

Aus dem Zentrum der Anaesthesiologie und Wiederbelebung
der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
Institut für Experimentelle Anaesthesiologie

(Direktor: Prof. Dr. med. H. Förster)

**Metabolismus und Speicherung
von Hydroxyethylstärke
in der perfundierten Rattenleber**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von

Martin Franck

aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main, 1998

Vom Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe - Universität
Frankfurt am Main als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. med. G. v. Jagow

- 1. Gutachter (Referent) : Prof. Dr. med. H. Förster
- 2. Gutachter (Korreferent) : Prof. Dr. med. M. Sachs

Tag der mündlichen Prüfung:

Die vorliegende Arbeit wurde vom August 1989 bis November 1992 im Zentrum für Anaesthesiologie und Wiederbelebung der Johann Wolfgang Goethe - Universität Frankfurt am Main, im Institut für Experimentelle Anaesthesiologie (Direktor: Prof. Dr. H. Förster) angefertigt.

Mein besonderen Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Förster, Direktor des Instituts für Experimentelle Anaesthesiologie des Zentrums für Anaesthesiologie und Wiederbelebung des Universitätsklinikums Frankfurt am Main für die Überlassung des Themas und die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes mit den benötigten Sachmitteln, sowie für seine fachlichen Ratschläge, Anregungen und seine Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit.

Mein Dank gilt ferner Frau Dr. F. Asskali, wissenschaftliche Assistentin im Institut für Experimentelle Anaesthesiologie, für ihre fachlichen Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit und für ihre Unterstützung bei der Abfassung.

Außerdem danke ich allen wissenschaftlichen Mitarbeitern und Doktoranden für die kollegiale Zusammenarbeit, sowie allen medizinisch-technischen Assistentinnen des Labors von Herrn Professor Förster, stellvertretend hierfür Frau I. Hoos, für die Anleitungen zur praktischen Tätigkeit und für die stete Hilfsbereitschaft.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Problemstellung	6
1.1	Einleitung	6
1.2	Problemstellung	19
2	Methodik	20
2.1	Analytische Methoden	20
2.1.1	α -Amylase	20
2.1.2	Glucose	20
2.1.3	Lactat	21
2.1.4	Harnstoffbestimmung im Serum	22
2.1.5	Bestimmung von Hämoglobin	22
2.1.6	Bestimmung von Hydroxyethylstärke	23
2.1.6.1	Methodik des Nachweises von HES	23
2.1.6.2	Bestimmung von HES im Plasma	23
2.1.6.3	Bestimmung von HES in der Leber	25
2.2	Tierversuche	26
2.2.1	Leberperfusion	26
2.2.2	Blutentnahme aus der Aorta abdominalis	28
2.2.3	Erythrozyten Waschung	28
2.3	Perfusionsmedien	29
2.4	Statistische Auswertungsmethoden	30

3	Ergebnisse	31
3.1	α -Amylase	31
3.2	Glucose	31
3.3	HES im Plasma	33
3.4	HES im Organ	34
3.5	Harnstoff	34
3.6	Lactat	34
3.7	Hämoglobin	35
4	Diskussion	36
5	Zusammenfassung	44
6	Dokumentation der Ergebnisse	45
	Tabellen und Abbildungen	45
7	Literaturverzeichnis	53
8	Ehrenwörtliche Erklärung	62
9	Lebenslauf	63

1 Einleitung und Problemstellung

1.1 Einleitung

Seit 1881 Landerer zum ersten mal eine Kochsalzinfusion am Menschen durchführte, wird Infusionstherapie betrieben. Bereits kurz nach der Entdeckung von hochmolekularen Verbindungen im Plasma für die Regulation des Flüssigkeitshaushaltes wurden erste Versuche mit Kohlenhydraten als hochmolekularer Eiweißersatz durchgeführt (Morawitz 1906). Stärkederivate wurden frühzeitig auf ihre Eignung als Hydrokolloide untersucht (Wiedersheim 1957) und dann zu Beginn der siebziger Jahre in die klinische Verwendung eingeführt.

Ursprünglich wurde Hydroxyethylstärke zur Behandlung verschiedener hypovolämischer Zustände entwickelt. Die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks, und die Erhöhung des Blutvolumens und der Herzfüllung führen zu einem erhöhten Herzzeitvolumens und Organperfusion. Während der letzten Jahre wird es zusätzlich zur Antithrombose genutzt (um der tiefen Venenthrombose und Lungenembolie vorzubeugen), als Zusatz bei der Leukopherese (um die Ausbeute an Leukozyten zu erhöhen), während der extrakorporalen Zirkulation, zur extrazellulären Kryokonservierung (um die Blutzellfunktion während der Lagerung zu erhalten), zur Hämodilutionstherapie (Kretzschmar 1988), und als Zusatz in hypertonisch-hyperonkotischen Lösungen (Messmer 1987 und 1988).

