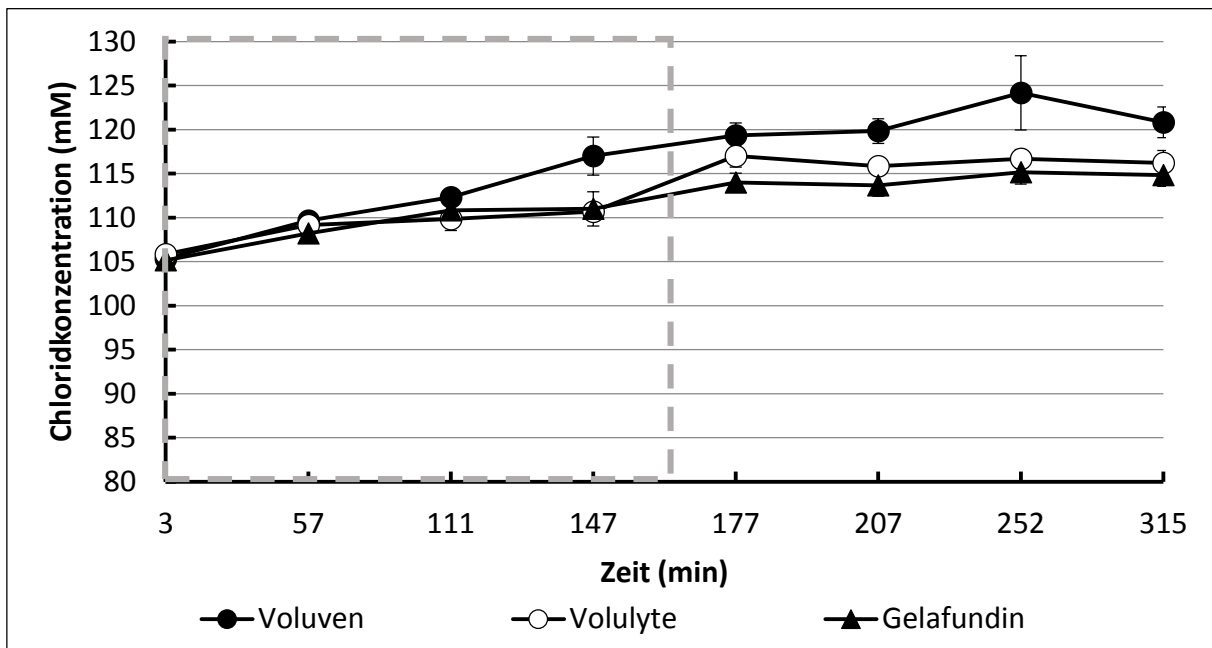
**Abbildung 26: Plasmatische Kaliumkonzentration im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung. Der graue Kasten kennzeichnet die Dauer der Dilution (162 Minuten), gefolgt von einer zweieinhalbständigen Nachbeobachtungsdauer. \*\*  $p < 0,01$  verglichen mit den jeweils initialen Werten, \*\*\*  $p < 0,001$  verglichen mit dem initialen Wert.

Die plasmatische Natriumkonzentration lag bei Versuchsbeginn zwischen 136 mM und 138 mM und stieg während der Dilutionsphase auf Werte zwischen 139 mM und 142 mM an (Abbildung 27). In der Nachbeobachtungsphase nahm die Natriumkonzentration weiterhin leicht zu, sodass am Versuchsende Werte zwischen 141 mM und 142 mM erreicht wurden.



**Abbildung 27: Plasmatische Natriumkonzentration im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung. Der graue Kasten kennzeichnet die Dauer der Dilution (162 Minuten), gefolgt von einer zweieinhalbständigen Nachbeobachtungsdauer.

Bei Versuchsbeginn lag die plasmatische Chloridkonzentration bei allen Versuchsgruppen einheitlich bei 105 mM (Abbildung 28). Während der Dilutionsphase stieg die Chloridkonzentration auf Werte zwischen 110 mM und 117 mM an. Bei Versuchsende lagen die Messwerte in einem Bereich zwischen 115 mM und 121 mM.



**Abbildung 28: Plasmatische Chloridkonzentration im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung. Der graue Kasten kennzeichnet die Dauer der Dilution (162 Minuten), gefolgt von einer zweieinhalbstündigen Nachbeobachtungsdauer.

Zu Versuchsbeginn betrug die plasmatische Osmolalität zwischen 285 mmol/kg und 288 mmol/kg (Tabelle 18). Diese stieg bis zum Ende der Dilutionsphase in Abhängigkeit der Versuchsgruppe auf etwa 295 mmol/kg. In der Nachbeobachtungsphase nahmen die Werte leicht ab, sodass sie bei Versuchsende zwischen 290 mmol/kg und 292 mmol/kg lagen.

**Tabelle 18: Plasmatische Osmolalität im Modell der normovolämischen Hämodilution.**

	Versuchsgruppe		
	Voluven	Volulyte	Gelafundin
Zeit (min)	Osmolalität (mmol/kg) Mittelwert $\pm$ SEM		
3	285 $\pm$ 2	285 $\pm$ 1	288 $\pm$ 1
57	285 $\pm$ 3	285 $\pm$ 2	290 $\pm$ 2
111	292 $\pm$ 1	292 $\pm$ 1	291 $\pm$ 2
147	295 $\pm$ 2	295 $\pm$ 2	294 $\pm$ 1
177	291 $\pm$ 4	291 $\pm$ 1	294 $\pm$ 1
207	296 $\pm$ 1	296 $\pm$ 2	293 $\pm$ 1
252	297 $\pm$ 2	297 $\pm$ 1	291 $\pm$ 1
315	290 $\pm$ 4	290 $\pm$ 2	292 $\pm$ 1

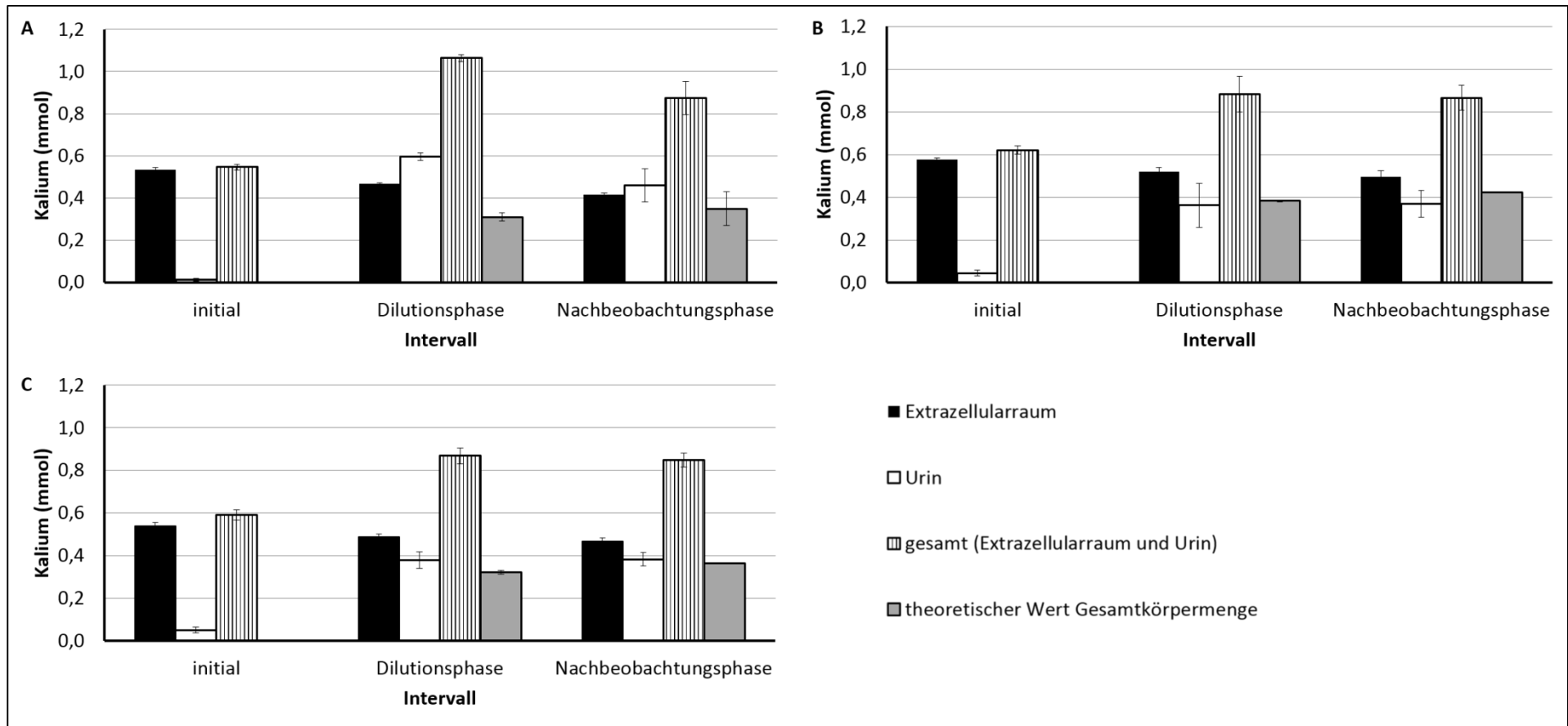
Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung.

#### 4.2.5 Bilanzierung von Kalium und Natrium

Die Summe gemessener Absolutmengen Kalium (Abbildung 29, jeweils dritte Balken) repräsentierte die Summe aus der Menge im Extrazellularraum<sup>1</sup> (Abbildung 29, jeweils erste Balken) und Urin (Abbildung 29, jeweils zweite Balken) in der jeweiligen experimentellen Phase. In jeder Versuchsgruppe (Voluven, Volulyte, Gelafundin) machte diese Summe im Mittel 0,9 mmol sowohl in der Dilutions- als auch in der Nachbeobachtungsphase aus. Im Gegensatz dazu betrug der auf Basis von Blutentnahme und Infusion theoretisch berechnete Wert 0,3 mmol in der Dilutions- und 0,4 mmol in der Nachbeobachtungsphase. Dementsprechend überstieg der gemessene den berechneten Wert um ca. 0,6 mmol in der Dilutions- sowie 0,5 mmol in der Nachbeobachtungsphase (Abbildung 29, jeweils dritte und vierte Balken).

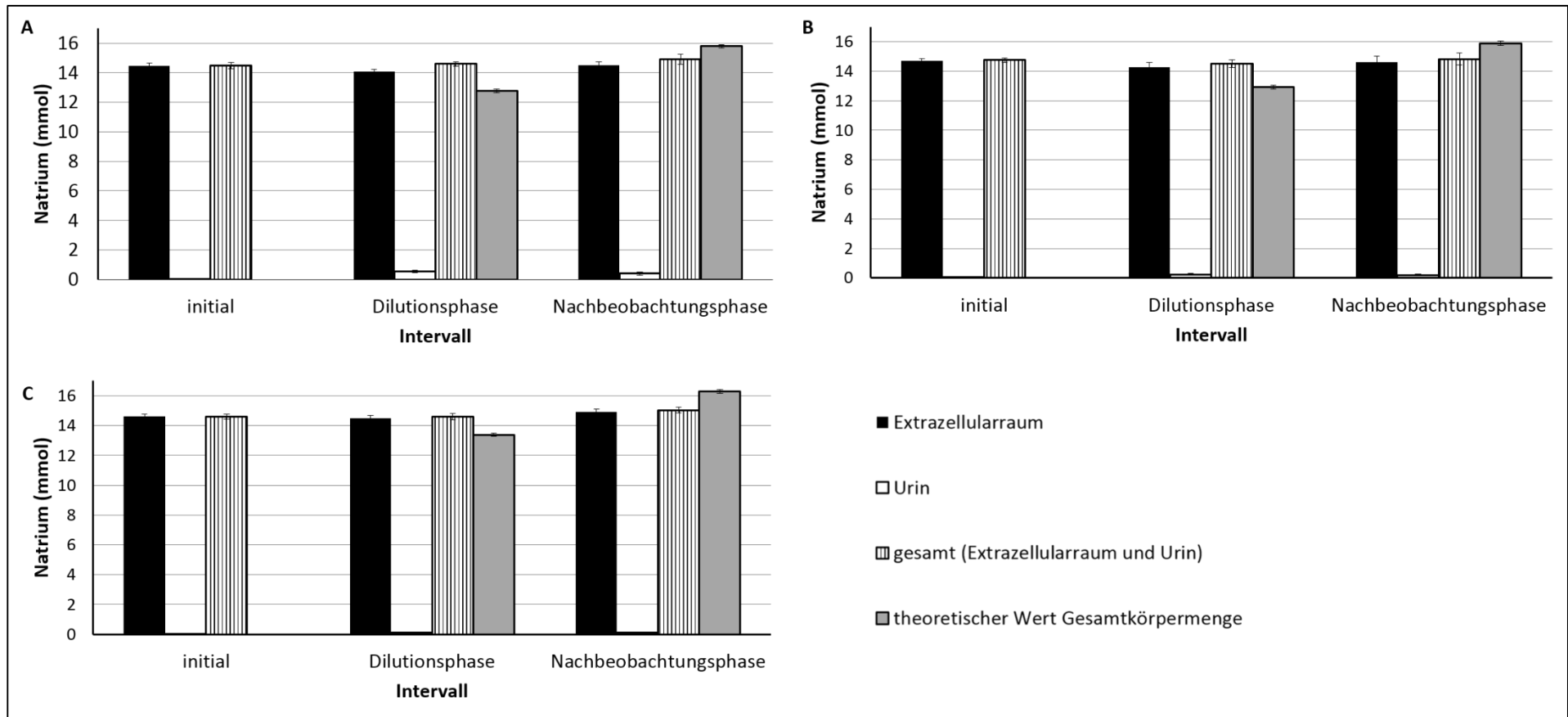
<sup>1</sup> Die jeweiligen Mengen im Extrazellularraum sind mit Hilfe des gemessenen Wertes im Plasma berechnet worden.





**Abbildung 29: Bilanzierung der Absolutmenge Kalium im Extrazellularraum sowie in Urin.** Der jeweils erste Balken repräsentiert die Menge an Kalium im Extrazellularraum. Der jeweils zweite Balken zeigt den Kaliumgehalt im Urin, der im entsprechenden Intervall (Dilution respektive Nachbeobachtung) gesammelt wurde. Der jeweils dritte Balken repräsentiert die Summe der gemessenen Werte im Extrazellularvolumen sowie in Urin. Der jeweils vierte Balken zeigt den aufgrund theoretischer Berechnung auf Basis von Entnahme und Infusion erwarteten Wert des gesamten Kaliumgehaltes. Im Falle der gemessenen Werte zeigt der initiale Wert das Ausgangslevel, wohingegen die Werte aus Dilutions- und Nachbeobachtungsphase Mittelwerte darstellen (aus drei bzw. vier Werten). A: Voluven, B: Volulyte, C: Gelafundin. Die angegebenen Absolutwerte beziehen sich auf die Bedingungen im Modell der normovolämischen Hämodilution.

Die Summe gemessener Absolutmengen Natrium (Abbildung 30, jeweils dritte Balken) repräsentierte die Summe aus der Menge im Extrazellularraum (Abbildung 30, jeweils erste Balken) und Urin (Abbildung 30, jeweils zweite Balken) in der jeweiligen experimentellen Phase. Im Falle des Natriums betrug die Summe der gemessenen Werte für die Versuchsgruppen im Mittel 14,6 mmol in der Dilutionsphase und 14,9 mmol in der Nachbeobachtungsphase, wohingegen die theoretisch berechneten Werte bei 13,3 mmol respektive 16,2 mmol lagen (Abbildung 30, jeweils dritte und vierte Balken). Somit überstiegen die gemessenen Werte die berechneten um 1,3 mmol in der Dilutionsphase, wohingegen sie in der Nachbeobachtungsphase die berechneten Werte um 1,3 mmol unterschritten.



**Abbildung 30: Bilanzierung der Absolutmenge Natrium im Extrazellularraum sowie in Urin.** Der jeweils erste Balken repräsentiert die Menge an Natrium im Extrazellularraum. Der jeweils zweite Balken zeigt den Natriumgehalt in Urin, der im entsprechenden Intervall (Dilution respektive Nachbeobachtung) gesammelt wurde. Der jeweils dritte Balken repräsentiert die Summe der gemessenen Werte im Extrazellularräumen sowie Urin. Der jeweils vierte Balken zeigt den aufgrund theoretischer Berechnung auf Basis von Entnahme und Infusion erwarteten Wert des gesamten Natriumgehaltes. Im Falle der gemessenen Werte zeigt der initiale das Ausgangslevel, wohingegen die Werte aus Dilutions- und Nachbeobachtungsphase Mittelwerte darstellen (aus drei bzw. vier Werten). A: Voluven, B: Volulyte, C: Gelafundin. Die angegebenen Absolutwerte beziehen sich auf die Bedingungen im Modell der normovolämischen Hämodilution.

Die Differenz zwischen der Summe der gemessenen Werte (Extrazellularräumen plus Urin) und den theoretisch berechneten Werten auf Basis der Blutentnahme und dem substituierten Volumen sowie der Komposition der jeweiligen Volumensubstitutionslösung entsprach der Menge der Protonen, welche im Austausch gegen Kalium ins intrazelluläre Kompartiment transportiert wurden (Tabelle 19). Für Voluven entsprach dies einem Wert von 125% in der Dilutionsphase und 87% in der Nachbeobachtungsphase, für Volulyte 74% respektive 65% sowie für Gelafundin 95% respektive 85%.

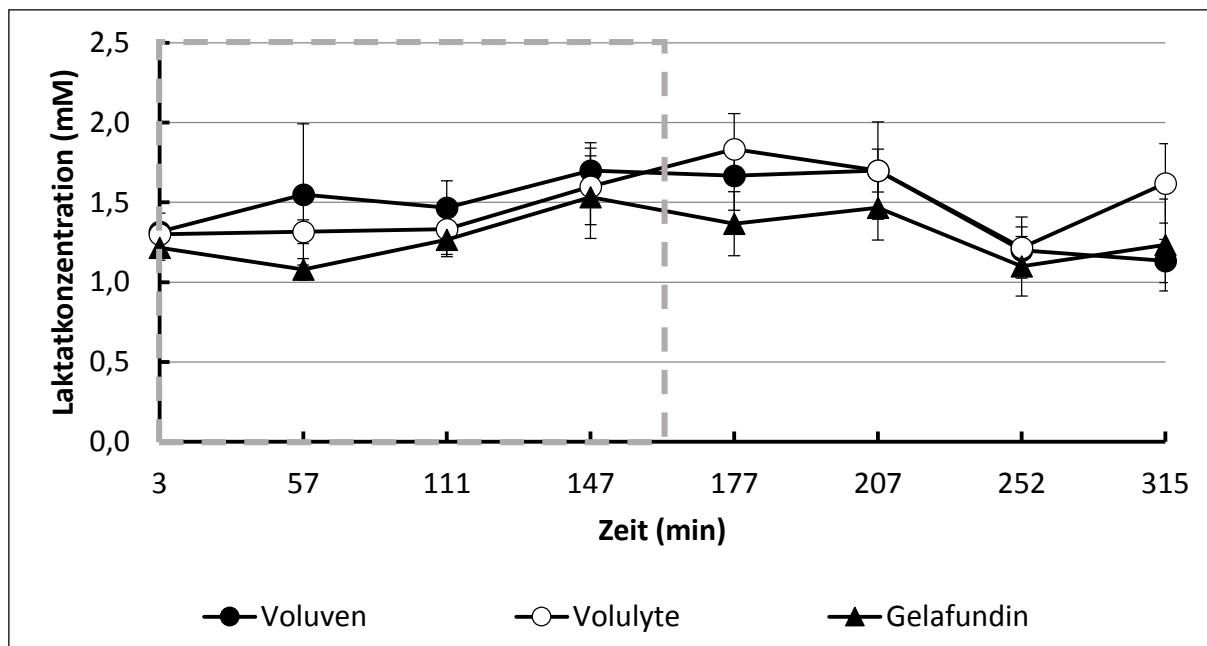
**Tabelle 19: Anteil der intrazellulär im Austausch gegen Kalium gepufferten Protonen.**

<b>Volumen-substitutionslösung</b>	<b>Intervall</b>	<b>Generierte Menge Protonen (mmol)</b>	<b>Differenz zwischen der Summe der gemessenen und den berechneten Kaliumwerten (mmol)</b>	<b>Anteil intrazellulär gepufferter Protonen (%)</b>
<b>Voluven</b>	Dilutionsphase	0,60	0,75	125
	Nachbeobachtungsphase	-	0,52	87
<b>Volulyte</b>	Dilutionsphase	0,68	0,50	74
	Nachbeobachtungsphase	-	0,44	65
<b>Gelafundin</b>	Dilutionsphase	0,58	0,55	95
	Nachbeobachtungsphase	-	0,48	85

Die Differenz zwischen der Summe der gemessenen Werte (Extrazellularräumen plus Urin) und den theoretisch berechneten Werten auf Basis der Blutentnahme und dem substituierten Volumen sowie der ionalen Komposition der jeweiligen Volumensubstitutionslösung stellt einen Hinweis auf die Menge der Protonen dar, welche ins intrazelluläre Kompartiment transportiert wurden. Anhand der vierten und fünften Spalte ist der Austausch eines großen Anteils extrazellulärer Protonen im Austausch gegen intrazelluläres Kalium erkennbar.