Die Beweggründe für die Suche nach einem körperfremden Plasmaersatzmittel waren über 100 Jahre lang sehr verschiedene. Zunächst standen sicher das Unwissen über die Blutgruppenserologie und die fehlende Konservierungsmöglichkeit von Blutbestandteilen im Vordergrund. Nachdem zwischen den Weltkriegen die Blut- und Plasmakonservierung entwickelt worden war, wurde die begrenzte Verfügbarkeit von humanen Spenderblut offenbar.

Trotz der hohen Qualität von Blutzubereitungen ist die Verabreichung homologer Komponenten nach wie vor mit Risiken verbunden, wobei die Fremdblut-induzierte Immunsuppression einen zunehmenden Stellenwert einnimmt. Das Wachstum maligner Tumoren wird ebenso wie die Neigung zur Remetastasierung begünstigt. Es führt zu abnormen Veränderungen innerhalb von Lymphozytensubpopulationen mit Umkehr des Helfer-Suppressorzellen-Quotienten. Außerdem bewirkt es einen Anstieg des immunsuppressiven Prostaglandin E sowie eine Einschränkung der Makrophagentätigkeit. Außerdem kann ein Immunisierungsprozeß induziert werden, welcher die Bildung sogenannter irregulärer Antikörper zur Folge hat, so daß im Falle eines späteren Bedarfs nur eine begrenzte Anzahl von kompatiblen Konserven zur Verfügung steht (v. Bormann 1989).

In den letzten Jahren schließlich versucht man, das Infektionsrisiko zu begrenzen (v. Herrath et al. 1990). Während die Hepatitis B nach Bluttransfusion mehr und mehr in den Hintergrund gerückt ist, wird in der überwiegenden Zahl der Posttransfusionsinfektionen eine Non-A-non-B-Hepatitis übertragen. Das Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) hat maßgeblich dazu beigetragen, das Interesse der medizinischen und nichtmedizinischen Öffentlichkeit an einer Vermeidung homologer Blutbestandteile zu erhöhen.

Die Angst vor Nebenwirkungen und Risiken homologer Blutprodukte hat dazu geführt, die Indikation zur Anwendung von Transfusionen kritisch zu stellen und den Hämoglobinwert als Transfusionstrigger auf subnormale Werte absinken zu lassen (v. Bormann 1988). Dabei wurden auch zunehmend HES in höheren Dosierungen angewandt (v. Bormann et al. 1990). Hierzu werden zur Volumensubstitution verschiedene Plasmaexpander angewendet (Klotz et al. 1987).

Ein ideales Plasmaersatzmittel sollte nach Förster folgende Voraussetzungen erfüllen (zitiert nach Didzun 1989):

- Die intravasale Verweildauer und die Wirkdauer sollten steuerbar sein.
- Beim Abbau sollten keine toxischen Metabolite entstehen.
- Die Gewebeeinlagerung sollte gering und reversibel sein.
- Der Hauptanteil des Kolloids sollte renal eliminiert werden.

Neben der Hydroxyethylstärke sind als künstliche Plasmaersatzmittel noch Gelatine und Dextran auf dem Markt. Während Gelatine für viele Anwendungsbereiche eine zu kurze Halbwertszeit besitzt, wird Dextran wegen seiner Nebenwirkungen (insbesondere Anaphylaxie und Gerinnungsstörungen) kaum noch eingesetzt (Didzun 1990). Nicht nur aus Kostengründen wurde die Indikation für Humanalbumin als homologes Plasmaersatzmittel zugunsten der Hydroxyethylstärke weitgehend eingeschränkt (v. Bormann et al. 1993).

Die Acetylstärke als weiteres künstliches Plasmaersatzmittel ist noch nicht auf dem Markt (Förster et al. 1991). Sie hätte zumindest ähnliche pharmakokinetische Eigenschaften, ohne Gefahr der Speicherung (Meier et al. 1994).

Hydroxyethylstärke (HES) ist ein weitverbreitet genutztes Plasmaersatzmittel. Nebenwirkungen von HES wie Flush, Urtikaria und Blutdruckabfälle sowie so schwere Reaktionen wie Schock oder Herzstillstand wurden berichtet, aber mit einer niedrigeren Inzidenz als von anderen Plasmaersatzmitteln (Dt. Ärzteblatt 1993 b). Auch in jüngster Zeit wurde immer wieder Bedenken geäußert, z. B. wegen einer potentiellen Nephrotoxizität und dem auftretenden Pruritus (Dt. Ärzteblatt 1993 a).