#### **4.2.6 Laktatkonzentration**

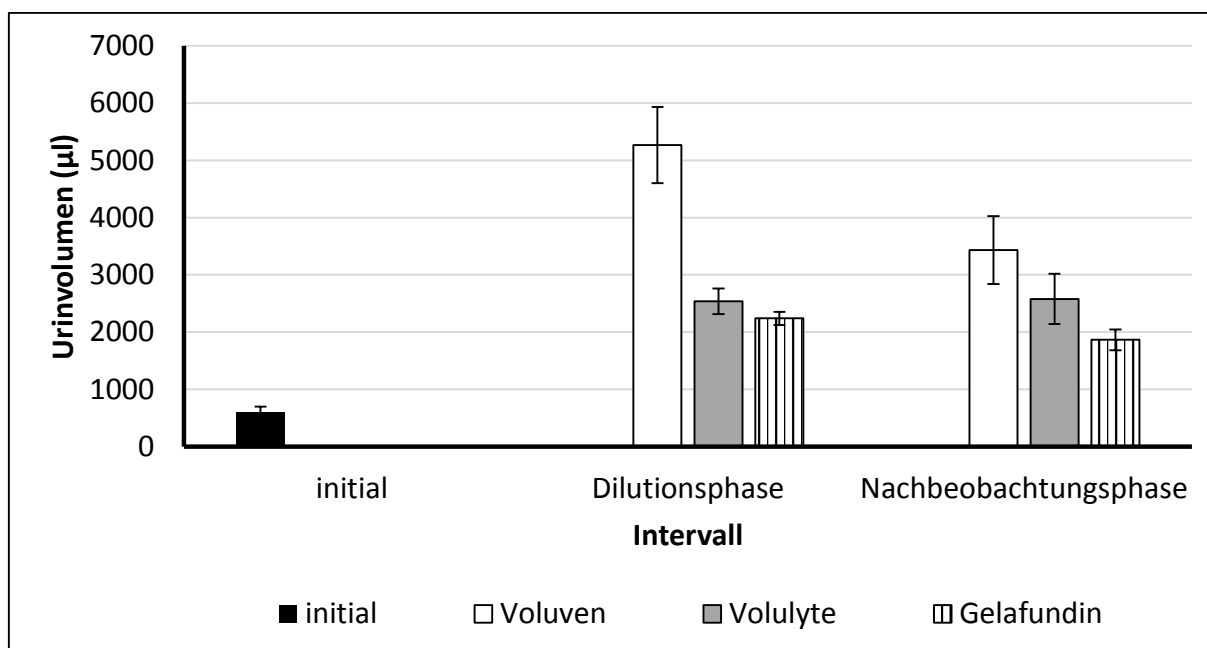
Initiale plasmatische Laktatkonzentrationen betragen 1,2 mM bis 1,3 mM (Abbildung 31). Am Ende der Dilutionsphase wurden Werte zwischen 1,5 mM und 1,7 mM erreicht. Bei Versuchsende lagen sie in einem Bereich zwischen 1,1 mM und 1,6 mM.



**Abbildung 31: Plasmathe Laktatkonzentration im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Je nach Versuchsgruppe fanden zur Volumensubstitution die kolloidalen Infusionslösungen Voluven, Volulyte oder Gelafundin Verwendung. Der graue Kasten kennzeichnet die Dauer der Dilution (162 Minuten), gefolgt von einer zweieinhalbstündigen Nachbeobachtungsdauer.

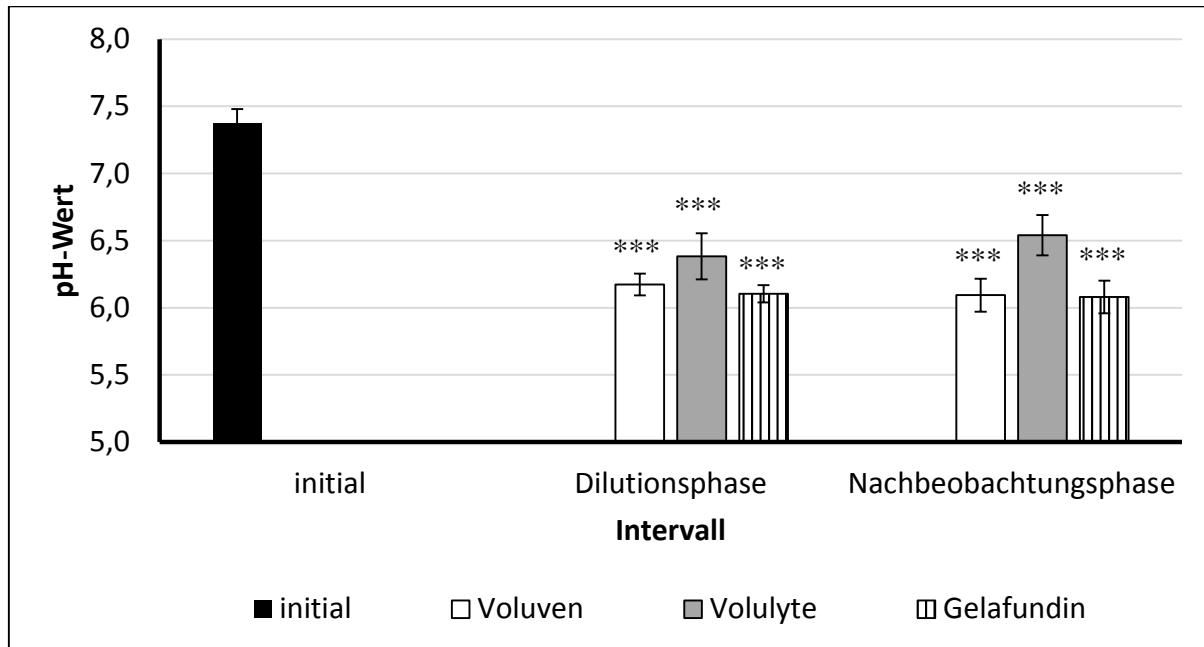
#### 4.2.7 Urinanalytik

Die Menge an Initialurin lag im Mittel bei 610  $\mu\text{l}$  (Abbildung 32). In der Phase der Dilution schieden Tiere der Voluvengruppe rund 5200  $\mu\text{l}$  aus, Tiere der Volulytegruppe 2500  $\mu\text{l}$  und Tiere der Gelafundin-Gruppe 2200  $\mu\text{l}$ . In der Nachbeobachtungsphase betragen die ausgeschiedenen Volumina 3500  $\mu\text{l}$ , 2500  $\mu\text{l}$  bzw. 1900  $\mu\text{l}$ .



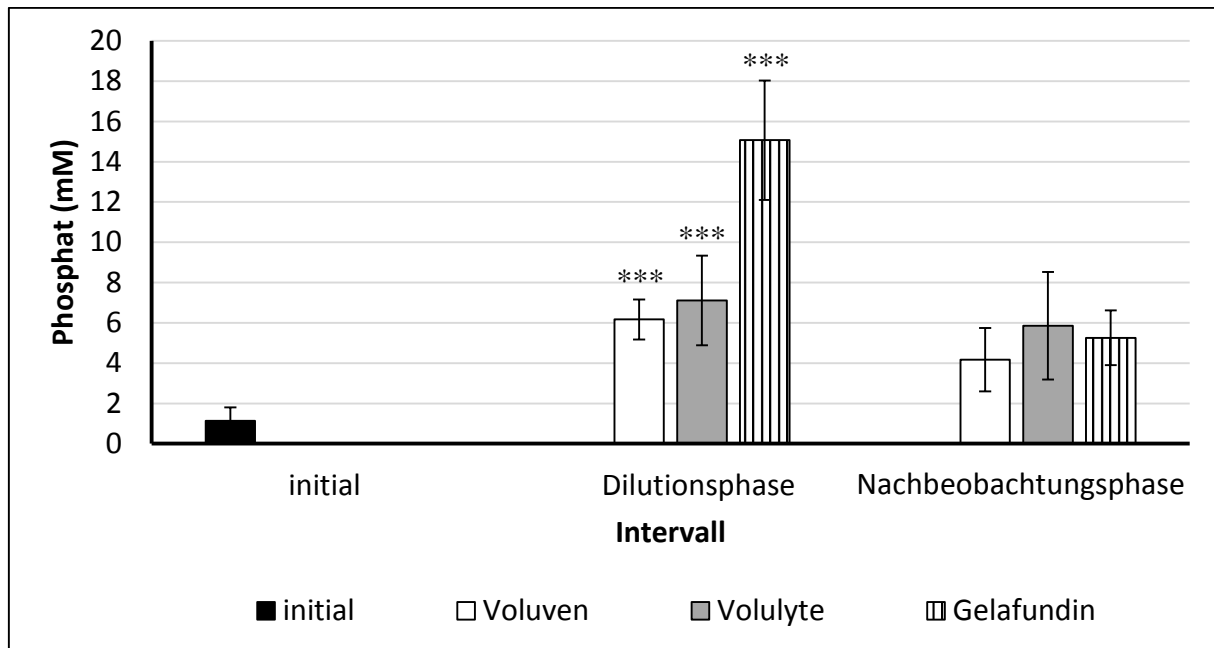
**Abbildung 32: Ausgeschiedenes Urinvolumen pro Intervall im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Da der Initialurin nach Insertion des Blasenkatheters entnommen wurde, war dieser versuchsgruppenunabhängig.

Der im Initialurin gemessene pH-Wert betrug im Mittel 7,4 (Abbildung 33). Während der Dilutionsphase sank der pH-Wert des ausgeschiedenen Urins in der Volulytegruppe auf 6,4, in der Voluvengruppe auf 6,2 und in der Gelafundingruppe auf 6,1. In der Nachbeobachtungsphase wurden Werte von 6,5 (Volulyte) und 6,1 (Voluven, Gelafundin) gemessen.



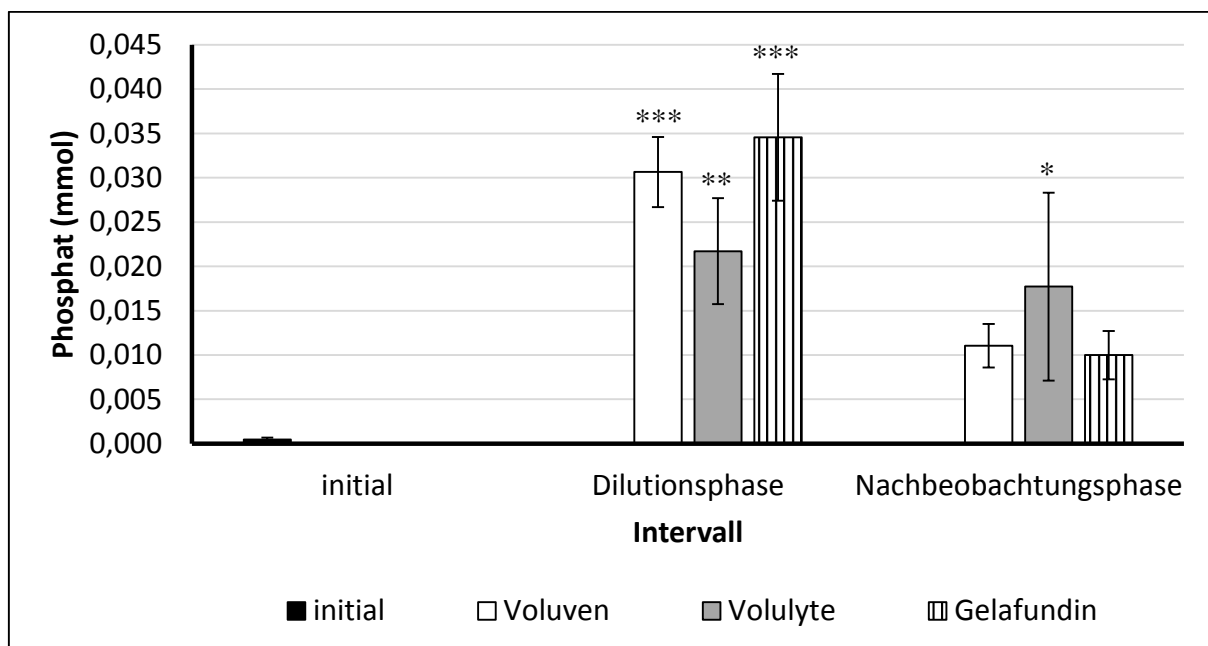
**Abbildung 33: pH-Wert des Urins im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** \*\*\*  $p < 0,001$  verglichen mit dem initialen Wert. Da der Initialurin nach Insertion des Blasenkatheters entnommen wurde, war dieser versuchsgruppenunabhängig.

Die im Initialurin gemessene Phosphatkonzentration betrug im Mittel 1,1 mM (Abbildung 34). In der Dilutionsphase stiegen die Werte auf 6,2 mM (Voluven), 7,1 mM (Volulyte) und 15,1 mM (Gelafundin) an. Urin aus der Nachbeobachtungsphase enthielt 4,2 mM, 5,9 mM bzw. 5,3 mM Phosphat.



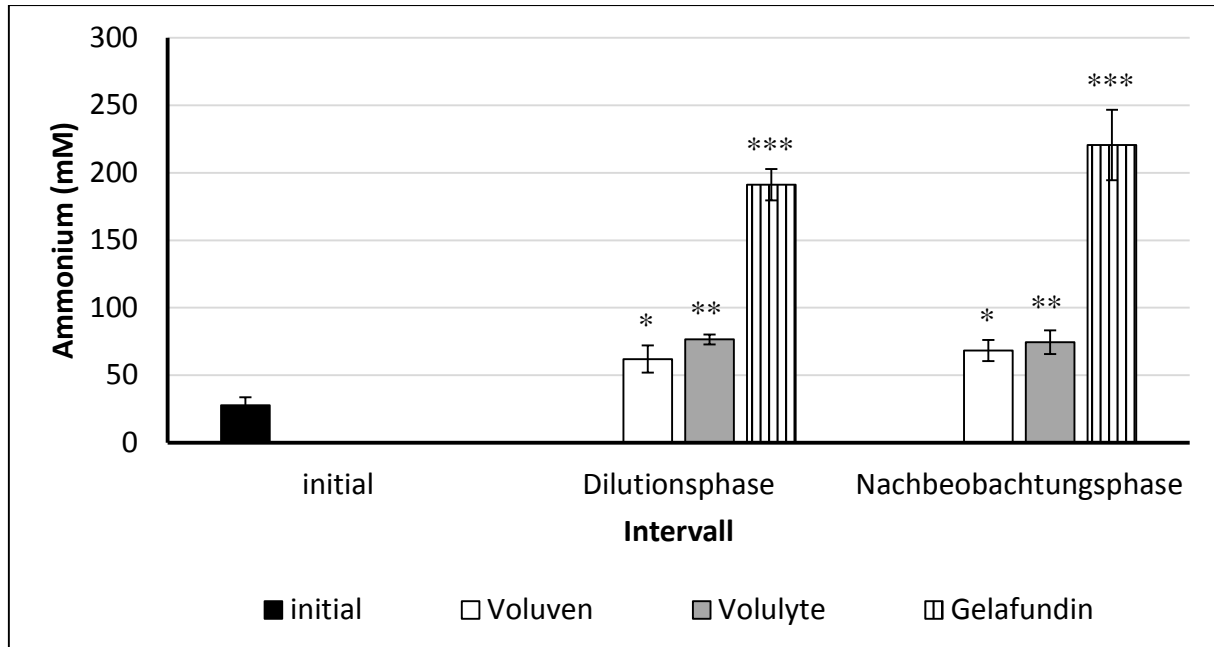
**Abbildung 34: Phosphatkonzentration in Urin im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Da der Initialurin nach Insertion des Blasenkatheters entnommen wurde, war dieser versuchsgruppenunabhängig. \*\*\*  $p < 0,001$  verglichen mit dem initialen Wert.

Nach Berechnung der Absolutwerte des ausgeschiedenen Phosphats mit Hilfe des jeweiligen Urinvolumens betragen diese im Initialurin 0,0005 mmol (Abbildung 35). Tiere der Voluvengruppe schieden in der Dilutionsphase 0,03 mmol aus, Tiere der Volulytegruppe 0,02 mmol und Tiere der Gelafundingruppe ebenfalls 0,03 mmol. In der Nachbeobachtungsphase ergab sich eine ausgeschiedene Absolutmenge von 0,01 mmol, 0,02 mmol sowie 0,01 mmol.



**Abbildung 35: Absolutmenge an Phosphat in Urin in Abhängigkeit der Versuchsgruppe (Voluven, Volulyte, Gelafundin).** Die Berechnung der Absolutmenge erfolgte mit Hilfe der gemessenen Konzentration und dem Volumen der jeweiligen Urinprobe. Da der Initialurin nach Insertion des Blasenkatheters entnommen wurde, war dieser versuchsgruppenunabhängig. Die angegebenen Absolutwerte beziehen sich auf die Bedingungen im Modell der normovolämischen Hämodilution. \*  $p < 0,05$  verglichen mit dem initialen Wert, \*\*  $p < 0,01$  verglichen mit dem initialen Wert, \*\*\*  $p < 0,001$  verglichen mit dem initialen Wert.

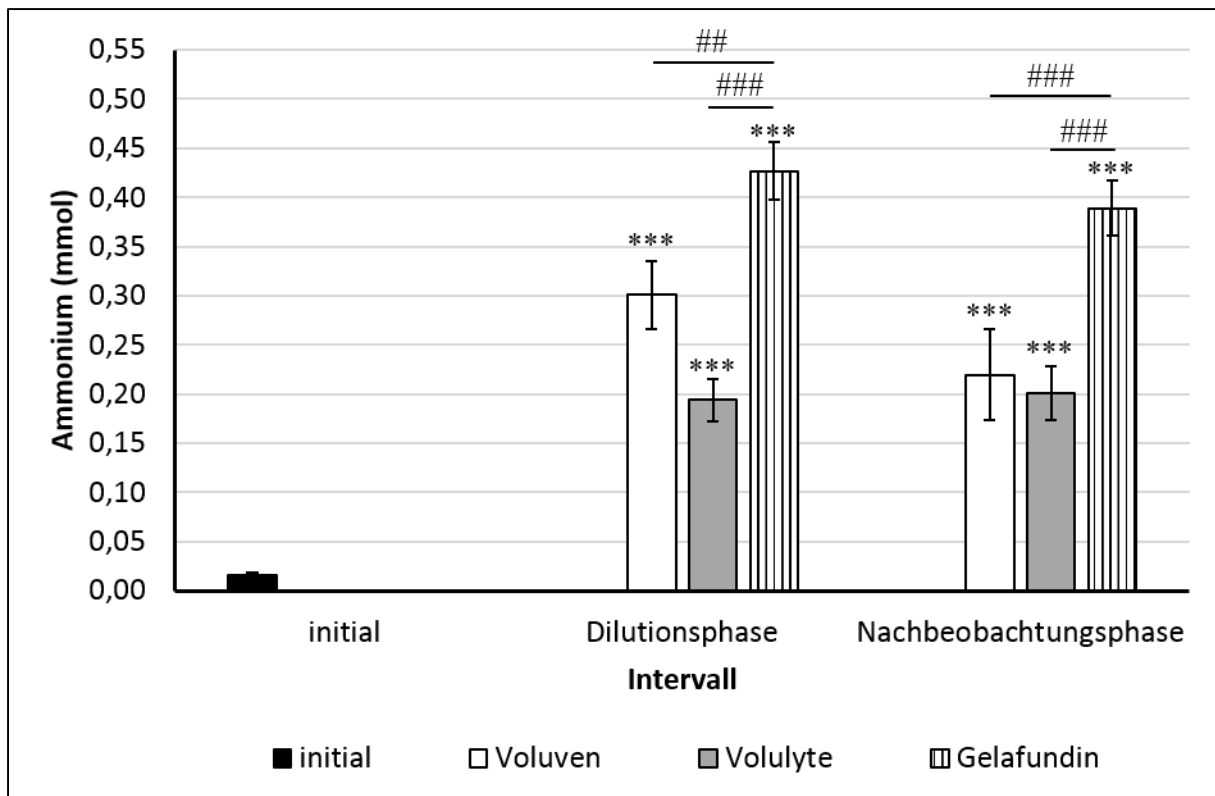
Die Ammoniumkonzentration lag zu Versuchsbeginn bei 28 mM (Abbildung 36). In dem während der Dilutionsphase gesammelten Urin stieg die Konzentration in der Voluvengruppe auf 62 mM an, in der Volulytegruppe auf 76 mM und in der Gelafundingruppe auf 191 mM. In der Nachbeobachtungszeit wurden für die einzelnen Versuchsgruppen 68 mM, 75 mM respektive 221 mM gemessen.



**Abbildung 36: Ammoniumkonzentration in Urin im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Da der Initialurin nach Insertion des Blasenkatheters entnommen wurde, war dieser versuchsgruppenunabhängig. \*  $p < 0,05$  verglichen mit dem initialen Wert. \*\*  $p < 0,01$  verglichen mit dem initialen Wert. \*\*\*  $p < 0,001$  verglichen mit dem initialen Wert.

Die anhand der Ammoniumkonzentrationen sowie ausgeschiedenen Urinvolumina berechneten absoluten Werte lagen für Initialurin bei 0,02 mmol Ammonium (Abbildung 37). In der Dilutionsphase betrug die Ausscheidung in der Voluvengruppe 0,30 mmol, in der Volulytegruppe 0,19 mmol sowie in der Gelafundingruppe 0,43 mmol. In der Nachbeobachtungsphase enthielt der Urin in Abhängigkeit der Versuchsgruppe 0,22 mmol, 0,20 mmol bzw. 0,39 mmol.





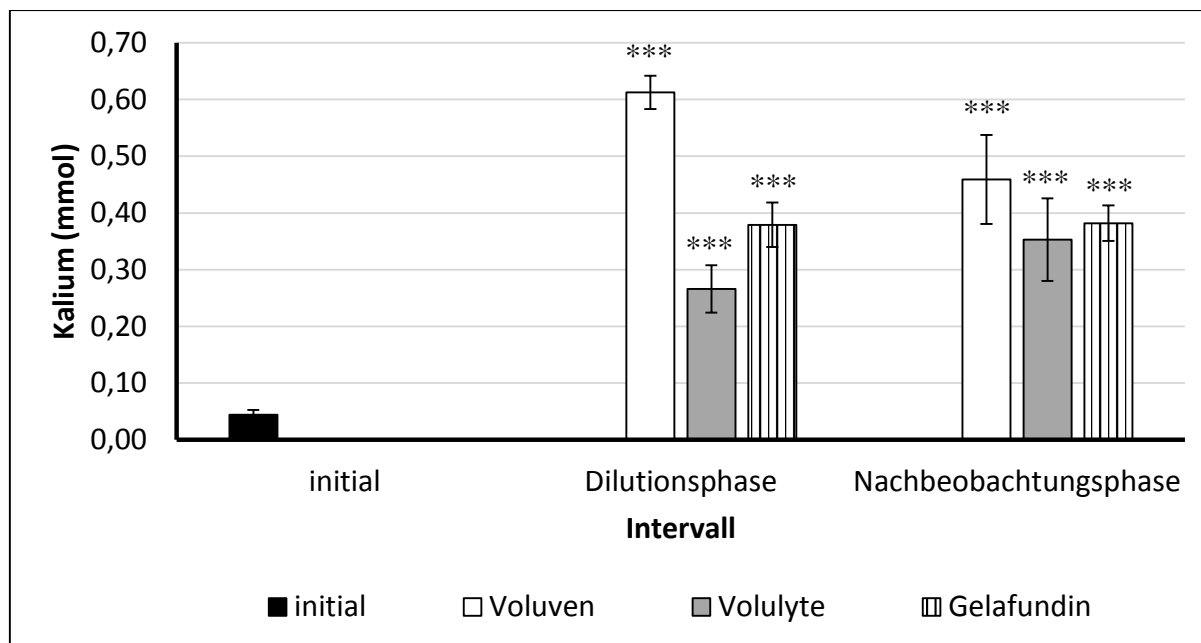
**Abbildung 37: Absolutmenge an Ammonium in Urin in Abhängigkeit der Versuchsgruppe (Voluven, Volulyte, Gelafundin).** Die Berechnung der Absolutmenge erfolgte mit Hilfe der gemessenen Konzentration und dem Volumen der jeweiligen Urinprobe. Da der Initialurin nach Insertion des Blasenkatheters entnommen wurde, war dieser versuchsgruppenunabhängig. Die angegebenen Absolutwerte beziehen sich auf die Bedingungen im Modell der normovolämischen Hämodilution. \*\*\*  $p < 0,001$  verglichen mit dem initialen Wert. ##  $p = 0,001$ , ###  $p < 0,0001$ .

Die Summe der ausgeschiedenen Ammoniummengen während der gesamten Versuchsdauer (Dilutions- plus Nachbeobachtungsphase) betrug 0,52 mmol (Voluven), 0,39 mmol (Volulyte) bzw. 0,77 mmol (Gelafundin), wohingegen die Summe der ausgeschiedenen Menge Phosphat während der gesamten Versuchsdauer (Dilutions- plus Nachbeobachtungsdauer) versuchsgruppenunabhängig 0,04 mmol betrug (Tabelle 20). Die Menge ausgeschiedener freier Protonen war vernachlässigbar gering.

**Tabelle 20: Bestimmung des quantitativen Beitrags verschiedener renaler Mechanismen zur Neutralisierung überschüssiger Protonen im Modell der normovolämischen Hämodilution.**

<b>Volumensubstitutionslösung</b>	<b>Intervall</b>	<b>Exkretion von Ammoniumionen (mmol)</b>	<b>Protonenexkretion via Phosphatpuffer (mmol)</b>	<b>Exkretion freier Protonen (mmol)</b>	<b>Summe renal „neutralisierter“ Protonen (mmol)</b>
<b>Voluven</b>	Dilutionsphase	0,30	0,03	$3,47 \times 10^{-6}$	0,56
	Nachbeobachtungsphase	0,22	0,01	$2,71 \times 10^{-6}$	
	$\Sigma$	0,52	0,04	$6,18 \times 10^{-6}$	
<b>Volulyte</b>	Dilutionsphase	0,19	0,02	$2,63 \times 10^{-6}$	0,43
	Nachbeobachtungsphase	0,20	0,02	$1,19 \times 10^{-6}$	
	$\Sigma$	0,39	0,04	$3,82 \times 10^{-6}$	
<b>Gelafundin</b>	Dilutionsphase	0,43	0,03	$1,83 \times 10^{-6}$	0,81
	Nachbeobachtungsphase	0,34	0,01	$1,77 \times 10^{-6}$	
	$\Sigma$	0,77	0,04	$3,60 \times 10^{-6}$	
<b>Initialurin</b>	-	0,02	0,0006	$0,02 \times 10^{-6}$	0,02

Bei Versuchsbeginn lag die ausgeschiedene Absolutmenge Kalium bei 0,04 mmol (Abbildung 38). Während der Dilutionsphase schieden die Tiere der Voluvengruppe 0,61 mmol aus, Tiere der Volulytegruppe 0,27 mmol und Tiere der Gelafundingruppe 0,38 mmol. In der Nachbeobachtungsphase betrug die ausgeschiedene Kaliummenge je nach Versuchsgruppe 0,46 mmol, 0,35 mmol bzw. 0,38 mmol.



**Abbildung 38: Absolute Kaliummenge in Urin im Modell der normovolämischen Hämodilution in verschiedenen Versuchsgruppen.** Da der Initialurin nach Insertion des Blasenkatheters entnommen wurde, war dieser versuchsgruppenunabhängig. Die angegebenen Absolutwerte beziehen sich auf die Bedingungen im Modell der normovolämischen Hämodilution. \*\*\*  $p < 0,001$  verglichen mit dem initialen Wert.

Der Initialurin enthielt 3,9 mg Succinat (Tabelle 21). Während der Dilutionsphase schieden Tiere der Gelafundingruppe 301,8 mg Gelatinepolysuccinat aus. In der Nachbeobachtungszeit belief sich die ausgeschiedene Menge auf 165,3 mg. Urin aus der Nachbeobachtungsphase von Tieren der Voluvengruppe enthielt 1,5 mg Succinat.

**Tabelle 21: Ausgeschiedene Menge Gelatinepolysuccinat in Urin.**

Probe	Menge (Gelatinepoly-) Succinat (mg) Mittelwert $\pm$ SEM	Prozentsatz ausgeschiedene Menge (%)
Dilutionsphase Gelafundin	301,8 $\pm$ 29,6	56
Nachbeobachtungsphase Gelafundin	165,3 $\pm$ 16,1	31
Initialer Urin	3,9 $\pm$ 0,5	-
Nachbeobachtungsphase Voluven	1,5 $\pm$ 0,1	-

Die Menge aus dem entsprechenden Intervall wurde mittels  $^1\text{H-NMR}$  quantifiziert. Bei der Berechnung wurde das entsprechende Urinvolumen berücksichtigt. Die prozentuale Angabe bezieht sich auf die während normovolämischer Hämodilution infundierte Menge. Die angegebenen Absolutwerte beziehen sich auf die Bedingungen im Modell der normovolämischen Hämodilution.

## 5 Diskussion

Die Beschreibung der Veränderungen im Säure-Base-Haushalt erfolgt mit Hilfe des traditionellen Konzepts, welches auf der von Henderson und Hasselbalch entwickelten Formel beruht, da die mechanistischen Formulierungen des traditionellen Ansatzes, entgegen des alternativen Konzepts nach Stewart, die zugrundeliegende Phänomenologie angemessener beschreiben [76, 93]. Nichtsdestotrotz sagt das Stewart-Konzept die gleichen Veränderungen im Säure-Base-Haushalt voraus, wenngleich die Dilutionsazidose beispielsweise als hyperchlorämische Azidose bezeichnet wird.

### 5.1 Ursachen der Dilutionsazidose und ihre Auswirkungen im Patienten

Im Rahmen der durchgeführten Beobachtungsstudie konnte die generelle Existenz einer Dilutionsazidose anhand einer simultanen und signifikanten Abnahme sowohl von pH-Wert als auch BE belegt werden (Abbildung 10, Abbildung 11). Diese wird durch die überaus schnelle Gabe der Priming Lösung (1,1 L, Tabelle 14) als auch der kardioplegischen Lösung (1,6 L, Tabelle 14) im direkten zeitlichen Anschluss hervorgerufen. Als Priming Lösung wurde wie bereits erwähnt 0,9% NaCl Lösung gemäß der aktuellen klinischen Routine eingesetzt. Aufgrund des Fehlens von Bicarbonat in der Lösung wird endogenes Bicarbonat erheblich verdünnt. Dies trägt maßgeblich zur Entstehung der Dilutionsazidose bei. Die zur Kardioplegie verwendete kardioplegische Lösung enthält hauptsächlich Elektrolyte und mit Histidin und Tryptophan zusätzlich zwei Aminosäuren (Zusammensetzung: Tabelle 22). In Bezug auf die Ausbildung einer Dilutionsazidose muss diese Lösung analog zu der als Priming Lösung verwendeten NaCl Lösung als Salzlösung betrachtet werden, da sie ebenfalls frei von Bicarbonat ist und nur 1 mM  $\alpha$ -Ketoglutarat enthält. Durch Verstoffwechselung von  $\alpha$ -Ketoglutarat wird im weiteren Verlauf Bicarbonat erhalten, allerdings kann durch die geringe Konzentration von nur 1 mM kein großer systemischer Effekt auf den Säure-Base-Haushalt erwartet werden. Ursprünglich wurde angenommen, dass nur Lösungen mit einer hohen (supraphysiologischen) Chloridkonzentration, wie beispielsweise in 0,9% NaCl Lösung, eine Dilutionsazidose erzeugen. Jedoch konnte gezeigt werden, dass die Entstehung einer dilutionsbedingten Azidose unabhängig von der zur Dilution eingesetzten Lösung ist [72], solange diese bicarbonatfrei ist.

Die Daten einiger vergangener Studien mit Patienten, die sich in der überwiegenden Mehrheit ebenfalls Bypass-Operationen unterzogen hatten, deuten auf die Existenz einer Dilutionsazidose hin, obwohl keine dieser Studien die Daten explizit in Bezug auf eine Dilutionsazidose, die aus den inhärenten Eigenschaften eines CPBs (Gebrauch der HLM und dem damit verbundenen Bedarf sowohl an Priming als auch kardioplegischer Lösung) resultieren, bewertete [64, 65, 68]. Darüber hinaus wurden die BGAs in diesen Studien generell in einem sehr limitierten Umfang angefertigt (bevor, teilweise zwei Minuten nach Beginn des CPBs oder während des Wiedererwärmens und am Ende der Operation oder ausschließlich in der postoperativen Phase). Eine Laktatazidose in diesen Studien war entweder mild oder, wie in den meisten Fällen, nicht existent. Aufgrund des annähernd konstanten Kohlenstoffdioxidpartialdrucks um den physiologischen Wert von 40 mmHg kann ein nennenswerter respiratorischer Beitrag zur Genese der initial nach Beginn des CPBs beobachteten Azidose ausgeschlossen werden (Abbildung 11 C), sodass es sich ausschließlich um eine Azidose metabolischen Ursprungs handelte. Anhand der gezeigten Konstanz des Kohlenstoffdioxidpartialdrucks zu Beginn des CPBs lässt sich die Entwicklung der Dilutionsazidose gemäß des eingangs erläuterten traditionellen Dilutionskonzept erklären, nach dem sich eine Dilutionsazidose in solchen Situationen manifestiert, in denen das im Blut

des Patienten enthaltene Bicarbonat (als Pufferbase des Kohlenstoffdioxid/Bicarbonat-Puffersystems) massiv mit bicarbonatfreier Lösung bei gleichbleibendem Kohlenstoffdioxidpartialdruck (als Ausgangssubstanz für die korrespondierende Säure Kohlensäure des Kohlenstoffdioxid/Bicarbonat-Puffersystems) verdünnt wird [76, 77]. Mit der im Rahmen der Operation notwendigen maschinellen Beatmung wird dem Patienten die Möglichkeit der respiratorischen Kompensation genommen. Eine Senkung des Kohlenstoffdioxidpartialdrucks durch gezielte Einstellung des Frischgasflows analog zur Verdünnung der Bicarbonatkonzentration zum Zwecke der Konstanthaltung des Quotienten aus Base und Säure des Kohlenstoffdioxid/Bicarbonat-Puffersystems, wäre sinnvoll. Eine solche Steuerung ist über die Realtime-Messung des Kohlenstoffdioxidpartialdrucks an der HLM prinzipiell möglich. Die Entwicklung einer Dilutionsazidose zu Beginn des CPBs könnte somit durch adäquate Ventilation abgeschwächt werden.

In der vorliegenden Studie wurde entsprechend dem Ausmaß der metabolischen Azidose eines jeden Patienten Natriumbicarbonat Lösung verabreicht. Innerhalb der ersten zwanzig Minuten des CPBs betrug die verabreichte Menge im Mittel 54 mmol, in der restlichen Zeit während CPBs (wenngleich variabel) zusätzlich 41 mmol. Parallel zu der 30%igen Abnahme der Hämoglobinkonzentration (bedingt durch die stattgefundenene Hämodilution) innerhalb der ersten zwanzig Minuten während CPBs (Abbildung 9) ist eine Abnahme des BE von ebenfalls etwa 30% erwartet worden (auf ca. -7,0 mEq/L). Im Gegensatz zu dem tatsächlich gemessenen Wert von -3,3 mEq/L ist der berechnete Wert von -7,0 mEq/L deutlich kleiner. Somit ist eine Dilutionsazidose ohne Bicarbonatgabe deutlich prominenter. Dies lässt sich anhand jener BE-Werte bestätigen, die um die jeweils patientenindividuell verabreichte absolute Menge an Natriumbicarbonat korrigiert sind (Abbildung 12). Der Mittelwert des korrigierten BE liegt bei -5,6 mEq/L und somit deutlich unterhalb des gemessenen Wertes von -3,3 mEq/L. Bedingt durch die Tatsache, dass der Zeitpunkt der ersten BGA nach Beginn des CPBs um mehrere Minuten variierte, muss davon ausgegangen werden, dass der Wert von -5,6 mEq/L aufgrund der transienten Natur der Dilutionsazidose möglicherweise durch das Einsetzen körpereigener Kompensationsmechanismen bereits abgeschwächt war. Des Weiteren zeigten sowohl pH-Wert als auch BE eine Restriktion der Dilutionsazidose auf ein kurzes Zeitintervall nach Beginn des CPBs. In der vorliegenden Studie beschränkte sich die Dauer auf zwanzig Minuten. Die Vermutung liegt nahe, dass ohne die exogene Verabreichung von Bicarbonat die Ausprägung der Dilutionsazidose nicht nur deutlich profunder, sondern auch langanhaltender ausfällt. Nichtsdestotrotz behält sie, bedingt durch grundlegende körpereigene Kompensationsmechanismen wie einer hohen intrazellulären Pufferkapazität sowie renale Mechanismen, immer einen transienten Charakter [12, 74, 81, 94]. Möglicherweise trägt ebenso die Freisetzung von Bicarbonat aus Knochen zu einer Kompensation bei. Wenngleich die klinische Relevanz der Dilutionsazidose oftmals umstritten ist, so stellt die bedarfsadaptierte, aber routinemäßige Verabreichung von Natriumbicarbonat den besten Beweis für eine Relevanz dar.

Die zeitliche Limitierung der Dilutionsazidose sowohl aufgrund von Bicarbonatgabe als auch physiologischer Kompensationsmechanismen erfordert für ihre Manifestation eine hohe Infusionsrate gepaart mit einem großen Infusionsvolumen. Diese Erkenntnis stimmt mit Ergebnissen von Shires und Holman überein, die in einer experimentellen Studie an Hunden eine Infusionsrate von mindestens 300 ml/min zur Produktion ausgeprägter Verdünnungseffekte beschrieben [71]. Die offensichtlich hohe Infusionsrate, die für die Ausbildung einer Dilutionsazidose benötigt wird, kann nicht durch herkömmliche Infusionen

zur Substitution von Flüssigkeitsverlusten (über die Atemwege oder dem Operationsgebiet) oder zur Medikamentenapplikation erwirkt werden und könnte neben intraoperativer Bicarbonatgabe und zu langen Zeitintervallen zwischen einzelnen BGAs der Grund sein, warum viele Wissenschaftler in vorherigen Untersuchungen keine offensichtliche Dilutionsazidose sahen und ihr somit keine Relevanz zuschrieben [80]. Nichtsdestotrotz existieren vereinzelt klinische Situationen jenseits des Gebrauchs eines CPBs, in denen ein sehr großes Volumen verabreicht wird. Wie in zwei Fallberichten demonstriert wurde, kann dies ebenfalls zu einer Dilutionsazidose führen [73, 80].

Zur Infusionstherapie wurde im Rahmen der durchgeführten Beobachtungsstudie mit Jonosteril eine acetathaltige Lösung verwendet (Zusammensetzung: Tabelle 23). Während des Zeitraumes des CPBs wird die Infusionstherapie durch den Anästhesisten unterbrochen. Wie der Verlauf des BE-Werts der tierexperimentellen Daten zeigt (Abbildung 24), erfolgt die Verstoffwechslung des Acetats (gemessen an der relativen Erhöhung des BE), wie in der Literatur postuliert [95, 96], überaus rasch, sodass eine maßgebliche Beeinflussung der Dilutionsazidose durch etwaige anhaltende Verstoffwechslung zuvor infundierten Acetats unwahrscheinlich ist.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass bei Bypass-Patienten im Rahmen der hier durchgeführten Beobachtungsstudie während der Phase des CPBs eine transiente Dilutionsazidose, die innerhalb dieser Phase die einzige Störung des Säure-Base-Haushalts darstellte. Im Allgemeinen tritt die Dilutionsazidose nach Verabreichung bicarbonatfreier Volumens auf, jedoch ist ihre klinische Bedeutung auf solche Situationen limitiert, in denen große Volumina bicarbonatfreier Lösungen in die Zirkulation des Patienten innerhalb einer extrem kurzen Zeitspanne, wie im Falle des CPBs, eingebracht werden. In diesen Fällen kann der Entwicklung der Dilutionsazidose größtenteils mit der Verabreichung von Natriumbicarbonat Lösung begegnet werden.

## **5.2 Denkbare Ansätze zur Reduzierung des Ausmaßes einer intraoperativen Dilutionsazidose**

Neben der bereits angesprochenen möglichen Anpassung der Ventilation des Patienten zu Beginn des CPBs zur Reduzierung des Kohlenstoffdioxidpartialdrucks während der Verdünnung des Bicarbonats durch den Eintrag von sowohl der Priming als auch der kardioplegischen Lösung ist es ebenso denkbar, zumindest einen Teil letztgenannter Lösung über den sogenannten Kardiotomie-Sauger der HLM abzusaugen und auf diese Weise ein Einbringen in den systemischen Kreislauf des Patienten zu vermeiden bzw. deutlich zu reduzieren. Bei Umsetzung zumindest einer dieser Möglichkeiten lässt sich das Ausmaß der Dilutionsazidose und somit das Volumen benötigter Natriumbicarbonat Lösung reduzieren. Jedoch muss für die Absaugung der kardioplegischen Lösung anstatt der venösen Kanülierung mit einer Zweistufenkanüle eine bicavale Doppelkanülierung erfolgen. Diese erfordert zusätzliche Eröffnungsstellen und birgt dadurch eine erhöhte Gefahr postoperativer Nahtblutungen. Darüber hinaus besteht eine Verletzungsmöglichkeit durch Mobilisierung der Hohlvenen, sodass in den meisten Fällen von dieser Technik abgesehen und der Eintrag der kardioplegischen Lösung und somit ein größeres Maß der Dilutionsazidose in Kauf genommen wird. Eine Verminderung der Dilutionsazidose und des damit verbundenen verminderten Bedarfs an Natriumbicarbonat Lösung sollte dennoch stets angestrebt werden, da dessen Verabreichung in der Vergangenheit aufgrund nachteiliger Effekte wiederholt kontrovers diskutiert wurde. So konnte durch die Korrektur der Azidose die kardiovaskuläre Antwort auf zirkulierende Katecholamine im Sinne einer verbesserten Hämodynamik bei

Patienten mit Laktatazidose nicht wie erhofft verbessert werden [97-99]. Darüber hinaus soll Bicarbonat die Verfügbarkeit von Calciumionen, die für die Kontraktilität des Myokards benötigt werden [100] reduzieren, bedingt durch Komplexbildung als auch Erhöhung des pH-Wertes. Nach Verabreichung von Natriumbicarbonat-Lösung reagiert Bicarbonat mit Protonen zu Kohlenstoffdioxid und Wasser, wodurch der Kohlenstoffdioxidpartialdruck ansteigt. Ein solcher Anstieg ist besonders während der ersten zwanzig Minuten des CPBs ebenfalls in den vorliegenden Daten zu erkennen (Abbildung 11 C). Zur Konstanthaltung des Kohlenstoffdioxidpartialdrucks wäre in Ergänzung zu bereits oben genanntem Argument im Rahmen der Dilution eine angepasste Ventilation (Hyperventilation zur Absenkung des Kohlenstoffdioxidpartialdrucks) notwendig. Diese Aspekte bleiben oftmals unberücksichtigt, sodass dies in einem Anstieg des Kohlenstoffdioxidpartialdrucks resultiert. Das vermehrt gebildete Kohlenstoffdioxid vermag aufgrund seiner ausgeprägten Diffusibilität in die Zelle eintreten, wodurch zusätzlich eine intrazelluläre Azidifizierung entsteht. Diese beeinflusst das Ausmaß der möglichen Kompensation der ursprünglichen extrazellulären Azidose, da die intrazelluläre Pufferkapazität in einem solchen Fall eingeschränkt ist. Ein weiterer denkbarer Ansatz zur Reduzierung der Dilutionsazidose besteht in der Verabreichung einer Priming-Lösung, welche ein metabolisierbares Anion enthält.