Die ,durch die Viskosität im Primärharn bedingte, Beeinträchtigung der Nierenfunktion kann aber bei Beachtung einer ausreichenden Flüssigkeitszufuhr vermieden werden (Köhler et al. 1982 a,b,b, Waldhausen et al. 1991), und es kann nicht von einer direkten Nephrotoxizität gesprochen werden.

Da die Nebenwirkungen bekannt sind, können die meisten vermieden werden, wenn auf korrekte Anwendung geachtet wird. (Dt. Ärzteblatt 1993 b). Bestehen blieb allerdings der Vorwurf gegen den, vermutlich durch Speicherung bedingten, Pruritus bei Dauerapplikation hoher Dosen (Jurecka et al. 1993).

Das Ausgangsmaterial bei der Herstellung von Hydroxyethylstärke, die native pflanzliche Wachsstärke, ist dem körpereigenen Polysaccharid Glykogen sehr ähnlich. Eventuelle Antikörper gegen Stärke müßten daher auch gegen Glykogen gerichtet sein. Darüber hinaus entsteht durch die Substitution (Einführung von Hydroxyethylgruppen) eine sehr hydrophile neuartige Substanz, die das Entstehen von Antikörpern selbst bei mehrmaligen Kontakt eher unwahrscheinlich macht. Im Gegensatz zu Dextran ist die Existenz von präformierten Antikörpern gegen HES unwahrscheinlich (Sirtl et al. 1991).

Stärke ist ebenso wie Glykogen in neutralem Milieu kaum löslich. Sie verkleistert durch Zusammenlagerung aufgrund von intermolekularen Wechselwirkungen. Erst durch die Einführung von als Störstellen wirkenden zusätzlichen Gruppen in das Stärkemolekül wird eine ausreichende Wasserlöslichkeit erreicht. Durch Anhängen von Hydroxyethylgruppen an die Glucose der Stärke wird einerseits die Stärke in Lösung gebracht, andererseits haben die Hydroxyethylgruppen einen entscheidenden Einfluß auf den Abbau, die Elimination und die Speicherung in den Organen. So konnten in früheren Untersuchungen nachgewiesen werden, daß durch eine Erhöhung des Substitutionsgrades die Konzentration der Hydroxyethylstärke im Serum und in den Organen stärker beeinflußt wird als durch eine Erhöhung des Molekulargewichts (Mishler et al. 1979 a,b,c,d, 1980 a,b,c,d).

Die Hydroxyethylstärke ist definiert durch das Massenmittel der Molmassen (M_w), die molare Substitution (MS) und den Substitutionsgrad (DS). Das Molekulargewicht von HES kann über zwei verschiedene Größen angegeben werden, was häufig zu Verwirrungen führt. Das mittlere Molekulargewicht oder Massenmittel (M_w) errechnet sich unter Annahme einer Normalverteilung der Massen aus der Einwaage und der Molarität. Demgegenüber steht das Zahlenmittel (M_n) oder der mittlere Wert (Median) der Molekulargewichtsverteilung. Hierbei wird die reale Häufigkeitsverteilung der Moleküle auch außerhalb der Normalverteilung erfaßt. Der mittlere Wert (Median) liegt bei HES infolge einer schiefen (semilogarithmischen) Verteilung deutlich unterhalb des Mittelwertes der Molmassen.

Durch den Quotienten zweier Molekulargewichte läßt sich die Breite einer Molekulargewichtsverteilung kennzeichnen. Bei einer Normalverteilung sind dagegen Mittelwert und mittlerer Wert (Median) identisch (siehe auch Thompson 1981, Mishler 1982). Unterschiedliche Meßmethoden führen zu unterschiedlichen Angaben der Molmassen (Ferber 1984, Lederer et al. 1985, Sommermeyer et al. 1987).

Die Bezeichnung Substitutionsgrad (DS) und molare Substitution (MS) werden in der Literatur oft uneinheitlich verwandt. So entspricht der angegebene „Substitutionsgrad“ von handelsüblichen Lösungen von HES wohl vielfach dem technisch wesentlich einfacher zu bestimmenden molaren Substitutionsgrad. Bei der molaren Substitution wird die mittels chemischer Methoden gemessene Zahl der Hydroxyethylgruppen (in Mol) der Zahl der gesamten Glucoseeinheiten des Makromoleküls nach Hydrolyse (in Mol) gegenübergestellt. Dabei ist es gleichgültig, ob die jeweilige substituierte Glucoseeinheit nur einen oder aber mehrere Substituenten trägt.

Dieser Wert kann theoretisch über drei liegen, bei vollständiger Substitution der drei Kohlenstoffatome und zusätzlicher Mehrfachsubstitution. Beim „Substitu-

tionsgrad“ wird davon abgehend festgelegt, welcher Anteil an Glucoseeinheiten überhaupt substituiert ist und dieser den nichtsubstituierten Glucoseeinheiten gegenübergestellt.

Die Abbaurate durch die α -Amylase ist aber stärker durch den DS als MS bestimmt. Der Substitutionsgrad kann den Wert 1,0 per definitionem nicht überschreiten und ist daher immer niedriger als die molare Substitution. Dennoch ist bis zu einem Substitutionsgrad kleiner als 0,5 das Verhältnis von molekularer Substitution zum Substitutionsgrad beinahe eins. (Banks et al. 1972).

Dennoch gibt es Präparate mit gleichen Mw und DS aber unterschiedlicher Wirkung (Heilmann et al. 1991). Genauere Untersuchungen weiterer Parameter sollen helfen, die unterschiedlichen Sorten besser einzuschätzen (Sommermeyer et al. 1992).

In Stärke stehen infolge der glykosidischen Bindung C1 und C4 als Substitutionsstellen nicht zur Verfügung. Durch die Verzweigungsstellen an C6 sind circa 5-15% der dortigen Hydroxylgruppen ebenfalls verschlossen, es verbleiben 95-85% freie Hydroxylgruppen an C6 zur möglichen Substitution. Die Hydroxylgruppen an C3 und an C2 stehen unbegrenzt für Reaktionen zur Verfügung. Im Gegensatz zur Cellulose, bei der die Substitution bevorzugt am C6 stattfindet, erfolgt die Substitution bei Stärke bevorzugt an C2 in unmittelbarer Nachbarschaft zur glykosidischen Bindung. Darüber hinaus wird in geringerem Umfang auch an C3 und an C6 substituiert (Banks et al. 1973).

Es ist davon auszugehen, daß durch Substitution der Hydroxylgruppen an C2 aus räumlichen Gründen die Wirkung von hydrolysierenden Enzymen (Glycosidasen) stärker beeinträchtigt wird als durch Substitution an C6, so daß die Abbaurate auch durch das Verhältnis der Substitution von C2 und C6 beeinflusst wird (Yoshida et al. 1973, 1984 a,b,c, Sommermeyer et al. 1987, Weidler et al. 1991).

Die zur Zeit im Handel befindlichen Hydroxyethylstärken (HES) verfügen über ein Massenmittel der Molmassen (Mw) von 450.000, 200.000 und 40.000 sowie eine molare Substitution von 0,70 und 0,50. Ein Hydroxyethylstärke mit einem Mw von 450.000 und einer molaren Substitution von 0,70 wird durch die Bezeichnung HES 450/0,7 dargestellt, demnach wird eine HES mit einem Massenmittel (Mw) von 200.000 und einer molaren Substitution von 0,50 als eine HES 200/0,5 bezeichnet. Man kann die verschiedenen HES-Zubereitungen nach ihrer Wirksamkeit in kurzmittel- und langfristig wirkende Präparate einteilen (Pöhlmann 1991).

Die Indikation der einzelnen Präparate wurde unterschiedlich gesehen. Während Halmágyi (1984) HES 40/0,5 bevorzugt, wegen der geringeren Gefahr der Kreislaufüberladung, lehnten v. Bormann et al. (1985) es wegen der geringen Wirkdauer ab. So kann man nur die Empfehlung Halmágyis (1985) wiederholen, daß jeder Arzt das Präparat nach Kenntnis der Vor- und Nachteile selbst aussuchen muß.

Es ist festgestellt worden, daß durch Bindung von HES und α -Amylase zu schwer dissoziablen Komplexen die Elimination von α -Amylase aus dem Serum behindert wird (Köhler et al. 1978 a,b, Mishler et al. 1979 a,b,c,d).

Die Aktivität der Serumamylase steigt nach der HES-Infusion um ungefähr das Doppelte des Ausgangswertes an (Boon et al. 1976). Dieser Enzym-Substrat-Komplex verschwindet nach zwei bis fünf Tagen und bedarf keiner diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen. Es ist anzunehmen, daß die α -Amylasegesamtaktivität im vaskulären Raum nicht ausreichend sein sollte, um wirksam zum Abbau der vorhandenen HES beizutragen. Die geringe Wahrscheinlichkeit der α -Amylase die hydroxyethylierte Stärke zu spalten wurde schon von Banks et al. (1972) beschrieben.