### **5.3 Auswirkungen der Histidininkorporation im Patienten**

Im Gegensatz zur signifikanten Verdünnung des endogenen Bicarbonats durch die Verabreichung von Priming und kardioplegischer Lösung, welche in einer offensichtlichen Dilutionsazidose resultierte, sollte die Volumengabe einen zwar unbekanntem aber begrenzten Einfluss auf die Dilution der Aminosäureserumspiegel ausüben, da aufgrund der rasch einsetzenden Umwandlung des aufgenommenen Histidins in andere Aminosäuren diese stetig nachgebildet werden. Die Patienten erhielten im Rahmen der Induktion des kardioplegischen Arrests durchschnittlich 1,6 L kardioplegische Lösung (Tabelle 14). Aufgrund der Höhe des verabreichten Volumens sowie einer Histidinkonzentration von 198 mM (Zusammensetzung: Tabelle 22) wurde eine Absolutmenge von etwa 300 mmol Histidin inkorporiert. Unter der Annahme eines durchschnittlichen Blutvolumens von 5,2 L (Berechnung mittels der Formel von Nadler [84], Formel 3) ist eine plasmatische Histidinkonzentration von etwa 60 mM zu erwarten. Dagegen wurden einige Minuten nach Verabreichung jedoch nur rund 20 mM gemessen. Der große Konzentrationsgradient zwischen der aktuellen Histidinkonzentration und der physiologischen Konzentration von etwa 70  $\mu$ M legen die Beteiligung des Interstitiums als Verteilungsraum nahe. Die Einbeziehung des gesamten extrazellulären Raums (Intravasalraum plus Interstitium), welcher dem 2,9-fachen des Blutvolumens entspricht [101], ergibt eine gleichmäßige Histidinkonzentration von etwa 20 mM. Aufgrund der Übereinstimmung zwischen diesem berechneten und dem gemessenen Wert von ungefähr 20 mM wird deutlich, dass bereits sehr schnell nach Inkorporation ein Gleichgewicht zwischen diesen beiden Kompartimenten erreicht wurde. Die stete intraoperative Abnahme der plasmatischen Histidinkonzentration von 20 mM auf 8 mM (Abbildung 13 A) weist auf eine zusätzliche Beteiligung des intrazellulären Kompartiments sowohl als Verteilungsraum als auch als Voraussetzung für die potentielle Metabolisierung hin. Zusätzlich zu einer solchen Umverteilung zwischen den Kompartimenten wird die plasmatische Histidinkonzentration ebenso durch renale Exkretion gesenkt. Unter physiologischen Bedingungen macht der ausgeschiedene Anteil aufgrund einer wesentlichen Reabsorption im proximalen Tubulus in etwa 5% aus [102]. Der nach Verabreichung der kardioplegischen Lösung massiv erhöhte plasmatische Histidinspiegel von etwa 20 mM (Abbildung 13 A) führt im intraoperativen Intervall (im Durchschnitt knapp fünf Stunden) zu einer Ausscheidung

von 6760  $\mu\text{mol}$  Histidin/mmol Kreatinin, dem 42-fachen des oberen Referenzwertes. Somit war die intraoperative Histidinausscheidung massiv gesteigert. Die ausgeschiedene Menge entsprach etwa 7% der infundierten Menge (Kapitel 4.1.2, Abbildung 15 A, Tabelle 15). Aufgrund der sehr viel höheren absoluten Histidinmenge nach Verabreichung der kardioplegischen Lösung im Vergleich zu physiologischen Bedingungen (300 mmol vs. 370  $\mu\text{mol}$ ), liegt trotz eines ähnlichen Prozentsatzes eine massiv gesteigerte Ausscheidung während des intraoperativen Intervalls vor. Da Aminosäuren generell zunächst filtriert werden und anschließend mit Hilfe eines Carriers aktiv rückresorbiert werden, war eine solche Steigerung der Ausscheidung aufgrund der Überlastung des beteiligten Transporters wahrscheinlich. Der im Rahmen dieser Arbeit ermittelte Prozentsatz des ausgeschiedenen Histidins von 7% steht in Übereinstimmung mit einer Untersuchung von Doetsch *et al.*, in der die renal ausgeschiedene Histidinmenge in den ersten 72 postoperativen Stunden insgesamt 20% der verabreichten Menge betrug [103]. Die Urinanalyse bestätigt demnach, dass ein gewisser Anteil des infundierten Histidins ohne vorherige Metabolisierung ausgeschieden wird. Diese ausgeschiedene Menge kann somit im Rahmen des Stickstoff-Metabolismus keinen Einfluss auf den Säure-Base-Haushalt ausüben.

Der humane Organismus verfügt prinzipiell über zwei Wege, anhand derer Histidin spezifisch abgebaut wird [103-105]. Zum einen kann Histidin über Urocaninsäure zu Glutamat abgebaut werden. Zum anderen besteht die Möglichkeit der Decarboxylierung, bei der Histidin über verschiedene Intermediate zu Aspartat umgewandelt wird. In Übereinstimmung mit den postulierten Abbauwegen stiegen die intraoperativen plasmatischen Konzentrationen von sowohl Aspartat als auch Glutamat an (Abbildung 13 B, C). Aspartat im Plasma erreichte am Ende der Operation mit ungefähr 1,5 mM einen Wert, der eine 63-fache Erhöhung des oberen Wertes des Referenzbereichs von 25  $\mu\text{M}$  [106] darstellt. Im Gegensatz dazu stieg die plasmatische Glutamatkonzentration auf 362  $\mu\text{M}$ , dem 2,8-fachen des oberen Endes des Referenzbereichs von 130  $\mu\text{M}$  [106]. Nach Beenden des CPBs erhielten die Patienten bedarfsadaptiert eine Kaliumaspartat Lösung (entsprechend der verbleibenden Operationsdauer und einem durchschnittlichen Volumen von etwa 50 ml/h ergibt sich eine verabreichte Aspartatmenge von guten 20 mmol). Hierdurch lässt sich zum einen der im operativen Verlauf spätere Anstieg der plasmatischen Aspartatkonzentration im Gegensatz zu den Verläufen anderer Aminosäuren erklären. Zum anderen wird durch diese Tatsache die quantitativ größere Zunahme der Aspartatkonzentration im Vergleich zur Glutamatkonzentration relativiert. Demnach stehen die Ergebnisse in Übereinstimmung mit der Literatur, wonach der Abbau des Histidins über Urocaninsäure mit Glutamat als Endprodukt den dominanten Abbauweg darstellt [107, 108]. Die Urinanalyse zeigte, dass bei Operationsende die Glutamatausscheidung bei 126  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin lag und somit um den Faktor drei über der oberen Grenze des Referenzintervalls von 37  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin (Abbildung 15 C), wohingegen die Aspartatausscheidung zu diesem Zeitpunkt 2,2  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin betrug (Abbildung 15 B) [106]. Wie bereits oben erwähnt, werden Aminosäuren zunächst filtriert und im Anschluss zu einem Großteil aus dem Filtrat in die proximalen Tubuluszellen der Niere resorbiert. Da Aspartat und Glutamat aufgrund ihrer gleichen chemischen Nettoladung bei physiologischem pH-Wert mit Hilfe des gleichen Carriers rückresorbiert werden, liegt bedingt durch die massive Rückresorption von Aspartat (geringe Steigerung der Ausscheidung von 1,4  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin auf nur 2,2  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  Kreatinin, Abbildung 15 B) eine kompetitive Hemmung des Transporters durch Aspartat nahe, sodass Glutamat kaum vermehrt rückresorbiert werden kann. Hierdurch ist die stärkere Glutamatausscheidung sowie die niedrigere plasmatische



Glutamatkonzentration im Gegensatz zu Aspartat zu erklären. Zusätzlich zu diesen beiden spezifischen Abbauwegen existieren weitere unspezifische Wege, die durch eine Umwandlung der Aminosäureseitenkette charakterisiert sind. Sobald die spezifischen Mechanismen aufgrund einer hohen Histidinkonzentration überlastet sind, werden solche unspezifischen Wege aktiviert, die Aminosäuren mit kurzen unverzweigten Seitenketten liefern. Auf diese Weise werden in Abhängigkeit der Kohlenstoffkettenlänge und etwaiger Hydroxylierung Glycin, Alanin oder Serin erhalten. Die plasmatischen Konzentrationen dieser drei Aminosäuren stiegen im Verlauf der Operation an, wenngleich auch in verschiedenem Ausmaß (Abbildung 14 A-C). Glycin als auch Serin blieben im Referenzintervall von 150  $\mu\text{M}$  - 490  $\mu\text{M}$  bzw. 60  $\mu\text{M}$  - 180  $\mu\text{M}$  [106]. Alanin hingegen stieg von einem Initialwert von 300  $\mu\text{M}$  auf 800  $\mu\text{M}$  bei Operationsende, welches dem 1,4-fachen des oberen Referenzwertes von 580  $\mu\text{M}$  entspricht [106]. Der Grund für den deutlicheren Anstieg der Alaninkonzentration im Gegensatz zu jenen von Glycin und Serin kann in Transaminierungsreaktionen mit Glutamat oder Histidin selbst liegen. Letztgenannte Reaktion kommt unter physiologischen Bedingungen nur selten vor, gewinnt jedoch in bestimmten Krankheitsbildern, die mit einer Histidinämie einhergehen, an Bedeutung [105]. Im Rahmen einer Histidinämie, welche eine Stoffwechselstörung mit erhöhter plasmatischer Histidinkonzentration aufgrund der Defizienz eines abbauenden Enzyms (Histidase) kennzeichnet [109], können plasmatische Histidinkonzentrationen von bis zu 1,8 mM erreicht werden [107, 110]. Aufgrund einer deutlich höheren Histidinkonzentration als 1,8 mM nach Induktion des kardioplegischen Arrests (20 mM), ist die Erhöhung des Alanins im Gegensatz zu Glycin und Serin plausibel. Zusätzlich muss die physiologische Rolle des Alanins mit konsekutivem Konzentrationsanstieg berücksichtigt werden, welche im Stickstoff-Transport zwischen Skelettmuskulatur und Leber innerhalb des sog. Glukose-Alanin-Zirkels besteht. Aufgrund der enormen Menge an eingetragenen Stickstoff, die die Leber zu entsorgen hat, muss ein Rückstau des Alanins ebenso bedacht werden. Während der operativen Phase nahm die ausgeschiedene Menge von Glycin, Alanin und Serin leicht zu, blieb jedoch innerhalb des Referenzbereiches (Abbildung 16 B-D). Die Plasmakonzentrationen von Glutamin und Asparagin nahmen im Laufe der Operation ebenso zu, wenn auch in geringerem Ausmaß (Abbildung 13 D, Abbildung 14 A). Aufgrund ihres Vermögens eine zusätzliche Aminogruppe aufzunehmen, repräsentieren diese Aminosäuren eine weitere Möglichkeit Stickstoff vorübergehend zu speichern. Ein nur geringer messbarer Anstieg von Glutamin kann zum einen durch den steten Katabolismus zum Zwecke der Ammoniumsynthese erklärt werden. Zum anderen liegt eine in Bezug auf den oberen Grenzwert des Referenzwertes um den Faktor 2,6 gesteigerte renale Glutaminausscheidung vor (Abbildung 15 D). Carnosin ( $\beta$ -Alanyl-Histidin), 1-Methylhistidin sowie 3-Methylhistidin als weitere Abbauprodukte des Histidins [105, 110] blieben im Plasma unter der jeweiligen Nachweisgrenze von einigen wenigen Mikromol (Daten nicht gezeigt). Auch im Urin zeigte sich eine gegenüber dem Basalniveau unveränderte Ausscheidung dieser drei Metabolite (Daten nicht gezeigt). Aufgrund ihres minimalen quantitativen Vorkommens blieben sie sowohl in Bezug auf die Stickstoff-Bilanzierung als auch den Säure-Base-Haushalt unberücksichtigt. Der intraoperative Anstieg der verschiedenen Aminosäuren (insgesamt 41 mmol) beträgt ungefähr drei Viertel der Gesamtmenge des abgebauten Histidins im beobachteten intraoperativen Intervall, welche durch die Summe der Differenzen zwischen den Basiswerten und jenen Werten am Ende der Operation der einzelnen Aminosäuren sowie Harnstoff und Ammonium (s. unten) repräsentiert wird (52 mmol).

Typischerweise wird die  $\alpha$ -Aminogruppe einer Aminosäure zusammen mit Bicarbonat, welches aus dem Abbau der verbleibenden  $\alpha$ -Ketosäure entsteht, zu Harnstoff konvertiert. Histidin besitzt jedoch zusätzlich zu seiner  $\alpha$ -Aminogruppe zwei weitere im Imidazolring lokalisierte Stickstoff-Atome. Im Verlaufe des Histidinabbaus müssen diese entweder als Harnstoff oder als Ammonium ausgeschieden werden. Die plasmatische Konzentrationen von Harnstoff und Ammonium mit steten intraoperativen Werten um 30 mg/dL (5 mM) bzw. 90  $\mu$ g/dL (50  $\mu$ M) (Kapitel 4.1.4) stehen in Übereinstimmung mit dem jeweils physiologischen Level [111, 112] und bestätigen die enge Regulation harnpflichtiger Substanzen im Plasma. Im Gegensatz zu den gemessenen weitestgehend konstanten Konzentrationen im Plasma stieg die intraoperative Ausscheidung dieser beiden Substanzen von 9,5 mmol/h auf 10,1 mmol/h (Harnstoff, Abbildung 17) bzw. 1,1 mmol/h auf 2,6 mmol/h (Ammonium; unveröffentlichte Daten). Unter quantitativen Gesichtspunkten beliefen sich die absoluten Steigerungen auf 3 mmol bzw. 8 mmol in Bezug auf die jeweiligen Basiswerte. Daher repräsentieren (unter Berücksichtigung des Stickstoffgehalts der jeweiligen Substanzen) Harnstoff (6 mmol Stickstoff) und Ammonium (8 mmol Stickstoff) im Gegensatz zu der in Aminosäuren gespeicherten Menge (46 mmol Stickstoff) intraoperativ lediglich einen kleinen Anteil von stickstoffhaltigen Stoffwechselprodukten, welche aus dem Histidinabbau resultieren.

Wie bereits erläutert (Kapitel 1.1), sind aufgrund des Bicarbonatverbrauchs im Rahmen der Harnstoffsynthese Stickstoff- und Säure-Base-Haushalt eng miteinander verknüpft. Dem hohen Stickstoff-Eintrag im Rahmen der Kardioplegie und dem damit verbundenem Bedarf der Entsorgung geschuldet, wird intraoperativ nicht nur die Ammoniumausscheidung erhöht, sondern ebenso jene des Harnstoffs. Demnach wird durch die vermehrte Harnstoffbildung der Säure-Base-Haushalt im Sinne einer Azidose beeinflusst; bedingt durch den moderaten Anstieg der Harnstoffsynthese sollte das Basendefizit jedoch nur 6 mmol (entsprechend einem BE von etwa -1 mEq/L) betragen. Für die postoperative Phase wird ein fortwährender Histidinmetabolismus postuliert, sodass der durch die Harnstoffausscheidung bedingte azidifizierende Effekt im weiteren Verlauf an Ausmaß gewinnt.

Zusätzlich zu dem auf dem Stickstoffgehalt beruhenden Einfluss auf den Säure-Base-Haushalt übt das Histidin ebenso einen direkten Einfluss aus. Gemäß den Gesetzen der physikalischen Chemie besitzt der  $pK_S$ -Wert des Imidazolrings des Histidins eine Temperatursensitivität. Bei der Lagerungs- und Verabreichungstemperatur der histidinhaltigen kardioplegischen Lösung von 4 °C beträgt der  $pK_S$ -Wert 6,51 (Berechnung auf Grundlage eines  $pK_S$ -Wertes von 6,04 bei 25 °C [113]). Bei Einbringen der Lösung in die systemische Zirkulation des Patienten betrug die Temperatur des Patienten in etwa 36 °C, aufgrund der gerade erst begonnenen Einleitung einer milden systemischen Hypothermie, wie sie typischerweise bei Koronararterien-Bypässen (CABG) Operationen Verwendung findet. Der  $pK_S$ -Wert des Imidazolrings des Histidins beträgt bei 36 °C jedoch nicht mehr 6,51 sondern 5,92. Dementsprechend nimmt der Deprotonierungsgrad mit steigender Temperatur zu. Werden das oben bereits erwähnte verabreichte Volumen von 1,6 L, die Histidinkonzentration von 198 mM sowie die aktuellen plasmatischen pH-Werte des Patienten (pH 7,4 zu Beginn der Operation, pH 7,3 nach Beginn des CPBs, Abbildung 11) berücksichtigt, so lässt sich mit Hilfe der Henderson-Hasselbalch-Gleichung eine Menge von etwa 27 mmol Protonen (entsprechend einer Zunahme im Grad der Deprotonierung von 8,4%) berechnen, die alleinig durch die Erhöhung der Temperatur freigesetzt wurden (Tabelle 16). Quantitativ stellt die Deprotonierung in der intraoperativen Phase einen größeren azidifizierenden Effekt dar, als

die durch den Metabolismus bedingte Freisetzung von Protonen, welche in diesem Intervall eine untergeordnete Rolle zu spielen scheint. Der Einfluss des Metabolismus sollte jedoch, wie bereits erwähnt, in der postoperativen Phase wachsen und somit an Bedeutung gewinnen.

Zusammenfassend lässt sich eine tendenzielle Vergrößerung der dilutionsbedingten metabolischen Azidose durch die vermehrte Stickstoffausscheidung festhalten. Nichtsdestotrotz scheint der Organismus über eine effektive Strategie zur Kompensation zu verfügen, die zu einem veränderten Metabolismus in den postoperativen Tagen führen wird.

#### **5.4 Ursachen der Laktatazidose im Patienten**

Die gemessenen Laktatwerte unterliegen aufgrund der massiven Einfuhr verschiedenster laktatfreier Volumenprodukte (z. B. Priming Lösung, Infusionen, kardioplegische Lösung, Tabelle 14) einer erheblichen Verdünnung. Bei Korrektur der gemessenen Laktatwerte um den jeweiligen Verdünnungsfaktor liegen die Werte deutlich oberhalb jener gemessener. Demnach sind die dargestellten Werte eher konservativ zu betrachten und unterschätzen tendenziell die tatsächlich vorliegende Konzentration. In jeglichen Publikationen wird die iatrogene Verdünnung des Laktats jedoch ebenso wenig berücksichtigt. Aus Gründen der Vergleichbarkeit ist im Rahmen dieser Arbeit deshalb von einer Korrektur abgesehen worden.

Der perioperative Anstieg der systemischen Laktatkonzentration während kardialer Operationen unter Verwendung eines CPBs ist vielfach beschrieben [68-70, 114, 115]. Studien mit Patientenkollektiven, die sich komplexen Eingriffen wie Herztransplantation, Korrektur angeborener Herzfehler oder Herzklappeneingriffe unterzogen, welche in einer langen CPB als auch Cross-Clamp Zeit resultierten, berichteten über deutliche Zunahmen der systemischen Laktatkonzentration während CPBs [68-70]. Andere Studien mit Eingriffen, die zu einer mittleren Cross-Clamp Dauer von nur etwa 50 min führten, zeigten lediglich moderate Anstiege der Laktatkonzentration [114, 115]. Die Korrelation zwischen CPB Dauer und damit einhergehenden Cross-Clamp Dauer und einer Zunahme arterieller Laktatkonzentration ist bereits beschrieben [116, 117]. In der vorliegenden Beobachtungsstudie war die Laktatproduktion während CPBs nur gering. Die gemessenen Werte stiegen im Mittel von 0,9 mM auf 1,3 mM an (Abbildung 11, Abbildung 18). Basierend auf diesem Ergebnis kann eine nennenswerte Beeinflussung der dilutionsbedingten Azidose durch simultane Laktatazidose ausgeschlossen werden. Aufgrund der mutmaßlichen Minderversorgung sämtlicher Organe mit Sauerstoff durch den niedrigen nicht-pulsatilen Perfusionsdruck von 50 mmHg – 60 mmHg während des CPBs ist eine vermehrte anaerobe Glykolyse und damit einhergehender Laktatproduktion wahrscheinlich. Zum anderen ist eine eingeschränkte Leberfunktion aufgrund ihrer eigenen Minderperfusion denkbar, sodass es hierdurch konsekutiv zu einer verminderten Clearance kommt, welche unter physiologischen Bedingungen etwa 50 mM pro Stunde beträgt [5]. Da die hepatische Clearance prinzipiell um das Zehnfache gesteigert werden kann, die Laktatwerte aber dennoch ansteigen, scheint eine Beeinträchtigung der Leber in diesem Kontext eine zentrale Rolle zu spielen. Direkt nach Beendigung des CPBs lag der Laktat-Wert bei 1,9 mM (Abbildung 18). Dieser nahm bis zum OP-Ende weiterhin kontinuierlich bis auf 2,5 mM zu, wobei diese Zunahme größer war als zwischen Anfang und Ende des CPBs. Da der Grenzwert, ab dem per Definition von einer Laktatazidose gesprochen wird, bei 2 mM liegt [5, 53], besteht erst nach Beenden des CPBs eine Laktatazidose. Bedingt durch die während der Zeit des CPBs totale Ischämie sowohl des Myokards als auch der Lunge wird nach dessen Beenden zuvor gebildetes Laktat aus diesen Organen in die Zirkulation ausgeschwemmt. Zusätzlich findet in diesem Zeitraum die

Erwärmung von 32 °C auf 37 °C statt, wodurch der systemische Sauerstoffverbrauch steigt [118]. Da in der vorliegenden Studie nur isolierte Eingriffe zur Anlage von CABG durchgeführt wurden, waren die Cross-Clamp Zeiten insgesamt moderat (Tabelle 13), sodass der mäßige Laktatanstieg im Einklang mit der Literatur steht. Die Lokalisation maximaler intraoperativer Laktatkonzentrationen nach Beenden des CPBs, teils bis in die postoperative Phase hineinreichend, steht in Übereinstimmung mit der Literatur [53, 115, 119-121]. Studien, bei denen die verwendeten Priming Lösungen selbst Laktat enthielten, beschrieben in manchen Fällen einen Peak der Laktatkonzentration bereits während CPBs [69, 122]. Aufgrund einer solchen exogenen Zufuhr gaben die gemessenen Laktatkonzentrationen hinsichtlich der Evaluierung der endogenen Produktion jedoch ein verfälschtes Bild ab.

Die intraoperative Zunahme der Laktatkonzentrationen wird maßgeblich von der Verwendung eines CPBs bestimmt. Bei vergleichenden Studien zwischen CABG-Operationen unter Verwendung einer HLM im Rahmen eines CPBs („on-pump“) im Vergleich zu solchen ohne Verwendung einer HLM („off-pump“) zeigt sich nach Infusion laktathaltiger Lösungen eine schnellere Metabolisierung und somit eine zügigere Abnahme des plasmatischen Laktats in den *off-pump*-Gruppen [123, 124]. Dieser Befund erhärtet die zuvor genannten Vermutungen über die Gründe zur Entstehung einer Laktatazidose während Operationen unter Verwendung einer HLM.

### **5.5 Einschränkungen der Beobachtungsstudie**

Aufgrund des beobachtenden Charakters dieser Studie waren sowohl die Zeitpunkte der Blutentnahmen, die verabreichten Volumina der Priming Lösung als auch der kardioplegischen Lösung nicht kontrolliert, jedoch standardisiert nach klinikinterner Routine. Darüber hinaus wurde, aufgrund der Beteiligung von nur einem Studienzentrum, ausschließlich 0,9% NaCl Lösung als Priming Lösung verwendet, wenngleich derzeit die Zusammensetzung zwischen verschiedenen Kliniken stark variiert [125]. Die Intention der vorliegenden Studie lag jedoch nicht im Vergleich verschiedener Priming Lösungen, sondern sollte die generelle Existenz der Dilutionsazidose bei Gebrauch einer HLM belegen. Sofern die Priming Lösung eine niedrigere Bicarbonatkonzentration enthält als die physiologische Konzentration, ist die Entwicklung der Dilutionsazidose unabhängig der genauen Zusammensetzung, da sie unmittelbar nach Inbetriebnahme der HLM entsteht. Zu diesem Zeitpunkt sind möglicherweise enthaltene metabolisierbare Anionen noch nicht verstoffwechselt.

### **5.6 Begründung des Tiermodells**

Für die systematische Untersuchung einer (dilutionsbedingten) metabolischen Azidose wurde das Modell der normovolämischen Hämodilution gewählt, da dieses Modell den Austausch eines sehr großen Volumens erlaubt. Mögliche Veränderungen im Säure-Base-Haushalt werden hierdurch besonders deutlich. Anders als im Modell des hämorrhagischen Schocks, bei dem während der Reperfusionphase ebenfalls große Volumina zur Restitution verabreicht werden, besteht im Modell der normovolämischen Hämodilution zu keiner Zeit der Einfluss pathologischer Mechanismen wie die Zentralisierung des Blutes oder ein Ende der aeroben Glykolyse. Zusätzlich besteht bei Normovolämie keine Anurie wie im Falle eines hämorrhagischen Schocks. Die Werte der plasmatischen Laktatkonzentration blieben in allen Versuchsgruppen bis zum Versuchsende unterhalb von 2 mM (Abbildung 31), sodass die Tiere nicht unter einer offensichtlichen ischämischen Hypoxie litten, trotz der Schwere der

experimentellen normovolämischen Hämodilution, erkennbar an einem systemischen Hämatokrit von 10% (Abbildung 19). Aufgrund der Entfernung großer Mengen Protein und weiterer osmotisch aktiver Substanzen aus dem Intravasalraum im Zuge der normovolämischen Hämodilution ist die Verwendung einer kolloidalen im Gegensatz zu einer kristalloiden Volumensubstitutionslösung aufgrund des deutlich größeren Volumeneffektes unbedingte Voraussetzung zum Erhalt intravasculären onkotischen Drucks bei einem systemischen Hämatokrit von 10% und somit hämodynamischer Stabilität, erkennbar an einem MAP größer 60 mmHg (Abbildung 20) und einer Herzfrequenz zwischen 300 Schlägen/Minute und 400 Schlägen/Minute (Abbildung 21).

### **5.7 Erzeugung der Dilutionsazidose im Tiermodell**

Ungeachtet der Auswirkungen auf den Säure-Base-Haushalt eignen sich alle hier eingesetzten kolloidalen Volumensubstitutionslösungen (Voluven, Volulyte und Gelafundin) für eine schwere normovolämische Hämodilution. Alle Tiere überlebten die gesamte Versuchsdauer, obwohl der Grad der Hämodilution mit Erreichen des unteren Grenzwertes des kritischen Hämatokrits, welcher zwischen 10% und 15% liegt [126], maximal war (Abbildung 19).

Der BE als Marker für ausschließlich metabolische Veränderungen im Säure-Base-Haushalt zeigte für die Volulytegruppe als einzige der drei Versuchsgruppen positive und im Vergleich zu den anderen Gruppen signifikant höhere Werte während der Dilutionsphase (Abbildung 24). Sowohl die Werte der Voluven- als auch Gelafundingruppe nahmen in dieser Phase ab. Durch den Zusatz von Acetat in Volulyte wurde durch Verstoffwechslung dieses metabolisierbaren Anions Bicarbonat generiert, welches die Dilutionsazidose antagonisierte [127]. In der Nachbeobachtungsphase sanken die BE-Werte aller Gruppen, wobei die Tiere, die Voluven erhielten, einen deutlich negativeren BE aufwiesen als solche Tiere, bei denen das abgenommene Volumen durch Gelafundin oder Volulyte substituiert wurde (Abbildung 24). Erstaunlicherweise entsprach in diesem Intervall der BE der Gelafundingruppe jenem der Volulytegruppe, obwohl Gelafundin, im Gegensatz zu Volulyte, kein metabolisierbares Anion enthält. Eine mögliche Erklärung für dieses Verhalten wird im Zusammenhang mit der Ammoniumausscheidung diskutiert (Kapitel 5.8.4). Alle Versuchsgruppen zeigten zum Versuchsende mit BE-Werten zwischen -2,1 mEq/L und -4,5 mEq/L die Existenz einer teils moderaten metabolischen Azidose. Aufgrund des Schweregrads der normovolämischen Hämodilution wurde eine metabolische Azidose von größerem Ausmaß erwartet. Die generelle Existenz mehrerer Kompensationsmechanismen ist hierfür verantwortlich. Das Einsetzen von Kompensationsmechanismen lässt sich ebenfalls am Verlauf des pH-Wertes erkennen, welcher bei Versuchsende trotz bestehender metabolischer Azidose im Referenzbereich lag (Abbildung 23).

### **5.8 Beitrag genereller Kompensationsmechanismen bei metabolischer Azidose im Tiermodell**

Wie eingangs bereits dargestellt (Kapitel 1.1), verfügt der Organismus über vier Mechanismen zur Kompensation möglicher Entgleisungen des Säure-Base-Haushalts (Abbildung 1).

#### **5.8.1 Extrazelluläre Pufferung**

Im Zuge der stufenweisen normovolämischen Hämodilution wurde nicht nur stetig der Hämatokrit sowie die plasmatische Bicarbonatkonzentration erniedrigt, sondern

gleichermaßen die im Blut enthaltenen „Nicht-Bicarbonat“-Puffer. Bedingt durch die Tatsache, dass diese Puffer im Gegensatz zum Kohlenstoffdioxid/Bicarbonat-System geschlossene Systeme darstellen, resultiert ihre Verminderung nicht in einer Generation von Protonen. Durch die Reduzierung der „Nicht-Bicarbonat“-Puffer wurde jedoch die Pufferkapazität stark erniedrigt, sodass die im Rahmen der Dilution erzeugten Protonen weniger gut neutralisiert werden konnten. Entsprechend den Erwartungen hinsichtlich der ubiquitären Metabolisierung des Acetats normalisierte sich der plasmatische pH-Wert der Tiere, die Volulyte als Volumenersatz erhielten, während des Versuchsverlaufs bzw. blieb im physiologischen Referenzbereich. Tiere sowohl der Gelafundin- als auch Voluvengruppe zeigten jedoch ein sehr ähnliches Verhalten, sodass anderen Kompensationsmechanismen eine bedeutendere Rolle zukommt.

### **5.8.2 Respiratorische Kompensation**

Die Tiere aller Versuchsgruppen wiesen nach Narkoseeinleitung eine respiratorische Azidose auf, erkennbar an einem erhöhten Wert des Kohlenstoffdioxidpartialdrucks (Abbildung 25). Diese Tatsache lässt sich durch die generelle atemdepressive Wirkung des Inhalationsnarkotikums Isofluran erklären [128, 129]. Zu Versuchsbeginn wurde für die Narkoseeinleitung im Gegensatz zum weiteren Versuchsverlauf eine höhere Isoflurankonzentration verwendet (2% bei einem Flow von 4 L/min gegenüber 1% - 2% bei einem Flow von 1 L/min). Trotz dieses Nachteils stellt Isofluran für die Inhalationsnarkose das bevorzugte Narkotikum bei der Ratte dar [129]. Im Versuchsverlauf nahm der Kohlenstoffdioxidpartialdruck stetig ab und erreichte Werte im unteren Referenzbereich, welcher definitionsgemäß zwischen 35 mmHg und 45 mmHg liegt (Tabelle 4). Bedingt durch die Möglichkeit der Spontanatmung, im Gegensatz zur mechanischen Beatmung, besaßen die Tiere die Chance einer respiratorischen Kompensation. Durch Variation der Atemfrequenz (Abbildung 22) als auch besonders der Atemtiefe konnte der Kohlenstoffdioxidpartialdruck gesenkt werden, wodurch eine Alkalisierung des Blutes stattfand. Der in der Nachbeobachtungszeit gemessene Kohlenstoffdioxidpartialdruck zwischen 30 mmHg-40 mmHg, welcher somit teils unterhalb des Referenzbereiches lag, belegt eine respiratorische Kompensation (Abbildung 25, Tabelle 4).

### **5.8.3 Intrazelluläre Pufferung**

Bei dieser Art der Pufferung werden, wie bereits beschrieben, extrazelluläre Protonen gegen intrazelluläre Kalium- und/oder Natriumionen ausgetauscht [1, 12-16]. Die intrazelluläre Pufferkapazität ist, im Gegensatz zur extrazellulären Kapazität, durch den hohen Gehalt an Proteinen und Phosphat auch nach profunder Hämodilution gut erhalten [130]. Zellen des Weichteilgewebes, insbesondere Muskelzellen, sind hauptsächlich an der intrazellulären Pufferung beteiligt, wenngleich eine Beteiligung von Knochenzellen in der systemischen Antwort auf Störungen im Säure-Base-Haushalt diskutiert wird [131]. Eine ossäre Beteiligung in der superakuten Form der metabolischen Azidose wie im vorliegenden Fall ist jedoch umstritten [132]. Der Beitrag einer intrazellulären Kompensation ist in dem vorliegenden Versuchsdesign nicht eindeutig zu beantworten, da kein intrazellulärer pH-Wert bestimmt wurde. Zur Verifizierung der in der Literatur postulierten Hypothese der intrazellulären Pufferung sind im Modell der normovolämischen Hämodilution die gemessenen Werte der Elektrolyte Kalium und Natrium sowie die Protonenkonzentration sowohl in Urin als auch in Plasma mit Werten verglichen worden, die anhand von theoretischen Berechnungen bestimmt

wurden (Abbildung 29, Abbildung 30). Diesen Kalkulationen lag das pro Dilutionsschritt abgenommene Blutvolumen zugrunde als auch das infundierte Volumen unter Berücksichtigung der ionalen Zusammensetzung der jeweiligen Trägerlösung (Tabelle 8). Der Vergleich ergab eine größere Summe des gemessenen Kaliums in Extrazellularraum und Urin, als nach theoretischen Überlegungen und Berechnungen zu erwarten gewesen wäre (Abbildung 29). Ein solcher Überschuss an Kalium muss demnach aus dem intrazellulären Kompartiment stammen. Diese Annahme wird gestützt von der passenden Stöchiometrie zwischen der generierten Menge überschüssiger Protonen während der Phase der Hämodilution und dem extrazellulären Überschuss an Kalium, welche in beiden Fällen etwa 0,6 mmol betrug (Tabelle 19).

Werden die Phasen der Dilution und Nachbeobachtung verglichen, so verringert sich die Differenz zwischen der Summe der gemessenen Werte (Abbildung 29, jeweils dritte Balken) und dem erwarteten Kaliumgehalt (Abbildung 29, jeweils vierte Balken). Dieser Aspekt wird ebenso aus der abnehmenden Prozentzahl intrazellulär gepufferter Protonen ersichtlich (Tabelle 19). Die Daten weisen auf die Möglichkeit hin, dass nach einer Phase der Kompensation, die von einem Transport extrazellulärer Protonen im Austausch gegen Kalium dominiert wird, eine weitere Phase folgt, die durch eine langsame Freisetzung zwischenzeitlich intrazellulär „gespeicherter“ Protonen zur renalen Ausscheidung bzw. Neutralisierung durch eingespartes Bicarbonat zum Ziele einer endgültigen Korrektur der metabolischen Azidose charakterisiert ist. Diese Ausscheidung geht mit einem Transport von Kalium zurück in die Zelle einher. Die vorliegenden Daten legen die Vermutung nahe, dass, in Abhängigkeit der jeweiligen Versuchsgruppe, mindestens 83% der generierten Protonen vorübergehend über die intrazelluläre Pufferung neutralisiert wurden. Demnach scheint diesem Mechanismus eine größere Bedeutung zuzukommen als 30% - 70%, die in der Literatur angegeben werden [12-16].

Grundsätzlich besteht ebenso die Möglichkeit des Austausches extrazellulärer Protonen gegen intrazelluläres Natrium. In der Phase der Dilution überstieg die Summe der gemessenen Natriumwerte (Extrazellularvolumen plus Urin) die theoretisch berechnete Menge (Abbildung 30, jeweils dritte und vierte Balken). Im Gegensatz dazu ist die Summe der gemessenen Werte in der Nachbeobachtungsphase kleiner als der theoretisch berechnete Wert. Dies impliziert einen Transport von Natriumionen zurück in die Zelle in diesem Intervall. Dementsprechend müssten Protonen freigesetzt worden sein. Der BE nahm in dem Intervall jedoch nicht ab, sodass sich die Konzentrationsveränderungen dieser Ionen nicht entsprechen. Darüber hinaus unterschied sich die Summe der gemessenen Werte von den theoretisch berechneten Werten in ihrer absoluten Höhe (Überschuss von ungefähr 1 mmol Natriumionen in der Dilutionsphase im Vergleich zu etwa 0,6 mmol Protonen), sodass eine 1:1 Substitution dieser beiden monovalenten Kationen unwahrscheinlich ist. Ein weiterer Grund, der auf Kalium als Austauscherkation hindeutet, ist das quantitative Vorkommen dieser beiden Kationen im Intrazellularraum. Da Kalium in diesem Kompartiment wie bereits erwähnt mit einer Konzentration von etwa 150 mM vorliegt, Natrium jedoch nur mit etwa 10 mM, erscheint eine Beteiligung von Kalium auch unter rein quantitativen Gesichtspunkten weitaus wahrscheinlicher. Darüber hinaus wird in azidotischen Zuständen eine Herunterregelung sowohl des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschers als auch des  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -Symporters angenommen [133]. Beides führt zu einer abnehmenden Aktivität der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase

aufgrund einer entstehenden intrazellulären Natrium-Knappheit. Der gleiche Effekt könnte durch eine parallele Aktivitätssteigerung des  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Austauschers und des  $\text{K}^+/\text{Cl}^-$ -Symporters erreicht werden. Der genaue Mechanismus bzw. die quantitativen Beiträge der einzelnen Transporter sind laut Literatur derzeit noch unklar, die Gemeinsamkeit aller Mechanismen besteht in dem Nettoeffekt einer gesteigerten Protonenaufnahme in die Zelle im Austausch gegen Kalium, weshalb eine metabolische Azidose stets mit einer plasmatischen Hyperkaliämie assoziiert wird [134, 135].

#### 5.8.4 Renale Kompensation

Die Beteiligung renaler Kompensationsmechanismen wird durch die Veränderungen des pH-Wertes sowie der Phosphat- und Ammoniumkonzentrationen im Urin bzw. den ausgeschiedenen Absolutmengen an Phosphat und Ammonium bestätigt (Abbildung 33, Abbildung 34, Abbildung 35, Abbildung 36, Abbildung 37, Tabelle 20). In den vorliegenden Versuchen nahm der pH-Wert im Urin von einem initialen Wert von 7,3 auf 6,3 ab (Abbildung 33). Dies entspricht einer Ausscheidung von etwa  $4,5 \times 10^{-6}$  mmol Protonen. Demnach ist in Übereinstimmung mit der Literatur dieser Mechanismus bei der Antagonisierung einer metabolischen Azidose unter rein quantitativen Gesichtspunkten zu vernachlässigen [19, 20].

Die im Urin der Versuchstiere enthaltene Phosphatkonzentration variierte zwischen den Gruppen (Abbildung 34). Bei Berücksichtigung der entsprechenden Urinvolumina und Berechnung der ausgeschiedenen Absolutmengen an Phosphat ergaben sich für alle drei Versuchsgruppen jedoch die gleichen Werte. Die Summe der Protonenausscheidung in Dilutions- und Nachbeobachtungsphase mit Hilfe des Phosphatpuffersystems machte pro Versuchsgruppe 0,04 mmol aus (Abbildung 35). Dies entsprach etwa 7% der erzeugten Menge überschüssiger Protonen. Anhand dieser Zahlen und abermals in Übereinstimmung mit der Literatur wird ersichtlich, dass auch das Phosphatpuffersystem unter quantitativen Gesichtspunkten keinen adäquaten Mechanismus darstellt, um im Rahmen einer metabolischen Azidose überschüssige Protonen auszuscheiden [19, 24].

Tiere, welche Gelafundin als Volumenersatz erhielten, zeigten mit 0,77 mmol während der gesamten Versuchsdauer eine in etwa doppelt so hohe Ammoniumausscheidung wie Tiere der Volulytegruppe (0,39 mmol), welche bei ähnlicher Säurebelastung (Tabelle 17) am wenigsten ausschieden (Abbildung 37, Tabelle 20). Dieses Ergebnis legt eine mögliche Korrelation zwischen der Ammoniumausscheidung und der chemischen Struktur der infundierten Kolloide nahe. Gelafundin beinhaltet Gelatinepolysuccinat, dessen endständige Carboxylgruppen bei physiologischem pH-Wert deprotoniert vorliegen und somit eine negative Ladung aufweisen (Abbildung 4). Bedingt durch die rasche renale Ausscheidung dieses Kolloids könnte Gelatinepolysuccinat die Ammoniumausscheidung aufgrund elektrochemischer Gründe begünstigen. Im Gegensatz dazu ist HES, die kolloidale Komponente in Voluven und Volulyte, bei physiologischem pH-Wert ungeladen. Aufgrund der erhöhten Ammoniumausscheidung in der Gelafundingruppe im Vergleich zu den anderen beiden HES-haltigen Versuchsgruppen besteht die Möglichkeit einer überproportionalen Ausscheidung in dieser Gruppe. Gelafundin trägt auf diesem Wege möglicherweise zu einer Abschwächung der Azidose bei. Zusätzlich zum Kolloid scheint ebenfalls die Zusammensetzung der kristalloiden Trägerlösung hinsichtlich des Vermögens, Ammonium auszuscheiden, von Bedeutung zu sein. Volulyte ist die einzige der drei eingesetzten



Lösungen, dessen Trägerlösung eine plasmaadaptierte Zusammensetzung aufweist und mit Acetat ein metabolisierbares Anion beinhaltet (Tabelle 8). Die Theorie metabolisierbarer Anionen beruht, wie bereits in Kapitel 1.2 dargelegt, auf der Verstoffwechslung dieser Anionen und dadurch bedingter Entstehung von Bicarbonat, wodurch eine metabolische Azidose antagonisiert wird [127]. Werden die Absolutwerte des ausgeschiedenen Ammoniums berücksichtigt, so bestätigt sich diese Theorie. Der Urin der Tiere, die Volulyte erhielten, wies im Mittel nur 0,39 mmol Ammonium auf, wohingegen der Gehalt in den anderen beiden Gruppen deutlich höher lag (Voluven 0,52 mmol, Gelafundin 0,77 mmol; Abbildung 37, Tabelle 20). Gleichzeitig war der BE der Volulytegruppe am wenigsten negativ. Diese Daten legen nahe, dass eine Azidose mit Hilfe des metabolisierbaren Anions Acetat kurzzeitig, d.h. während des Zeitraums der Infusion aufgrund der zügigen Metabolisierung, abgeschwächt werden kann, sodass etwaige Kompensationsmechanismen weniger stark beansprucht werden.

Überraschend ist jedoch die in allen Versuchsgruppen festzustellende starke Erhöhung der Ammoniumausscheidung in der doch relativ kurzen Versuchsdauer von fünfeinhalb Stunden. Gemäß der Literatur erreicht die Ammoniumausscheidung bei metabolischer Azidose aufgrund der notwendigen Induktion der beteiligten Enzyme Glutaminase I sowie Glutamatdehydrogenase erst nach einigen Tagen maximale Werte [17, 43, 46]. Andererseits zeigte sich in entsprechenden Experimenten ebenfalls eine Zunahme der Ammoniumexkretion innerhalb der ersten zwei bis drei Stunden nach Säurebelastung [17, 41, 46, 53, 136], wahrscheinlich bedingt durch die Azidifizierung des Urins und/oder einer azidosebedingten Abnahme des  $K_M$ -Wertes der Glutaminase I [33, 43, 46, 51]. Wenngleich in der Vergangenheit die initiale Zunahme der Ammoniumausscheidung als vernachlässigbar klassifiziert wurde, legen diese Ergebnisse nahe, dass sie ausreicht, um die dilutionsbedingte metabolische Azidose in ihrer Schwere deutlich abzumildern. Darüber hinaus scheinen die Werte maximaler Ammoniumausscheidung für die Kompensation akuter Störungen bedeutungslos zu sein und spielen allenfalls bei chronischen Erkrankungen eine Rolle.

Zusammenfassend legen die Daten dieser tierexperimentellen Versuche bei Vorliegen einer akuten metabolischen Azidose trotz der kurzen Versuchsdauer von fünfeinhalb Stunden eine Beteiligung aller vier möglichen Kompensationsmechanismen nahe (Abbildung 25, Tabelle 19, Tabelle 20). Eine Beteiligung der intrazellulären Pufferung konnte mit den angewendeten Methoden nicht eindeutig bewiesen werden, liegt aufgrund der vorliegenden Daten jedoch nahe und gibt einen weiteren Hinweis darauf, dass die intrazelluläre Pufferung Teil der Akutantwort ist. Die maßgebliche Beteiligung der Ammoniumausscheidung bei der Kompensation akuter metabolischer Azidosen ist insbesondere aufgrund der in der Literatur beschriebenen deutlich längeren Induktionsphase erstaunlich. Einiges deutet daraufhin, dass die zwischenzeitlich intrazellulär gespeicherten Protonen im Rahmen der bereits thematisierten Korrekturphase (Kapitel 5.8.3) in den Extrazellularraum entlassen werden, sobald die Ammoniumausscheidung innerhalb weniger Stunden gesteigert war. Durch das Zusammenspiel aller Kompensationsmechanismen scheint der Organismus über eine effektive Strategie für den Fall einer akuten Säurebelastung zu verfügen, wobei zur endgültigen Ausscheidung unter quantitativen Gesichtspunkten nur das Ammonium von zentraler Bedeutung ist.