Die Komplexbildung zwischen dem Enzym und dem modifizierten Substrat spricht zudem für eine relativ geringe Wirksamkeit des Enzyms, die Substitution scheint die Aktivität des Enzyms stärker zu hemmen. Das an ein Substratmolekül gebundene Enzym ist zudem für den Zeitraum der Bindung an das eine Substratmolekül gegenüber anderen Substratmolekülen inaktiviert. Auch dies spricht für eine weitere Einschränkung der an sich bereits geringen Aktivität der Serumamylase und gegen deren größerer Bedeutung bei der Elimination von HES. Die Spaltung der Hydroxyethylgruppe konnte innerhalb von sechs Stunden nicht nachgewiesen werden (Bogan et al. 1969). Es sind auch keine Enzyme bekannt, die die Etherbindung in der Hydroxyethylstärke angreifen könnten, das heißt, daß der Abbau nur bis zur substituierten Oligosaccharid oder Glucose möglich ist (Förster 1994).

Die intrazelluläre Spaltung von HES nach vorangehender Phagozytose durch Zellen des RES und die dortige Spaltung durch Hydrolasen mit saurem Wirkungsoptimum scheint von größerer Bedeutung zu sein als die intravasale Spaltung. Bereits kurz nach Einsatz in der Klinik wurde die Speicherung von Hydroxyethylstärke (HES) in der Leber entdeckt (Hölscher 1975, Lindblad et al. 1976). Die Messung der Stärkekonzentration in der Leber muß aber auch die möglichen Fehler durch natürliche Stärke (d.h. Glykogen) berücksichtigen (Messmer et al. 1978 a, b)(siehe auch Thompson 1977).

Es ist grundsätzlich festzustellen, daß eine vorübergehende Speicherung an einer oder an mehreren Stellen des Organismus eigentlich von allen Polymeren erwartet werden muß, die nicht rasch und vollständig über die Nieren ausgeschieden werden können.

Die vorübergehende Speicherung von Kolloiden, die als wirksamer Plasmaersatz verabreicht wurden, muß dementsprechend in Betracht gezogen werden.

Allerdings sollten sowohl Umfang wie Dauer der Speicherung möglichst niedrig gehalten werden. Man sollte jedoch nicht von der Plasmakonzentration auf die Menge im Gewebe schließen (Pfeifer et al. 1984).

Es wurde sowohl von Dextran als auch von HES eine Speicherung in den Zellen des RES beschrieben, bei der jedoch HES im Gegensatz zu Dextran keine Zellzerstörung hervorrief, ohne jedoch eine Beeinträchtigung der Funktion des RES bei beiden Plasmaexpandern zu vermuten (Paulini et al. 1976). Während eine Beeinträchtigung des RES durch HES kurze Zeit nach Infusion gesehen wurde (Schildt et al. 1975), konnte dieser Effekt zwei Tage nach HES-Gabe nicht nachgewiesen werden (Shatney et al. 1984). Dies wurde durch einen biphasischen Verlauf, mit kurzfristiger Beeinträchtigung und darauffolgender Steigerung der Aktivität des RES erklärt (White et al. 1986). Eine Steigerung wurden auch von Lenz et al. (1986) festgestellt, und als Erklärung der Dilutionseffekt angeboten. Von Lackner et al. (1990) wurden jedoch allenfalls eine geringe positive Veränderung der Phagozytoserate festgestellt. So gibt es also keinen Grund Intensivpatienten Hydroxyethylstärke aufgrund von vermuteten negativen Effekten auf das RES vorzuenthalten, insbesondere wenn der Outcome im Vergleich zu Humanalbumin als einziger erhältlicher Alternative für HES spricht (v. Bormann et al. 1993). Eine zukünftige Alternative könnte jedoch die Acetylstärke sein. Durch die unterschiedliche Substitution hätte sie den Vorteil, der theoretisch vollständigen Abbaubarkeit (Asskali et al. 1994).

Ein charakteristisches Merkmal der HES ist, daß sie mit der Zeit zu einer deutlichen Verlängerung der Halbwertszeiten kommt, das heißt die HES-Elimination erfolgt zunehmend langsamer. Dies beruht auf der Polydispersität (Mishler et al. 1979 c, d, Köhler et al. 1982 a): Die unterschiedlichen Halbwertszeiten der Molekül-Populationen überlagern sich. Hinzu kommen die durch die Spaltung der α -Amylase neugebildeten Moleküle (Yacobi et al. 1982).