### **5.9 Effekte metabolisierbarer Anionen**

Der BE-Wert der Volulytegruppe lag während der Dilutionsphase trotz kontinuierlicher Entfernung von Bicarbonat und weiterer Puffersubstanzen im Gegensatz zu den anderen

beiden Versuchsgruppen (Voluven, Gelafundin) innerhalb des physiologischen Referenzbereiches (Abbildung 24). Dieses Ergebnis deutet in Übereinstimmung mit Akanji *et al.* und Davidson *et al.* auf eine rasch einsetzende Metabolisierung von Acetat hin [95, 96]. Nach Abschluss der wiederkehrenden Infusion im Zuge der einzelnen Hämodilutionsschritte (entsprechend ab der Nachbeobachtungszeit) ergab sich jedoch kein deutlicher Vorteil im BE-Wert gegenüber jenen Gruppen, die NaCl-basierte Trägerlösungen erhielten (Voluven und Gelafundin). Das Konzept der metabolisierbaren Anionen scheint sich, zumindest im Falle des Acetats, zu bestätigen, wenngleich es im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen zu einer kurzfristigen Alkalisierung kam. Eine langfristige Therapieverbesserung im Sinne einer Stabilisierung des Säure-Base-Haushalts konnte mit Hilfe der vorliegenden Versuche nicht vorbehaltlos bestätigt werden. Ein möglicher Vorteil der Verwendung dieser sogenannten balancierten Lösungen besteht in der Vermeidung supraphysiologischer Konzentrationen von Chlorid durch Zugabe eines metabolisierbaren Anions. Die Auswirkung hoher plasmatischer Chloridkonzentrationen auf den Organismus und daraus resultierende etwaige pathologische Mechanismen, insbesondere bei (multi-)morbiden Patienten mit möglicherweise eingeschränkter Nierenfunktion, müsste gesondert analysiert werden. Derzeit werden als metabolisierbare Anionen häufig Acetat oder Laktat eingesetzt. Acetat wurden jedoch in der Vergangenheit mehrfach vasodilatatorische Effekte zugeordnet [137-139], wenngleich dies wiederholt kritisch diskutiert wurde. Das Auftreten dieser kardiovaskulären Nebenwirkung erscheint bei schneller Gabe einer hohen Dosis als denkbar [127]. Besonders in einem herzchirurgischen Kollektiv sind vasodilatatorische Eigenschaften, insbesondere im Zusammenhang mit der auftretenden (dilutionsbedingten) metabolischen Azidose, welche ihrerseits zu einer Vasodilatation führen kann, zu vermeiden. Laktat besitzt den Nachteil, dass nach exogener Zufuhr durch Infusion der endogene Laktatspiegel nicht mehr als Marker des anaeroben Stoffwechsels und möglicher Gewebhypoxie verwendet werden kann. Darüber hinaus kann Laktat, im Gegensatz zu anderen metabolisierbaren Anionen nicht ubiquitär, sondern fast ausschließlich in der Leber verstoffwechselt werden, wodurch sich absolut gesehen ein langsamerer Metabolismus ergibt. Sollte sich die Vermutung bestätigen, dass die Entwicklung einer intraoperativen Laktatazidose bei herzchirurgischen Patienten in direktem Zusammenhang mit einer verminderten Laktat-Clearance aufgrund hepatischer Sauerstoffminderversorgung steht, so wäre eine Laktatinfusion auch in dieser Hinsicht kontraproduktiv. Darüber hinaus zeigte Laktat in tierexperimentellen Versuchen des hämorrhagischen Schocks bei großer Schocktiefe toxische Effekte [140-142].

### **5.10 Ursachen für Elektrolytveränderungen und Steigerung der Diurese im Tiermodell**

Unabhängig von der Versuchsgruppe zeigten die Tiere eine plasmatische Hypokaliämie (Abbildung 26). In Übereinstimmung hiermit kam es während der Dilutionsphase zu einem Anstieg der ausgeschiedenen Kaliummenge von einem initialen Wert von 0,05 mmol auf über 0,6 mmol (Abbildung 38). In der Nachbeobachtungsphase belief sich dieser Wert auf 0,45 mmol. Demnach kam es trotz vorliegender metabolischer Azidose zu einer vermehrten Kaliumausscheidung. Eine metabolische Azidose vermindert grundsätzlich die Kaliumexkretion [143, 144], sodass in Verbindung mit dieser Störung des Säure-Base-Haushalts oftmals eine plasmatische Hyperkaliämie beschrieben wird. Im Verlauf der metabolischen Azidose kommt es zu einer Hemmung der Sekretion von Kalium über Kaliumkanäle, welche in den Hauptzellen des Sammelrohres lokalisiert sind. Zusätzlich nimmt die interstitielle Ammoniumkonzentration zu, sodass dies aufgrund der inhibitorischen Wirkung auf die Kaliumexkretion ebenfalls zu einer verminderten Kaliumausscheidung führt

[144]. Des Weiteren stimuliert eine metabolische Azidose die vermehrte Reabsorption von Kalium mittels  $H^+-K^+$ -ATPase in interkalierenden Zellen des kortikalen Sammelrohres [144]. Zusätzlich zu diesen inhibitorischen Effekten einer metabolischen Azidose bezüglich der generellen homöostatischen Kaliumexkretion sieht sich der Organismus bei einer metabolischen Azidose aufgrund der intrazellulären Pufferung und der damit verbundenen Freisetzung intrazellulären Kaliums einer erhöhten plasmatischen Kaliumkonzentration ausgesetzt (Kapitel 5.8.3) und der gesteigerten Notwendigkeit Kalium auszuschleiden. Aufgrund der verminderten Möglichkeit der Kaliumexkretion bei metabolischer Azidose resultiert in diesem Falle die erwähnte plasmatische Hyperkaliämie. Trotz der experimentell induzierten akuten metabolischen Azidose zeigten die Tiere wie bereits eingangs erwähnt keine Hyperkaliämie, sondern vielmehr eine stetig abnehmende plasmatische Kaliumkonzentration (Abbildung 26), bedingt durch eine gesteigerte Kaliumexkretion (Abbildung 38). Kaliuretische Faktoren sind der extrazelluläre pH-Wert, die extrazelluläre Kaliumkonzentration, die plasmatische Aldosteronkonzentration, das distale Natriumvorkommen sowie die Urinflussrate [135]. Eine erhöhte Urinflussrate führt zu einer gesteigerten Kaliumausscheidung [134, 135, 145], scheint über die lokalen inhibitorischen Effekte einer Azidose auf Kalium sekretierende Zellen zu dominieren [133] und stellt den stärksten Trigger zur Kaliumausscheidung dar [135]. Sie reduziert die luminalen Kaliumkonzentration, wodurch ein zunehmender Konzentrationsgradient über die apikale Membran entsteht, welcher die Sekretion von Kalium begünstigt. Zusätzlich beeinflusst die Urinflussrate auf direktem Wege die Kaliumausscheidung indem mutmaßlich die Aktivität der Kaliumkanäle moduliert wird. Da in der gesamten Versuchsdauer von fünfeinhalb Stunden (Dilutions- plus Nachbeobachtungsphase) im Durchschnitt pro Versuchsgruppe etwa 6 ml Urin ausgeschieden wurden (Abbildung 32), ist im Gegensatz zur Ausscheidung unter physiologischen Bedingungen von einer deutlich gesteigerten Urinausscheidung auszugehen. Das Urinvolumen innerhalb von 24 h beträgt bei männlichen Wistar-Ratten 13 ml [146]. Dies entspricht im Mittel 3 ml für ein Intervall von fünfeinhalb Stunden. Somit schieden die Tiere in der Versuchsphase durchschnittlich die doppelte Menge aus. Aus der Bestimmung der exkretierten Menge an Gelatinepolysuccinat von etwa 60% der infundierten Menge während der Dilutionsphase und zusätzlichen 30% in der Nachbeobachtungsphase (Tabelle 21) ist eine schnelle Ausscheidung des Kolloids ersichtlich. Für den Menschen wird die Halbwertszeit dieses Präparats mit 150 min angegeben [55, 147]. Gelafundin stellt eine polydisperse Lösung mit einem mittleren Molekulargewicht des Gelatinepolysuccinats von 30 kDa dar. Demnach liegt das mittlere Molekulargewicht deutlich unterhalb der Nierenschwelle von 55 kDa bis 60 kDa [148], sodass hierdurch die schnelle Exkretion erklärt werden kann. HES-Moleküle besitzen ein mittleres Molekulargewicht von 130 kDa und sollten demnach eine längere intravasale Verweildauer besitzen als beispielsweise Gelatinepolysuccinat. Dies spiegelt sich wie eingangs erwähnt in einem größeren Volumeneffekt HES-haltiger Lösungen wider. Die Halbwertszeit HES-haltiger Lösungen (mit einem mittleren Molekulargewicht von 130 kDa und einer molaren Substitution von 0,4 wie im Rahmen dieser Arbeit verwendet) beträgt beim Menschen 180 Minuten [149]. Jedoch besitzen Ratten, im Gegensatz zum Menschen, eine höhere Aktivität endogener  $\alpha$ -Amylase [150], die HES spaltet, und auf diese Weise Fragmente entstehen lässt, die aufgrund ihrer geringeren Größe über die Niere ausgeschieden werden können, wenngleich ein direkter Zusammenhang zwischen Volumeneffekt und Amylaseaktivität kritisch hinterfragt wurde [151]. Auf diese Weise lassen sich ähnliche Werte

der Kaliumexkretion in allen Versuchsgruppen trotz der Verwendung unterschiedlicher Kolloide (Gelatinepolysuccinat vs. HES) erklären. Tiere der Voluvengruppe schieden im Vergleich zu Volulyte trotz des gleichen Kolloids (HES) sowohl mehr Urin (Abbildung 32) als auch Kalium (Abbildung 38) aus. Das gesteigerte Urinvolumen in der Voluvengruppe ist der Zusammensetzung der Trägerlösung geschuldet, welche im Falle des Voluvens suprphysiologische Konzentrationen an Chlorid (Voluven 154 mM, Volulyte 110 mM und Gelafundin 120 mM; Tabelle 8) und Natrium (Voluven und Gelafundin 154 mM, Volulyte 137 mM; Tabelle 8) zeigt und somit hyperton ist (304 mOsm/kg; zum Vergleich: die physiologische Osmolalität von Wistar-Ratten beträgt 290 mOsm/kg [152], Volulyte 283 mOsm/kg, Gelafundin 265 mOsm/kg). Die Hypertonizität ist gleichermaßen für eine im Vergleich zu den anderen Gruppen erhöhte Ausscheidung von Natrium und Chlorid (Daten nicht gezeigt) verantwortlich. Aufgrund der gegenüber dem physiologischen Level deutlich erhöhten Chloridkonzentration im Falle des Voluvens bedarf es einer vermehrten Ausscheidung. Bedingt durch seine osmotischen Eigenschaften ist demnach eine parallel gesteigerte Diurese wahrscheinlich.

Aufgrund der angeführten Argumente (Kapitel 5.8.3) scheint Natrium in der Regulation der Säure-Base-Homöostase keine entscheidende Rolle zu spielen, sondern vielmehr im Rahmen der Volumenkontrolle. Im Zuge der Hämodilution wird zum einen die Plasmaproteinkonzentration erheblich vermindert, zum anderen existiert die schnelle Ausscheidung des infundierten Kolloids (Tabelle 21). Somit könnte Natrium (und aus Gründen der Elektroneutralität ebenso Chlorid) zum Zwecke der Kompensation verlorener kolloidosmotisch aktiver Substanzen aus den Zellen freigesetzt oder durch den Gehalt in der Volumensubstitutionslösung ausgeglichen worden sein. Dies bestätigen die Zunahmen der plasmatischen Natrium- als auch Chloridkonzentration im Versuchsverlauf (Abbildung 27, Abbildung 28). Dementsprechend stieg die Osmolalität in der Dilutionsphase ausgehend von einem initialen Wert von 285 mmol/kg auf 295 mmol/kg am Ende dieses Intervalls und verblieb auf diesem Level während der Nachbeobachtungsphase bis zum Versuchsende (Tabelle 18).

## 6 Relevanz und Ausblick

Während herzchirurgischer Eingriffe ist die Entwicklung einer akuten metabolischen Azidose aufgrund der massiven Verdünnung endogenen Bicarbonats durch Eintrag der Priming als auch kardioplegischen Lösung bei Verwendung einer herkömmlichen HLM unvermeidbar. Das Ausmaß dieser Azidose wird deutlich anhand der Notwendigkeit, intraoperativ Natriumbicarbonat zu verabreichen. Somit ist nicht nur die generelle Existenz der Dilutionsazidose, sondern ebenso ihre klinische Relevanz bestätigt.

Anhand der Bestimmung ausgeschiedener Säureäquivalente (Ammonium, Phosphat sowie freie Protonen) in Rattenurin bietet es sich im Folgenden an, den gesammelten Urin der Bypass-Patienten im Hinblick auf diese Parameter im zeitlichen Verlauf zu analysieren, um Aussagen über den quantitativen Beitrag renaler Kompensationsmechanismen während einer (dilutionsbedingten) metabolischen Azidose beim Menschen machen zu können. Im Tierversuch zeigte sich eine hoch signifikante Steigerung der Ammoniumausscheidung bei Azidose bereits innerhalb der ersten drei Stunden. Sollten sich diese Ergebnisse auf den Menschen übertragen lassen, so besäße die renale Kompensation bei akuter metabolischer Azidose einen sehr viel größeren Einfluss. Bislang wurde ein nennenswerter Beitrag dieses Mechanismus lediglich für chronische metabolische Azidosen angenommen. Hierdurch ergäben sich in Zukunft möglicherweise andere therapeutische Strategien.

Die Daten der vorliegenden Arbeit geben darüber hinaus Grund zu der Annahme, dass die bislang postulierte Verknüpfung von metabolischer Azidose und Hyperkaliämie keine generelle Richtigkeit besitzt, sondern lediglich unter bestimmten Rahmenbedingungen zutreffen scheint. Daher sollten weitere Experimente hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen den Kaliumkonzentrationen im Extrazellarraum bzw. Urin bei akuter metabolischer Azidose durchgeführt werden. Eine verstärkte Diurese soll die inhibitorischen Effekte einer metabolischen Azidose auf die Kaliumausscheidung aufheben. Zur Klärung dieser in der Literatur postulierten These wären Versuche denkbar, in denen nach Induktion einer experimentellen Azidose mit einem klassischen Diuretikum die Diurese forciert wird. Da die Patienten zum einen intraoperativ verschiedene Diuretika (Furosemid als auch Mannitol) zur Gewährleistung einer adäquaten Diurese erhalten, welche während CPB deutlich vermindert ist, und zum anderen der Kaliumstatus mit seinen Auswirkungen auf den kardialen Rhythmus gerade in einem herzchirurgischen Kollektiv große Bedeutung besitzt, muss der Klärung dieses Zusammenhangs große klinische Relevanz beigemessen werden. Darüber hinaus wird Gelafundin, eine der im Tierversuch verwendeten kolloidalen Volumensubstitutionslösungen, routinemäßig bei herzchirurgischen Patienten zum Volumenersatz eingesetzt. Da sich in dieser tierexperimentellen Gruppe eine verstärkte Diurese zeigte, die sich auf das eingesetzte Kolloid Gelatinepolysuccinat zurückführen ließ, könnte dieses Präparat grundsätzlich auch in Patienten eine verstärkte Diurese hervorrufen.

Zudem sollte die Harnstoff- und Ammoniumausscheidung sowie der Verlauf diverser Aminosäuren zusätzlich zum intraoperativen Intervall in der postoperativen Phase untersucht werden. Aufgrund der Inkorporation der massiven Menge von 300 mmol Histidin (entsprechend 900 mmol Stickstoff) im Rahmen der Kardioplegie und der nur geringen intraoperativen Stickstoffausscheidung bzw. -speicherung in Form anderer Aminosäuren sollte sich ein veränderter Metabolismus und somit Auswirkungen auf den Säure-Base-Haushalt ebenfalls in der postoperativen Phase ergeben.

Neben einer nicht-pulsatilen Perfusion während der Phase des CPBs mit einem Druck zwischen 50 mmHg und 60 mmHg und einer dadurch hervorgerufenen Minderperfusion aller Gewebe und Organe erfolgt zusätzlich durch das intraoperative Klemmen der Aorta eine totale Ischämie sowohl des Herzens als auch der Lungen. Bedingt durch diese technischen Maßnahmen sind während der Zeit des CPBs die Organe des Patienten einer Hypoxie ausgesetzt. Zusätzlich ist der Organismus mit einer akuten metabolischen Azidose konfrontiert, die ihrerseits zu einer verschlechterten Durchblutung beiträgt. Um die hierdurch bedingten Schädigungen abzuschwächen und letztendlich die Organe besser zu schützen, kann über die Entwicklung einer Priming Lösung mit organprotektiven Substanzen nachgedacht werden, die sich in präklinischen Tierversuchen bislang vielversprechend zeigten.

## 7 Zusammenfassung

Bei herzchirurgischen Operationen wird intraoperativ häufig eine metabolische Azidose als Störung des Säure-Base-Haushalts beobachtet. Der Grund für dessen Entstehung stellt derzeit eines der höchst kontrovers diskutierten Themen des Gebietes dar. Es besteht jedoch Grund zu der Annahme, dass das extrem schnelle Einbringen der Priming Lösung in die systemische Zirkulation des Patienten bei Inbetriebnahme der HLM sowie die Applikation der kardioplegischen Lösung wenige Minuten später in Gegenwart eines konstanten Kohlenstoffdioxidpartialdrucks maßgeblich zur Entstehung beitragen. Zur Evaluierung, ob eine Dilutionsazidose sowohl existent als auch klinisch relevant ist, wurde eine humane Beobachtungsstudie an Bypass-Patienten durchgeführt. Zur Analyse beteiligter Kompensationsmechanismen im Falle einer akuten metabolischen Azidose wurde ein standardisiertes Tiermodell (Ratte) der normovolämischen Hämodilution genutzt.

In die konsekutive Beobachtungsstudie wurden 33 Patienten eingeschlossen. Von diesen 33 Patienten wurden 25 (Dilutionsazidose) bzw. 29 (Aminosäureanalyse) je nach Fragestellung ausgewertet. Die Ergebnisse intraoperativer Blutgasanalysen wurden aus dem Operationsprotokoll übernommen. Plasma intraoperativ gewonnener Blutproben wurde bei  $-80\text{ °C}$  bis zur weiteren Analyse aufbewahrt. Nach Anlage des Blasenkatheters wurde eine Urinprobe gewonnen. Zum Operationsende wurde aus dem Sammelgefäß des Katheters eine weitere Probe entnommen.

Die Tiere erhielten zwei Gefäßkatheter in die rechten Femoralgefäße sowie einen Blasenkatheter. Mittels repetitiver Blutentnahmen von jeweils drei Millilitern und simultanem Ersatz dieses Volumen durch jeweils eine kommerziell erhältliche Volumensubstitutionslösung in Abhängigkeit der Versuchsgruppe wurde der systemische Hämatokrit stufenweise auf 10% reduziert. Dieser Dilutionsphase folgte eine zweieinhalbstündige Nachbeobachtungsphase. Während des gesamten Versuchs wurden zu definierten Zeitpunkten Blutgasanalysen angefertigt. Nach Anlage des Blasenkatheters erfolgte die Entleerung der Blase. Sowohl während der Dilutions- als auch der Nachbeobachtungsphase wurde kontinuierlich Urin gesammelt.

Die durchschnittlichen Werte von pH sowie Base Excess (BE) der Patienten fielen nach Beginn des kardiopulmonalen Bypass (CPB) von Normalwerten auf 7,34 bzw.  $-3,1\text{ mEq/L}$ . Während der restlichen intraoperativen Phase erholten sie sich auf Werte im Referenzbereich. Die intraoperative Laktatkonzentration stieg von einem Basalwert von  $0,9\text{ mM}$  auf  $1,4\text{ mM}$  während des CPBs, um bei Operationsende  $2,5\text{ mM}$  zu erreichen. Patienten erhielten intraoperativ bedarfsadaptiert Natriumbicarbonat, im Durchschnitt  $102\text{ mmol}$ , sowie durchschnittlich  $1,1\text{ L}$  Priming Lösung und  $1,6\text{ L}$  kardioplegische Lösung. Die plasmatische Histidinkonzentration nahm von  $71\text{ }\mu\text{M}$  bei Operationsbeginn auf  $21000\text{ }\mu\text{M}$  nach Beginn des CPBs zu, um bei Operationsende  $8000\text{ }\mu\text{M}$  zu erreichen. Bei Operationsbeginn betrug die ausgeschiedene Menge Histidin  $47\text{ }\mu\text{mol/mmol}$  Kreatinin, bei Operationsende  $6760\text{ }\mu\text{mol/mmol}$  Kreatinin. Intraoperativ nahm die Ausscheidung von Harnstoff von  $9,5\text{ mmol/h}$  auf  $10,1\text{ mmol/h}$  zu (vermehrte Ausscheidung von  $3\text{ mmol}$ ).

Der plasmatische BE der Tiere fiel in der Nachbeobachtungsphase von  $0,5\text{ mEq/L}$  zu Beginn des Experiments auf  $-3\text{ mEq/L}$ . Der pH-Wert im Plasma betrug 7,4 bei Versuchsende. Die plasmatische Laktatkonzentration blieb über die Versuchsdauer annähernd konstant bei  $1,3\text{ mM}$ . Sowohl während der Dilutions- als auch der Nachbeobachtungsphase überstieg die gemessene Kaliummenge die anhand von Berechnungen theoretisch vorhergesagte um etwa  $0,6\text{ mmol}$  bzw.  $0,5\text{ mmol}$ . Die im Urin enthaltene Ammoniummenge stieg von einem Wert

von 0,02 mmol im Initialurin auf 0,30 mmol sowohl in Dilutions- als auch Nachbeobachtungsphase. Ausgeschiedenes Phosphat betrug initial 0,0005 mmol und in den genannten Intervallen 0,03 mmol bzw. 0,015 mmol. Im Initialurin enthaltenes Kalium betrug 0,04 mmol. Urin der Dilutionsphase enthielt 0,45 mmol, jener der Nachbeobachtungsphase 0,4 mmol.