Die sogenannte „persistierende Fraktion“, das heißt die per Definition nach zehn Tagen noch nachweisbare Restmenge im Serum, erwies sich als Charakteristikum der hochsubstituierten HES (Förster 1988 a,b). Bei der „niedersubstituierten“ oder „mittelsubstituierten“ HES mit einem Substitutionsgrad um 0,5 war zu diesem Zeitpunkt kein Polysaccharid mehr im Serum nachzuweisen, in der Regel war die HES sogar spätestens zwei bis drei Tage nach Applikation verschwunden.

Da sich die Substitutionsmuster unterschiedlicher HES nach mehreren Tagen immer mehr ähneln, scheint nur der Anteil der persistierenden Fraktionen in den unterschiedlichen Präparaten anfänglich zu differieren, aber nach der Spaltung durch die α -Amylase und der renalen Ausscheidung, doch immer eine ähnlich zusammengesetzte Fraktion zu persistieren (Fömmel et al. 1994).

Diese „persistierende Fraktion“ wäre bei bestimmten Indikationen als Vorteil zu werten, weil die ständige Nachapplikation entfallen könnte. Bei Patienten, die häufiger HES-Präparate erhalten, muß man auf eine Kumulation achten (Mishler et al. 1979 a,b,c,d, Ring et al. 1980).

Aufgrund der kugelförmigen Form der Moleküle sollte die Nierenschwelle für HES auch abhängig vom Substitutionsgrad deutlich unter 50 000 Dalton liegen. Bei höherer Substitution müßte durch die verstärkte Aufspreizung des Moleküls die Nierenschwelle schon bei niedrigeren Molmassen erreicht sein (Ferber et al. 1985).

Dementsprechend wird der Anteil an niedermolekularer HES rasch ausgeschieden (Mishler et al. 1981). Die innerhalb der ersten sechs Stunden nach Infusion ausgeschieden HES-Menge (als % der infundierten Dosis) liegt für HES 450/0,7 bei 10,3%, für HES 450/0,5 bei 26,8% und für HES 450/0,3 bei 31,4%.

Von der infundierten HES 200 wurden innerhalb von sechs Stunden bei einer Substitution von 0,7 9,3%, bei einer Substitution von 0,5 30,1% und bei einer Substitution von 0,3 37,7% der applizierten Menge renal ausgeschieden. Der Einfluß des großen Anteil niedermolekularer Teilchen macht sich bei der Ausscheidung von HES 40/0,5 bemerkbar: Hier wurden innerhalb der ersten sechs Stunden 48,1 % der infundierten Menge gefunden (Asskali 1988).

Die Plasmaelimination der Hydroxyethylstärke ist bei Niereninsuffizienz nur gering vermindert (Köhler 1978 a,b), aber es kommt zu einer vermehrten Speicherung in den Organen (Schreiber 1988).

So wird bei der Summierung der renal ausgeschiedenen HES-Menge und der sich im Serum befindlichen HES-Restmenge abhängig von der molekularen Substitution und zum Teil auch vom mittleren Molekulargewicht der infundierten HES ein Fehlbetrag von 40 - 70 % der gegebenen Menge festgestellt.

Am wahrscheinlichsten ist dies durch die Aufnahme von HES in Körperzellen (Leber, Milz, Niere, Lunge) und deren lokalen lysosomalen Abbau zu nicht erfaßbaren Metaboliten wie Glucose und Hydroxyethylglucose. Die Wiederfindung bei HES mit molarer Substitution von 0,7 bleibt deutlich unterhalb der Wiederfindung bei HES mit molarer Substitution von 0,5. Eine extrazelluläre Speicherung von HES oder eine Ablagerung von HES im Gewebe ist aufgrund von dessen Hydrophilie und von dessen ausgeprägten Wasserbindungsvermögen als unwahrscheinlich abzulehnen (Förster 1992).

Auffallend ist ebenfalls die unterschiedliche Speicherung in den Organen. Sirtl et al. (1988) konnten eine lange Speicherung in HES nachweisen, ohne einen Endpunkt der Speicherung angeben zu können. Außerdem ist noch unklar ob sich die Verteilung der gespeicherten HES verschiebt durch Rückdiffusion. Daraus resultiert

wohl auch der Juckreizes als Nebenwirkung bei langdauernder HES-Therapie z.B. zur Hörsturztherapie in der HNO oder cerebrovaskulären Durchblutungsverbesserung in der Neurologie (Jurecka et al. 1993, Szépfalusi et al. 1993).

HES kann in verschiedenen, dem retikuloendothelialen System zugehörigen, „Speicherorganen“ (Leber, Niere, Milz und Lunge) abgebaut werden. Es verschwindet nach einmaliger Applikation im Verlauf von Wochen bis Monaten. Im Tierversuch ist jedoch innerhalb eines Beobachtungszeitraumes von zehn Tagen bereits in allen Organen mit Ausnahme der Milz eine deutliche Abnahme festzustellen. So scheint vor allem das RES für die Aufnahme und die längere Speicherung in der Leber und in der Milz verantwortlich zu sein. Eine Aufnahme in den Monozyten konnte nachgewiesen werden (Szépfalusi et al. 1993).

Eine Sonderrolle bei der Speicherung von HES könnten die Hepatozyten einnehmen. Bereits früher war festgestellt worden, daß freies Hämoglobin unter bestimmten Umständen in Hepatozyten eindringen kann, während doppelt so großes polymerisiertes Hämoglobin nicht nachgewiesen werden konnte. Insofern liegt es nahe, anzunehmen, daß auch niedermolekulare HES unter bestimmten Bedingungen (Niereninsuffizienz) in die Hepatozyten eindringen kann. Bei einer Beobachtung an niereninsuffizienten Patienten war eine Einlagerung von HES in die Hepatozyten nachzuweisen (Pfeifer et al. 1984). Verwendet wurde HES 40/0,5 (Expafusin), welches auch kleinere Moleküle (Molmasse deutlich unter 20.000) in größerem Umfang enthält. Die Einlagerung erwies sich als reversibel (siehe auch Waldhausen et al. 1991). Trotz alledem waren die Hinweise auf eine Gewebspeicherung der Hydroxyethylstärke alle indirekt (Sirtl et al. 1988, Dienes et al. 1986, Lindblad et al. 1976, 1978, Thompson et al. 1970, 1979), neuerdings aber auch direkt immunohistochemisch (Jurecka et al. 1993).

Es ist allerdings offen, ob nicht ein Teil der phagozytierten HES rascher in den Organen abgebaut wird, während bestimmte Moleküle mit ungünstigem Substitutionsort länger gespeichert werden. Auch die Art und der Ort des intrazellulären Abbaus sind noch unklar. Es besteht zwar die Möglichkeit, daß zytoplasmatische Enzyme (zum Beispiel des Glykogenstoffwechsels) am Abbau beteiligt sind, doch ist dies unwahrscheinlich. Der intrazelluläre Abbau von höhermolekularen Verbindungen erfolgt charakteristischerweise innerhalb der Lysosomen durch Enzyme mit saurem Reaktionsmaximum. Für den Abbau von HES käme insbesondere die „saure Maltase“ in Frage, die auch am Glykogenabbau beteiligt ist. Wahrscheinlich werden Glykogenfragmente, die sich von dem entsprechenden zytoplasmatischen Enzymapparat getrennt haben, in die Lysosomen aufgenommen und dort durch „saure Maltase“ zu Glucose abgebaut. Bei Fehlen der „sauren Maltase“ kommt es zu einer Glykogenspeicherkrankheit (Typ Pompe)(Förster 1987 a,b).

Es ist also davon auszugehen, daß HES entweder intravaskulär durch α -Amylase zu nierengängigen Bruchstücken abgebaut wird, oder daß der Abbau intrazellulär (wohl vorwiegend im RES) innerhalb der Lysosomen erfolgt. Dabei sollte in der Regel (das heißt in Parallele zu Glykogen) ein vollständiger Abbau zu Glucose und Hydroxyethylglucose beziehungsweise zu hydroxyethylsubstituierten Oligosacchariden stattfinden. Es besteht allerdings die Möglichkeit, daß intrazellulär lediglich höhermolekulare nierengängige Bruchstücke erzeugt werden, die dann nach dem Zelluntergang renal ausgeschieden werden könnten. Hierfür spricht auch die lange Speicherung in den Zellen.

Die Frage der Verstoffwechslung ist gerade bei wiederholter oder langer Anwendung am Patienten von Bedeutung. Die Leber als zentrales Stoffwechsel- und Kohlenhydratspeicherorgan interessiert dabei besonders. Um Überlagerungen durch andere Faktoren auszuschließen, sollten die Untersuchungen an der isoliert perfundierten Rattenleber durchgeführt werden.

1.2 Problemstellung

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte es sein, im Rahmen einer Tierversuchsreihe, den Einfluß der Leber oder des Blutes auf den Abbau der Hydroxyethylstärke zu untersuchen.