Im Zuge der humanen Beobachtungsstudie konnte bei operativen Eingriffen unter Verwendung eines CPBs die Entstehung einer Dilutionsazidose gezeigt werden, die deutlich, aber überaus transient ist. Daher war es im Rahmen der vorliegenden Arbeit möglich, trotz anhaltender Diskussion in Fachkreisen, die generelle Existenz der Dilutionsazidose in routinemäßig angewendeten klinischen Situationen, wie bei Gebrauch eines CPBs, zu belegen. Die bedarfsadaptierte, aber routinemäßige Verabreichung von Natriumbicarbonat Lösung stellt den Beweis für die klinische Relevanz der Dilutionsazidose dar. Bedingt durch die in der kardioplegischen Lösung enthaltene Histidinkonzentration von 198 mM und dem verabreichten Volumen von 1,6 L wurden 300 mmol Histidin bzw. 900 mmol Stickstoff inkorporiert. Die gesteigerte Harnstoffausscheidung war, gemessen an der Belastung, relativ gering. Demnach war die durch die Stickstoff-Elimination bedingte Beeinflussung des Säure-Base-Haushalts in der intraoperativen Phase gering. Etwa 7% der infundierten Histidinmenge (entsprechend 20 mmol) wurden renal ohne vorherige Metabolisierung ausgeschieden. Die im Rahmen der Erwärmung der kardioplegischen Lösung stattfindende Deprotonierung des im Histidin enthaltenen Imidazolrings sollte zu einer Verstärkung der dilutionsbedingten metabolischen Azidose beigetragen haben.

Im tierexperimentellen Versuchsteil zeigte sich die Aktivierung verschiedener körpereigener Kompensationsmechanismen. Da die Versuchstiere nicht intubiert waren, verfügten sie über die Möglichkeit respiratorisch zu kompensieren. Zusätzlich legte die Bilanzierung der plasmatischen Kaliumkonzentration eine Beteiligung intrazellulärer Puffermechanismen nahe. Die Urinanalyse legte für den relativ kurzen Versuchszeitraum von insgesamt fünfeinhalb Stunden eine massive Ammoniumausscheidung sowie eine geringere Phosphatausscheidung offen. Die Sekretion freier Protonen stellte sich unter quantitativen Gesichtspunkten als vernachlässigbar dar. Entgegen der Literatur scheint bereits die initiale Steigerung der Ammoniumausscheidung auszureichen, um eine metabolische Azidose in ihrer Schwere deutlich abzumildern, sodass diesem Kompensationsmechanismus bereits eine nennenswerte Bedeutung in der Behebung akuter und nicht nur chronischer Azidosen beigemessen werden muss. Zusätzlich zeigte sich eine stark gesteigerte Kaliumausscheidung.



## 8 Summary

In the context of cardiac surgery, an intraoperative metabolic acidosis is commonly observed. Currently, the reason for its development constitutes one of the most controversially discussed topics in acid-base homeostasis. There is evidence, that the fast administration of the priming fluid to the patient's systemic circulation at the onset of the heart-lung machine as well as the subsequent application of the cardioplegic solution both in the presence of a constant carbon dioxide partial pressure are significantly involved. To evaluate whether dilutional acidosis is generally existent as well as clinically relevant, an observational study was conducted on patients scheduled for elective isolated coronary artery bypass grafting with the concomitant need of cardiopulmonary bypass (CPB). For analysis of involved compensatory mechanisms in the case of acute metabolic acidosis, a standardized animal model (rat) was employed.

In total, 33 consecutive patients scheduled for elective isolated coronary artery bypass grafting (CABG) with CPB were enrolled in the prospective observational designed study. Out of these 33 patients, 25 (dilutional acidosis) and 29 (amino acid analysis), respectively, were analyzed, depending on the respective question. The results of blood gas analyses taken intraoperatively were assumed from the patient's protocol. Plasma of intraoperatively gained blood samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  for further analysis. After insertion of the urinary catheter a urine sample was taken. At the end of operative procedures, a second sample was obtained.

The animals received two catheters into the right femoral vessels as well as a urinary catheter. Employing repetitive blood withdrawals of three milliliters each, and simultaneous substitution of the withdrawn volume with a commercially available volume replacement solution, systemic hematocrit was gradually lowered to 10%. Subsequent to this phase of hemodilution, an observation phase of 2.5 h followed. During the whole experimental phase, blood gas analyses were made. After insertion of the urinary catheter, the bladder was emptied. Over the phase of dilution as well as the observation phase, urine was continuously gathered.

Average values of pH and base excess (BE) of patients fell from normal values to 7.34 and  $-3.1$  mEq/L, respectively, after initiation of cardiopulmonary bypass (CPB). During the remaining time of CPB, they recovered to values within the reference range. Intraoperative lactate concentration increased from 0.9 mM to 1.4 mM during CPB to reach 2.5 mM at the end of operative procedures. Patients received sodium bicarbonate as required, 102 mmol on average, as well as averaged 1.1 L priming solution and 1.6 L cardioplegic solution. Plasma histidine concentration rose from 71  $\mu\text{M}$  at basal conditions to 21000  $\mu\text{M}$  after initiation of CPB to decrease to a value of 8000  $\mu\text{M}$  at the end of operative procedures. At the beginning of the operation, excreted histidine amounted to 47  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  creatinine, and at the end 6760  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  creatinine. In the course of the operation, urea excretion increased from 9.5 mmol/h to 10.1 mmol/h (additional excretion of 3 mmol).

Animals' plasma BE decreased to  $-3$  mEq/L during the experiment. At the end, plasma pH value was 7.4. Plasma lactate concentration stayed almost constant at 1.3 mM during the experimental phase. Both during the phase of dilution and observation phase, measured potassium content exceeded the predicted amount calculated on the basis of infusion and withdrawal by 0.6 mmol and 0.5 mmol, respectively. The urinary amount of ammonium increased from 0.02 mmol in initial urine to 0.30 mmol both in the phase of dilution and the observation time. Excreted phosphate accounted for 0.0005 mmol under basal conditions and 0.030 mmol and 0.015 mmol in the respective intervals. Initial urine contained 0.04 mmol

potassium, urine collected during the phase of dilution 0.45 mmol and during the observation phase 0.40 mmol.

Although currently being one of the most controversially discussed topics in acid-base homeostasis with regards to magnitude but also its fundamental existence, the dilutional acidosis' existence could be proven in certain routine clinical situations, like those with the usage of CPB. Dilutional acidosis was prominent but also transient in its appearance. Moreover, routine administration of sodium bicarbonate proves its clinical relevance. Due to the cardioplegic solution's histidine concentration of 198 mM the body is confronted with a high amount of nitrogen. The need for its excretion already becomes apparent in the intraoperative period in terms of an increased excretion of urea and ammonium. The rise in excretion was nonetheless relatively small in relation to the nitrogen load, since at first the majority of nitrogen was stored in the form of different amino acids. About 7% of the incorporated histidine (i.e. 20 mmol) were excreted without prior metabolism. Nevertheless, during the phase of operative procedures, the impact of the incorporated nitrogen on systemic acid-base status was minor. Enhanced deprotonation of the histidine's imidazole ring during warming of the cardioplegic solution occurred. Protons originating from this process should have intensified existing dilutional acidosis.

In experimental animals, the activation of endogenous compensatory mechanisms due to induction of metabolic acidosis was obvious. Since the animals were not subjected to mechanical ventilation, they had the chance to compensate through altered respiration. In addition, balancing of plasma potassium concentration suggested intracellular buffering. In the animals' urine, the excreted amounts of free protons, phosphate as well as ammonium were quantified to determine renal compensatory mechanisms. The analysis revealed a massive ammonium excretion within the relative short experimental period of 5.5 hours, whereas phosphate excretion was small. The amount of free protons was negligible in quantitative terms. In contrast to literature, the initial rise in ammonium excretion seems to be sufficient to mitigate a metabolic acidosis in its severity. Therefore, this compensatory mechanism already possesses considerable importance concerning correction of acute and not only chronic acidosis. Apart from the ammonium excretion, also an enhanced potassium excretion was observed during as well as after normovolemic hemodilution.

## 9 Literatur

- [1] Rose B, Post T. Metabolic Acidosis. In: Rose B, Post T, editors. *Clinical Physiology of Acid-Base and Electrolyte Disorders*. 5 ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 578-646.
- [2] Kraut JA, Madias NE. Treatment of acute metabolic acidosis: a pathophysiologic approach. *Nat Rev Nephrol*. 2012;8:589-601.
- [3] Astrup P, Jorgensen K, Andersen OS, Engel K. The acid-base metabolism. A new approach. *Lancet*. 1960;1:1035-9.
- [4] Gunnerson KJ, Saul M, He S, Kellum JA. Lactate versus non-lactate metabolic acidosis: a retrospective outcome evaluation of critically ill patients. *Crit Care*. 2006;10:R22.
- [5] Knichwitz G. Der Säure-Basen-Haushalt. *Intensivmedizin up2date*. 2005;1:205-20.
- [6] Oliva PB. Lactic acidosis. *Am J Med*. 1970;48:209-25.
- [7] Russo MA. Dilutional acidosis: a nonentity? *Anesthesiology*. 1997;87:1010-1; author reply 3-4.
- [8] Walsh PJ, Wright P. Urea Synthesis in Mammals. In: Walsh PJ, Wright P, editors. *Nitrogen Metabolism and Excretion*: CRC Press; 1995. p. 193-204.
- [9] Furger P. *Innere quick: der Fakten-Turbo*: Thieme; 2003.
- [10] Diel P, Deetjen P. Säure-Basen-Haushalt. In: Speckmann E-J, Hescheler J, Köhling R, editors. *Physiologie*. München: Urban&Fischer; 2008. p. 519-30.
- [11] Palmer BF, Alpern RJ. Normal Acid-Base Balance. In: Floege J, Johnson RJ, Feehally J, editors. *Comprehensive Clinical Nephrology*. 4 ed: Elsevier Saunders; 2010. p. 149-54.
- [12] Swan RC, Pitts RF. Neutralization of infused acid by nephrectomized dogs. *J Clin Invest*. 1955;34:205-12.
- [13] Bushinsky DA. Acidosis and bone. *Miner Electrolyte Metab*. 1994;20:40-52.
- [14] Bettice JA, Gamble JL, Jr. Skeletal buffering of acute metabolic acidosis. *Am J Physiol*. 1975;229:1618-24.
- [15] Bergstrom WH, Wallace WM. Bone as a sodium and potassium reservoir. *J Clin Invest*. 1954;33:867-73.
- [16] Cooke RE, Segar WE, Cheek DB, Coville FE, Darrow DC. The extrarenal correction of alkalosis associated with potassium deficiency. *J Clin Invest*. 1952;31:798-805.
- [17] Parry DM, Brosnan JT. Glutamine metabolism in the kidney during induction of, and recovery from, metabolic acidosis in the rat. *Biochem J*. 1978;174:387-96.
- [18] Rector FC, Jr. Acidification of the urine. In: Orloff JB, RW., editor. *Ren Physiol*. Washington American Physiological Society; 1973. p. 431-54.
- [19] Lim S. Metabolic acidosis. *Acta Med Indones*. 2007;39:145-50.
- [20] Rose BP, T. Regulation of Acid-Base Balance. *Clinical Physiology of Acid-Base and Electrolyte Disorders*. 5 ed. New York: McGraw-Hill; 2000. p. 325-71.
- [21] Hamm LL, Simon EE. Roles and mechanisms of urinary buffer excretion. *Am J Physiol*. 1987;253:F595-605.
- [22] Halperin ML. How much "new" bicarbonate is formed in the distal nephron in the process of net acid excretion? *Kidney Int*. 1989;35:1277-81.
- [23] Curthoys NP, Moe OW. Proximal tubule function and response to acidosis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9:1627-38.
- [24] Pitts RF. Production and Excretion of Ammonia in Relation to Acid-Base Regulation. In: Orloff JB, RW., editor. *Ren Physiol*. Washington: American Physiological Society; 1973. p. 455-96.
- [25] Halperin ML, Ethier JH, Kamel KS. The excretion of ammonium ions and acid base balance. *Clin Biochem*. 1990;23:185-8.
- [26] Pitts RF. Renal Production and Excretion of Ammonia. *Am J Med*. 1964;36:720-42.
- [27] Weiner ID, Mitch WE, Sands JM. Urea and Ammonia Metabolism and the Control of Renal Nitrogen Excretion. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014.

- [28] Han KH. Mechanisms of the effects of acidosis and hypokalemia on renal ammonia metabolism. *Electrolyte Blood Press.* 2011;9:45-9.
- [29] Karim Z, Szutkowska M, Vernimmen C, Bichara M. Renal handling of NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: recent concepts. *Nephron Physiol.* 2005;101:p77-81.
- [30] Oliver J, Bourke E. Adaptations in metabolic acidosis: a reinterpretation. *Proc Eur Dial Transplant Assoc.* 1975;11:411-6.
- [31] Bogusky RT, Dietrich RL. Effect of acute metabolic acidosis on ammonia metabolism in kidney. *Am J Physiol.* 1989;256:F321-8.
- [32] Goldstein L. Pathways of glutamine deamination and their control in the rat kidney. *Am J Physiol.* 1967;213:983-9.
- [33] Damian AC, Pitts RF. Rates of glutaminase I and glutamine synthetase reactions in rat kidney in vivo. *Am J Physiol.* 1970;218:1249-55.
- [34] Fahien LA, Strmecki M. Studies on gluconeogenic mitochondrial enzymes. II. The conversion of glutamate to alpha-ketoglutarate by bovine liver mitochondrial glutamate dehydrogenase and glutamate-oxaloacetate transaminase. *Arch Biochem Biophys.* 1969;130:456-67.
- [35] Knepper MA, Chou C-L. Urea and Ammonia Transport in the Mammalian Kidney. In: Walsh PJ, Wright P, editors. *Nitrogen Metabolism and Excretion*: CRC Press; 1995. p. 205-27.
- [36] Goldstein L. Relation of glutamate to ammonia production in the rat kidney. *Am J Physiol.* 1966;210:661-6.
- [37] Goorno WE, Rector FC, Jr., Seldin DW. Relation of renal gluconeogenesis to ammonia production in the dog and rat. *Am J Physiol.* 1967;213:969-74.
- [38] Welbourne TC, Phromphetcharat V, Givens G, Joshi S. Regulation of interorganal glutamine flow in metabolic acidosis. *Am J Physiol.* 1986;250:E457-63.
- [39] Oliver J, Bourke E. Adaptations in urea ammonium excretion in metabolic acidosis in the rat: a reinterpretation. *Clin Sci Mol Med Suppl.* 1975;48:515-10.
- [40] Meijer AJ. Urea Synthesis in Mammals. In: Walsh PJ, Wright P, editors. *Nitrogen Metabolism and Excretion*: CRC Press; 1995. p. 193-204.
- [41] Leonard E, Orloff J. Regulation of ammonia excretion in the rat. *Am J Physiol.* 1955;182:131-8.
- [42] Rose BDP, T.W. Regulation of Acid-Base Balance. In: Rose BDP, T.W., editor. *Clinical physiology of acid-base and electrolyte disorders*: McGraw Hill; 2001. p. 325-71.
- [43] Rector FC, Jr., Seldin DW, Copenhaver JH. The mechanism of ammonia excretion during ammonium chloride acidosis. *J Clin Invest.* 1955;34:20-6.
- [44] Welbourne TC. Evidence for passive glutamine uptake coupled to glutaminase I. *Am J Physiol.* 1974;226:549-54.
- [45] Halperin ML, Ethier JH, Kamel KS. Ammonium excretion in chronic metabolic acidosis: benefits and risks. *Am J Kidney Dis.* 1989;14:267-71.
- [46] Goldstein L, Schooler JM. Regulation of ammonia production in the rat kidney. *Adv Enzyme Regul.* 1967;5:71-86.
- [47] Curthoys NP, Lowry OH. The distribution of glutaminase isoenzymes in the various structures of the nephron in normal, acidotic, and alkalotic rat kidney. *J Biol Chem.* 1973;248:162-8.
- [48] Wright PA, Knepper MA. Phosphate-dependent glutaminase activity in rat renal cortical and medullary tubule segments. *Am J Physiol.* 1990;259:F961-70.
- [49] Wright PA, Knepper MA. Glutamate dehydrogenase activities in microdissected rat nephron segments: effects of acid-base loading. *Am J Physiol.* 1990;259:F53-9.
- [50] Base EM, Standl T, Lassnigg A, Skhirtladze K, Jungheinrich C, Gayko D, et al. Efficacy and safety of hydroxyethyl starch 6% 130/0.4 in a balanced electrolyte solution (Volulyte) during cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2011;25:407-14.

- [51] Tamarappoo BK, Joshi S, Welbourne TC. Interorgan glutamine flow regulation in metabolic acidosis. *Miner Electrolyte Metab.* 1990;16:322-30.
- [52] Ferguson EB, Jr. A study of the regulation of the rate of urinary ammonia excretion in the rat. *J Physiol.* 1951;112:420-5.
- [53] Lemieux G, Junco E, Perez R, Allignet E, Lemieux C, Aranda MR, et al. Renal metabolism during four types of lactic acidosis in the dog including anoxia. *Can J Physiol Pharmacol.* 1986;64:169-75.
- [54] Adams HA. [Hemodilution and infusion therapy for hypovolemic shock. Clinical physiological and pharmacological aspects]. *Anaesthesist.* 2007;56:371-9.
- [55] Mitra S, Khandelwal P. Are all colloids same? How to select the right colloid? *Indian J Anaesth.* 2009;53:592-607.
- [56] Jacob M, Chappell D, Hofmann-Kiefer K, Helfen T, Schuelke A, Jacob B, et al. The intravascular volume effect of Ringer's lactate is below 20%: a prospective study in humans. *Crit Care.* 2012;16:R86.
- [57] Mertzlufft F. HES-Koordinaten 2011. makro- und mikro-zirkulation. 2011;39.
- [58] Mizzi A, Tran T, Karlinski R, Anderson A, Mangar D, Camporesi EM. Voluven, a new colloid solution. *Anesthesiol Clin.* 2011;29:547-55.
- [59] Rehm M, Orth V, Scheingraber S, Kreimeier U, Brechtelsbauer H, Finsterer U. Acid-base changes caused by 5% albumin versus 6% hydroxyethyl starch solution in patients undergoing acute normovolemic hemodilution: a randomized prospective study. *Anesthesiology.* 2000;93:1174-83.
- [60] Ghosh S, Falter F, Cook DJ. *Cardiopulmonary Bypass.* Cambridge: Cambridge University Press; 2009.
- [61] Ballinger WF, 2nd, Vollenweider H, Pierucci L, Jr., Templeton JY, 3rd. Anaerobic metabolism and metabolic acidosis during cardiopulmonary bypass. *Ann Surg.* 1961;153:499-506.
- [62] Clowes GH, Jr. Acid-Base Balance during and after Cardiopulmonary Bypass Procedures. *Am J Cardiol.* 1963;12:671-7.
- [63] Hayhoe M, Bellomo R, Liu G, McNicol L, Buxton B. The aetiology and pathogenesis of cardiopulmonary bypass-associated metabolic acidosis using polygeline pump prime. *Intensive Care Med.* 1999;25:680-5.
- [64] Alston RP, Cormack L, Collinson C. Metabolic acidosis developing during cardiopulmonary bypass is related to a decrease in strong ion difference. *Perfusion.* 2004;19:145-52.
- [65] Liskaser FJ, Bellomo R, Hayhoe M, Story D, Poustie S, Smith B, et al. Role of pump prime in the etiology and pathogenesis of cardiopulmonary bypass-associated acidosis. *Anesthesiology.* 2000;93:1170-3.
- [66] Grigor KC. Metabolic alkalosis and acid urine following open-heart surgery with cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth.* 1968;40:943-60.
- [67] Demers P, Elkouri S, Martineau R, Couturier A, Cartier R. Outcome with high blood lactate levels during cardiopulmonary bypass in adult cardiac operation. *Ann Thorac Surg.* 2000;70:2082-6.
- [68] Hugot P, Sicsic JC, Schaffuser A, Sellin M, Corbineau H, Chaperon J, et al. Base deficit in immediate postoperative period of coronary surgery with cardiopulmonary bypass and length of stay in intensive care unit. *Intensive Care Med.* 2003;29:257-61.
- [69] Shinde SB, Golam KK, Kumar P, Patil ND. Blood lactate levels during cardiopulmonary bypass for valvular heart surgery. *Ann Card Anaesth.* 2005;8:39-44.
- [70] Munoz R, Laussen PC, Palacio G, Zienko L, Piercey G, Wessel DL. Changes in whole blood lactate levels during cardiopulmonary bypass for surgery for congenital cardiac disease: an early indicator of morbidity and mortality. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;119:155-62.
- [71] Shires GT, Holman J. Dilution acidosis. *Ann Intern Med.* 1948;28:557-9.

- [72] Asano S, Kato E, Yamauchi M, Ozawa Y, Iwasa M. The mechanism of acidosis caused by infusion of saline solution. *Lancet*. 1966;1:1245-6.
- [73] Goodkin DA, Raja RM, Saven A. Dilutional acidosis. *South Med J*. 1990;83:354-5.
- [74] Garella S, Chang BS, Kahn SI. Dilution acidosis and contraction alkalosis: review of a concept. *Kidney Int*. 1975;8:279-83.
- [75] Shires GT, Holman J. Dilution acidosis. *Am J Med*. 1948;4:467.
- [76] Doberer D, Funk GC, Kirchner K, Schneeweiss B. A critique of Stewart's approach: the chemical mechanism of dilutional acidosis. *Intensive Care Med*. 2009;35:2173-80.
- [77] Gattinoni L, Carlesso E, Maiocchi G, Polli F, Cadringer P. Dilutional acidosis: where do the protons come from? *Intensive Care Med*. 2009;35:2033-43.
- [78] Doberer D, Funk GC, Schneeweiss B. Dilutional acidosis: An endless story of confusion. *Crit Care Med*. 2003;31:337-8.
- [79] Garella S, Tzamaloukas AH, Chazan JA. Effect of isotonic volume expansion on extracellular bicarbonate stores in normal dogs. *Am J Physiol*. 1973;225:628-36.
- [80] Mathes DD, Morell RC, Rohr MS. Dilutional acidosis: is it a real clinical entity? *Anesthesiology*. 1997;86:501-3.
- [81] Rosenbaum BJ, Makoff DL, Maxwell MH. Acid-base and electrolyte changes induced by acute isotonic saline infusion in the nephrectomized dog. *J Lab Clin Med*. 1969;74:427-35.
- [82] Thomas L. *Labor und Diagnose*. 8 ed. Frankfurt a. M.: TH-Books Verlagsgesellschaft; 2012.
- [83] Malley WJ. Mixed Acid-Base Disturbances and Treatment. *Clinical Blood Gases*. 2 ed: Elsevier-Saunders; 2005. p. 361-83.
- [84] Nadler SB, Hidalgo JH, Bloch T. Prediction of blood volume in normal human adults. *Surgery*. 1962;51:224-32.
- [85] Guedel AE. *Inhalation Anesthesia*. New York: The Macmillan Company; 1952.
- [86] Yang ZJ, Price CD, Bosco G, Tucci M, El-Badri NS, Mangar D, et al. The effect of isovolemic hemodilution with oxycyte, a perfluorocarbon emulsion, on cerebral blood flow in rats. *PLoS One*. 2008;3:e2010.
- [87] Johannes T, Mik EG, Nohe B, Unertl KE, Ince C. Acute decrease in renal microvascular PO<sub>2</sub> during acute normovolemic hemodilution. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;292:F796-803.
- [88] van Bommel J, Siegemund M, Henny CP, Trouwborst A, Ince C. Critical hematocrit in intestinal tissue oxygenation during severe normovolemic hemodilution. *Anesthesiology*. 2001;94:152-60.
- [89] Godier A, Durand M, Smadja D, Jeandel T, Emmerich J, Samama CM. Maize- or potato-derived hydroxyethyl starches: is there any thromboelastometric difference? *Acta Anaesthesiol Scand*. 2010;54:1241-7.
- [90] Lee HB, Blaufox MD. Blood volume in the rat. *J Nucl Med*. 1985;26:72-6.
- [91] Daly JA, Ertingshausen G. Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the "CentrifChem". *Clin Chem*. 1972;18:263-5.
- [92] Koschack J. Standardabweichung und Standardfehler: der kleine, aber feine Unterschied. *Z Allg Med*. 2008;84:258-60.
- [93] Kurtz I, Kraut J, Ornekian V, Nguyen MK. Acid-base analysis: a critique of the Stewart and bicarbonate-centered approaches. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;294:F1009-31.
- [94] Garella S, Dana CL, Chazan JA. Severity of metabolic acidosis as a determinant of bicarbonate requirements. *N Engl J Med*. 1973;289:121-6.
- [95] Akanji AO, Hockaday TD. Acetate tolerance and the kinetics of acetate utilization in diabetic and nondiabetic subjects. *Am J Clin Nutr*. 1990;51:112-8.
- [96] Davidson WD, Rorke SJ, Guo LS, Morin RJ. Comparison of acetate-1-14C metabolism in uremic and nonuremic dogs. *Am J Clin Nutr*. 1978;31:1897-902.

- [97] Forsythe SM, Schmidt GA. Sodium bicarbonate for the treatment of lactic acidosis. *Chest*. 2000;117:260-7.
- [98] Mathieu D, Neviere R, Billard V, Fleyfel M, Wattel F. Effects of bicarbonate therapy on hemodynamics and tissue oxygenation in patients with lactic acidosis: a prospective, controlled clinical study. *Crit Care Med*. 1991;19:1352-6.
- [99] Cooper DJ, Walley KR, Wiggs BR, Russell JA. Bicarbonate does not improve hemodynamics in critically ill patients who have lactic acidosis. A prospective, controlled clinical study. *Ann Intern Med*. 1990;112:492-8.
- [100] Graf H, Arieff AI. The use of sodium bicarbonate in the therapy of organic acidosis. *Intensive Care Med*. 1986;12:285-8.
- [101] Grocott MP, Mythen MG, Gan TJ. Perioperative fluid management and clinical outcomes in adults. *Anesth Analg*. 2005;100:1093-106.
- [102] Lang F. Niere. In: Schmidt RF, Lang F, Heckmann M, editors. *Physiologie des Menschen*. 31 ed. Heidelberg: Springer; 2010. p. 629-63.
- [103] Doetsch N, Zerkowski H-R, Weyer B, Reidemeister JC. Histidin-Elimination nach Inkorporation histidingepufferter kardioplegischer Lösung. *Thorac Cardiovasc Surg*. 1987;35:44-5.
- [104] Block WD, Westhoff MH, Steele BF. Histidine metabolism in the human adult: histidine blood tolerance, and the effect of continued free L-histidine ingestion on the concentration of imidazole compounds in blood and urine. *J Nutr*. 1967;91:189-94.
- [105] Bender DA. Histidine. In: Bender DA, editor. *Amino Acid Metabolism*: Wiley-Blackwell; 2012. p. 305-22.
- [106] Duran M. Amino Acids. In: Blau N, Duran M, Gibson KM, editors. *Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics*. Berlin: Springer; 2008. p. 53-88.
- [107] Ghadimi H. Histidinemia: Emerging Clinical Picture. In: Nyhan WL, editor. *Heritable Disorders of Amino Acid Metabolism: Patterns of Clinical Expression and Genetic Variation*. New York: John Wiley & Sons; 1974. p. 265-92.
- [108] Mehler AH, Tabor H. Deamination of histidine to form urocanic acid in liver. *J Biol Chem*. 1953;201:775-84.
- [109] Virmani K, Widhalm K. Histidinemia: a biochemical variant or a disease? *J Am Coll Nutr*. 1993;12:115-24.
- [110] Wadman SK, de Bree PK. Histidinemia, Symptom or Disease. In: Kluthe R, Katz NR, editors. *Histidine*. Stuttgart: Georg Thieme Publishers; 1979. p. 43-7.
- [111] Waters WE, Greene WJ, Keyser JW. Plasma urea concentrations in the general population: comparison with 'hospital normal values'. *Postgrad Med J*. 1967;43:695-700.
- [112] Thomas L. Stoffwechsel-Parameter. In: Thomas L, editor. *Labor und Diagnose*. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 2012. p. 282.
- [113] Haynes W. *Handbook of Chemistry and Physics*. 93 ed: CRC Press; 2012-2013.
- [114] Svenmarker S, Haggmark S, Ostman M. What is a normal lactate level during cardiopulmonary bypass? *Scand Cardiovasc J*. 2006;40:305-11.
- [115] Haisjackl M, Birnbaum J, Redlin M, Schmutzler M, Waldenberger F, Lochs H, et al. Splanchnic oxygen transport and lactate metabolism during normothermic cardiopulmonary bypass in humans. *Anesth Analg*. 1998;86:22-7.
- [116] Toraman F, Evrenkaya S, Yuce M, Aksoy N, Karabulut H, Bozkulak Y, et al. Lactic acidosis after cardiac surgery is associated with adverse outcome. *Heart Surg Forum*. 2004;7:E155-9.
- [117] Takami Y, Ina H. Significance of the initial arterial lactate level and transpulmonary arteriovenous lactate difference after open-heart surgery. *Surg Today*. 2002;32:207-12.
- [118] Parolari A, Alamanni F, Gherli T, Bertera A, Dainese L, Costa C, et al. Cardiopulmonary bypass and oxygen consumption: oxygen delivery and hemodynamics. *Ann Thorac Surg*. 1999;67:1320-7.

- [119] Gasparovic H, Plestina S, Sutlic Z, Husedzinovic I, Coric V, Ivancan V, et al. Pulmonary lactate release following cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2007;32:882-7.
- [120] Ariza M, Gothard JW, Macnaughton P, Hooper J, Morgan CJ, Evans TW. Blood lactate and mixed venous-arterial PCO<sub>2</sub> gradient as indices of poor peripheral perfusion following cardiopulmonary bypass surgery. *Intensive Care Med.* 1991;17:320-4.
- [121] Noval-Padillo JA, Serra-Gomez C, Gomez-Sosa L, Hinojosa-Perez R, Huici-Moreno MJ, Adsuar A, et al. Changes of lactate levels during cardiopulmonary bypass in patients undergoing cardiac transplantation: possible early marker of morbidity and mortality. *Transplant Proc.* 2011;43:2249-50.
- [122] Jabbari A, Banihashem N, Alijanpour E, Vafaey HR, Alereza H, Rabiee SM. Serum lactate as a prognostic factor in coronary artery bypass graft operation by on pump method. *Caspian J Intern Med.* 2013;4:662-6.
- [123] Mustafa I, Roth H, Hanafiah A, Hakim T, Anwar M, Siregar E, et al. Effect of cardiopulmonary bypass on lactate metabolism. *Intensive Care Med.* 2003;29:1279-85.
- [124] Mustafa I, Leverve XM. Metabolic and hemodynamic effects of hypertonic solutions: sodium-lactate versus sodium chloride infusion in postoperative patients. *Shock.* 2002;18:306-10.
- [125] Neitzel TS, M.; Bushnaq, H. Statistische Analyse der in Deutschland durchgeführten Perfusionen - Ergebnisse einer Umfrage 2013. *Kardiotechnik.* 2014;10:12-22.
- [126] Hiebl B, Mrowietz C, Ploetze K, Matschke K, Jung F. Critical hematocrit and oxygen partial pressure in the beating heart of pigs. *Microvasc Res.* 2010;80:389-93.
- [127] Zander R. Metabolizable Anions. In: Zander R, editor. *Fluid Management. Melsungen: Bibliomed; 2005. p. 18-31.*
- [128] Imai A, Steffey EP, Farver TB, Ilkiw JE. Assessment of isoflurane-induced anesthesia in ferrets and rats. *Am J Vet Res.* 1999;60:1577-83.
- [129] Dardai E, Heavner JE. Respiratory and cardiovascular effects of halothane, isoflurane and enflurane delivered via a Jackson-Rees breathing system in temperature controlled and uncontrolled rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1987;9:717-20.
- [130] Casey JR, Grinstein S, Orłowski J. Sensors and regulators of intracellular pH. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11:50-61.
- [131] Krieger NS, Frick KK, Bushinsky DA. Mechanism of acid-induced bone resorption. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2004;13:423-36.
- [132] Oh MS. External Balance of Electrolytes and Acids and Alkali. In: Alpern RJC, Caplan MJ, Moe OW, editors. *Seldin and Giebisch's The Kidney Physiology and Pathophysiology.* 5 ed: Academic Press; 2013. p. 291-317.
- [133] Aronson PS, Giebisch G. Effects of pH on potassium: new explanations for old observations. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22:1981-9.
- [134] Koay ESC, Walmsley N. Potassium. In: Koay ESC, Walmsley N, editors. *A Primer of Chemical Pathology: World Scientific Singapore; 1996. p. 25-34.*
- [135] Weiner ID, Linas SL, Wingo CS. Disorders of Potassium Metabolism. In: Floege J, Johnson RJ, Feehally J, editors. *Comprehensive Clinical Nephrology.* 4 ed: Elsevier Saunders; 2010. p. 118-29.
- [136] Veverbrants E, Chazan JA, Garella S. Ammonium excretion in response to acid loads: effect of metabolic alkalosis and cation depletion. *J Lab Clin Med.* 1977;89:1251-61.
- [137] Aizawa Y, Ohmori T, Imai K, Nara Y, Matsuoka M, Hirasawa Y. Depressant action of acetate upon the human cardiovascular system. *Clin Nephrol.* 1977;8:477-80.
- [138] Daugirdas JT, Wang X, Nutting C, Swanson V, Agrawal A. Depressant effect of acetate in isolated cardiac tissue. *Cardiovasc Res.* 1988;22:566-70.
- [139] Kirkendol RL, Pearson JE, Bower JD, Holbert RD. Myocardial depressant effects of sodium acetate. *Cardiovasc Res.* 1978;12:127-36.



- [140] Hussmann B, Lendemans S, de Groot H, Rohrig R. Volume replacement with Ringer-lactate is detrimental in severe hemorrhagic shock but protective in moderate hemorrhagic shock: studies in a rat model. *Crit Care*. 2014;18:R5.
- [141] Rohrig R, Ronn T, Lendemans S, Feldkamp T, de Groot H, Petrat F. Adverse effects of resuscitation with lactated ringer compared with ringer solution after severe hemorrhagic shock in rats. *Shock*. 2012;38:137-45.
- [142] Rohrig R, Wegewitz C, Lendemans S, Petrat F, de Groot H. Superiority of acetate compared with lactate in a rodent model of severe hemorrhagic shock. *J Surg Res*. 2014;186:338-45.
- [143] Tabei K, Muto S, Furuya H, Sakairi Y, Ando Y, Asano Y. Potassium secretion is inhibited by metabolic acidosis in rabbit cortical collecting ducts in vitro. *Am J Physiol*. 1995;268:F490-5.
- [144] Weiner ID, Linas SL, Wingo CS. Disorders in Potassium Metabolism. In: Floege J, Johnson RJ, Feehally J, editors. *Comprehensive Clinical Nephrology*. 4 ed: Elsevier Saunders; 2010. p. 118-29.
- [145] Stanton BA, Giebisch G. Effects of pH on potassium transport by renal distal tubule. *Am J Physiol*. 1982;242:F544-51.
- [146] Thiemeier JH. Nephroprotektive Eigenschaften des Betablockers Nebivolol im tierexperimentellen chronischen Niereninsuffizienzmodell der 5/6-Nephrektomie [Dissertation]. Berlin: Freie Universität Berlin; 2007.
- [147] Edwards JD, Nightingale P, Wilkins RG, Faragher EB. Hemodynamic and oxygen transport response to modified fluid gelatin in critically ill patients. *Crit Care Med*. 1989;17:996-8.
- [148] Dieterich HJ. [Colloids in intensive care]. *Anaesthesist*. 2001;50:54-68.
- [149] Sirtl CL, H.; Schimetta, W. Volumenersatzlösungen. In: Roissant RW, C.; Zwißler, B., editor. *Die Anästhesiologie*. Heidelberg: Springer; 2008. p. 383-408.
- [150] Mc GR, Gleason JR, Adams MR. Amylase distribution in extrapancreatic, extrasalivary tissues. *Arch Biochem Biophys*. 1958;75:403-11.
- [151] Förster H, Asskali F. Grundlage der Anwendung von Hydroxyethylstärke - Was ist gesichert, was ist Spekulation? *J A I*. 1998;5:2-11.
- [152] Morris M. Neurohypophyseal response to dehydration in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*. 1982;4:161-6.

## 10 Anhang

### 10.1 Abkürzungsverzeichnis

$^1\text{H-NMR}$	englisch: nuclear magnetic resonance
ANOVA	englisch: analysis of variance
BE	englisch: base excess
BGA	Blutgasanalyse
CABG	Koronararterien-Bypass
CPB	kardiopulmonaler Bypass
HES	englisch: hydroxyethyl starch
HLM	Herz-Lungen-Maschine
ID	englisch: inner diameter
KGW	Körpergewicht
$K_M$ -Wert	Michaeliskonstante
MAP	englisch: mean arterial pressure
NaCl	Natriumchlorid
OD	englisch: outer diameter
$p\text{CO}_2$	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
$pK_S$ -Wert	negativer dekadischer Logarithmus der Säurekonstanten
s.c.	subcutan
SEM	englisch: standard error of the mean
TSG	Tierschutzgesetz
v/v	Volumenprozent

## 10.2 Zusammensetzung weiterer Lösungen

**Tabelle 22: Zusammensetzung der verwendeten kardioplegischen Lösung Custodiol.**

<b>Substanz</b>	<b>Molarität (mM)</b>
Natrium	15,0
Kalium	10,0
Magnesium	4,0
Calcium	0,015
Histidin	198,0
Tryptophan	2,0
$\alpha$ -Ketoglutarat	1,0
Mannitol	30,0

**Tabelle 23: Zusammensetzung der kristalloiden Lösung Jonosteril zur basalen Infusionstherapie während Bypass-Operationen.**

<b>Substanz</b>	<b>Molarität (mM)</b>
Natrium	137,0
Kalium	4,0
Magnesium	1,25
Calcium	1,65
Chlorid	110,0
Acetat	36,8

### 10.3 Publikationsliste

#### Publikationen

Teloh J.K., Dohle D.-S., Petersen M., Verhaegh R., Waack I.N., Roehrborn F., Jakob H., de Groot H.: Histidine and other amino acids in blood and urine after administration of Bretschneider solution for cardioplegic arrest in patients. Effects on N-metabolism., *in preparation*

Teloh J.K., Dohle D.-S., Sönmez S., Tsagakis K., Verhaegh R., Petersen M., Jakob H., de Groot H.: Transient dilutional acidosis but no lactic acidosis upon cardiopulmonary bypass in patients undergoing coronary artery bypass grafting, *Archives of Medical Science in press*

Teloh J.K., Ferenz K.B., Petrat F., Mayer C., de Groot H.: Acid-base and electrolyte status during normovolemic hemodilution with succinylated gelatin or HES-containing volume replacement solutions in rats. *PLoS ONE*. 8 (9), e72848, 2013

#### Poster und Vorträge

2. – 3. Dezember 2014: Workshop „Therapie ischämischer Erkrankungen“: „*Einfluss der Ammonium-Ausscheidung auf den Säure-Base-Haushalt nach experimenteller normovolämischer Hämodilution*“, Marienthal

2. – 3. Dezember 2014: Workshop „Therapie ischämischer Erkrankungen“: „*Erste Ergebnisse der Beobachtungsstudie bei Bypass-Patienten hinsichtlich Parameter des Säure-Base-Haushalts*“, Marienthal

27. – 29. November 2014: 20. Workshop „Zell- und Gewebeschädigung: Mechanismen, Protektion und Therapie“; Jahrestreffen „Ischämie, Reperfusion und Angiogenese“ der Graduiertenschule BIOME: „*Einfluss der Ammonium-Ausscheidung auf den Säure-Base-Haushalt nach experimenteller normovolämischer Hämodilution*“, Xanten

9. – 10. Mai 2014: Workshop „Therapie ischämischer Erkrankungen“: „*Bypass-Patienten als Modell für Veränderungen im Säure-Base-Haushalt*“, Marienthal

9. – 10. Mai 2014: Workshop „Therapie ischämischer Erkrankungen“: „*Zusammenhang zwischen Volumenstatus und Säure-Base-Haushalt nach normovolämischer Hämodilution – Eine Hypothese*“, Marienthal

28. – 30. November 2013: 19. Workshop „Zell- und Gewebeschädigung: Mechanismen, Protektion und Therapie“; Jahrestreffen „Ischämie, Reperfusion und Angiogenese“ der Graduiertenschule BIOME: „*Zusammenhang zwischen Volumenstatus und Säure-Base-Haushalt nach normovolämischer Hämodilution – Eine Hypothese*“, Xanten

22. November 2013: Forschungstag der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen; Teloh J.K., Ferenz K.B., Mayer C., de Groot H.: *Zusammenhang zwischen Volumenstatus und Säure-Base-Haushalt nach normovolämischer Hämodilution – Eine Hypothese*, Essen

29. November – 1. Dezember 2012: 18. Workshop „Zell- und Gewebeschädigung: Mechanismen, Protektion und Therapie“; Jahrestreffen „Ischämie, Reperfusion und Angiogenese“ der Graduiertenschule BIOME: „*Vergleich dreier gelatinepolysuccinathaltiger Volumensubstitutionslösungen und ihr Effekt auf den Säure-Base-Haushalt im Modell der normovolämischen Hämodilution in der Ratte*“, Xanten

#### **10.4 Lebenslauf**

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

## 10.5 Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel

**„Untersuchungen zur akuten metabolischen Azidose  
bei herzchirurgischen Patienten und  
in einem tierexperimentellen Modell“**

selbst verfasst und keine außer den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen benutzt habe, und dass die Arbeit in dieser oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Universität eingereicht wurde.

Essen, im September 2015

## 10.6 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum zwischen Oktober 2012 und September 2015 am Institut für Physiologische Chemie des Universitätsklinikums Essen angefertigt.

Mein größter Dank gilt **Prof. Dr. Dr. Herbert de Groot** für die Bereitstellung einer wissenschaftlichen Stelle, die Überlassung des hochinteressanten Themas sowie die inhaltliche Begleitung dieser Arbeit.

Für die Übernahme des Korreferats danke ich **Prof. Dr. Christian Mayer** vom Institut für Physikalische Chemie der Universität Duisburg-Essen.

**Herrn Prof. Dr. Michael Kirsch, Frau Dr. Katharina Effenberger-Neidnicht, Frau Dr. Katja Ferenz, Frau Dr. Ricarda Rohrig, Frau Dr. Rabea Verhaegh und Frau Dr. Indra Waack** danke ich für die fachliche Unterstützung bei Fragen jeglicher Art und die Einarbeitung in neue Methoden.

Mein weiterer Dank gilt **Frau M. Sc. Lisa Brencher, Herrn B. Sc. Johannes Jägers, Frau cand. med. Lisa Kremer, Frau M. Sc. Maren Oude Lansink, Frau Dr. Julia Laudien und Frau Kristina Piwellek** für die nette Atmosphäre, die stete Hilfsbereitschaft und die vielfältigen Anregungen.

Für die im Rahmen von Kooperationen stattgefundenen Bestimmungen der Aminosäurekonzentrationen sowie der Quantifizierung der Gelatinepolysuccinat-konzentrationen danke ich **Frau Dipl.-Chem. Miriam Petersen und Herrn Markus Mallek** der Überörtlichen Berufsausübungsgemeinschaft MVZ Dr. Eberhard und Partner in Dortmund bzw. **Herrn Prof. Christian Mayer und Herrn Manfred Zähres** vom Institut für Physikalische Chemie der Universität Duisburg-Essen.

Für die Ermöglichung der Beobachtungsstudie in der Klinik für Thorax- und Kardiovaskuläre Chirurgie am Universitätsklinikum Essen danke ich dem Direktor der Klinik Herrn **Prof. Dr. Heinz Jakob**.

**Dr. Daniel-Sebastian Dohle** aus der Klinik für Thorax- und Kardiovaskuläre Chirurgie am Universitätsklinikum Essen gebührt der Dank für die gemeinsame Planung und Durchführung der Beobachtungsstudie und die überaus gute und dynamische Zusammenarbeit.

**Meinen Eltern Dieter und Marieluise Teloh** gebührt mein tiefer Dank für die Ermöglichung meines Studiums. Für die vielfältige Unterstützung während der Zeit der Promotion danke ich **meiner gesamten Familie und Marc Benger**.