Dazu wurden neben einer Perfusion der Leber mit Vollblut auch eine Versuchsreihe mit gewaschenen Erythrozyten durchgeführt. Zu beiden Reihen wurden auch jeweils eine Reihe als Leerversuch durchgeführt, bei der das Perfusionsmedium in der Kammer durch das System gepumpt wurde ohne daß ein Organ angeschlossen war. Zusätzlich wurde zum Vergleich eine Reihe mit Gelatine und eine Reihe mit einer hochsubstituierten Hydroxyethylstärke durchgeführt.

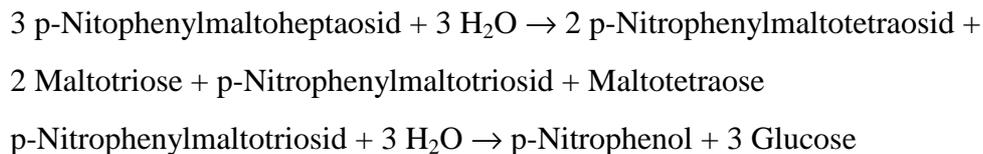
2 Methodik

2.1 Analytische Methoden

2.1.1 α -Amylase

Die Bestimmung der α -Amylaseaktivität im Plasma erfolgte colorimetrisch mit dem α -Amylase PNP™ Kit von Boehringer Mannheim mit p-Nitrophenyl-D-maltoheptaosid als Substrat, sowie α -Glucosidase als Hilfsenzym (Rauscher 1984).

Das definierte Oligosaccharid wurde durch die α -Amylase hauptsächlich in dem unten gezeigten Weg hydrolysiert, mit nur einem kleinen Anteil der zu p-Nitrophenylmaltopentaosid und Maltose umgewandelt wird. Anschließend wurde es mit α -Glucosidase in p-Nitrophenolat umgewandelt, das als Maßstab für die katalytische Aktivität der α -Amylase bei 405 nm kontinuierlich gemessen wurde.



2.1.2 Glucose

Die Glucosekonzentration im Blut wurde nach Enteiweißung mit Perchlorsäure (3%) auf enzymatischem Weg durch zwei gekoppelte Reaktionen bestimmt (Schmidt, F. H. 1961, Bergmeyer 1984).

Glucose wird durch das Enzym Hexokinase und in Gegenwart von $\text{Mg}^{\oplus\oplus}$ und Adenosin-5'-triphosphat (ATP) zu D-Glucose-6-phosphat phosphoryliert.



In Gegenwart des Enzyms Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase wird Glucose-6-phosphat von Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADP) zu Gluconat-6-phosphat oxidiert, wobei reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADPH₂) entsteht.



Die während der Reaktion gebildete NADPH₂-Menge ist äquimolar zu der umgesetzten Glucose-Menge. So wird die Absorption von NADPH₂ als Meßgröße bestimmt und die Extinktionszunahme bei Hg 366 nm ist proportional der Glucosekonzentration.

Die Hexokinase kann auch die Phosphorylierung anderer Hexosen wie z.B. Fructose katalysieren, dies kann jedoch durch die Reinheit der Hilfsenzyme und durch Einhalten der 10-minütigen Reaktionszeit umgangen werden. Die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase ist dagegen substratspezifisch für Glucose. Die Methode gilt als die einzig geeignete für die spezifische Erfassung der Glucose (Förster 1974).

2.1.3 Lactat

Die Lactatkonzentration im entweißten Blut wurde enzymatisch mit Hilfe von Lactat-Dehydrogenase bestimmt (Hohorst 1957, Maurer und Poppendiek 1973).

L-Lactat wird in einer durch Lactat-Dehydrogenase katalysierten Reaktion durch NAD zu Pyruvat oxydiert. Dabei wird NAD zu NADH₂ reduziert und die Extinktionszunahme ist äquivalent der Menge oxydierten Lactats.

Die Reaktion ist reversibel und liegt vorwiegend auf der Seite von Lactat. Durch Zusatz von Hydrazin als Ketofänger wird das Gleichgewicht im alkalischen Milieu (pH 9) entsprechend dem Massenwirkungsgesetz in Richtung Pyruvat verschoben,

so daß die Oxydation von Lactat quantitativ ablaufen kann. Bei Zimmertemperatur ist die Reaktion nach einer Stunde abgelaufen. Die Konzentration des dabei gebildeten NADH_2 wird danach bei 366 nm photometrisch gemessen.



2.1.4 Harnstoffbestimmung im Serum

Die Bestimmung von Harnstoff erfolgte durch enzymatische Hydrolyse mit Urease (Fawcett und Scott 1960).

Durch das Enzyms Urease wird der Harnstoff quantitativ in Ammoniumcarbonat überführt. Die Ammoniumionen reagieren mit Phenol und Natriumhypochlorit bei Zugabe des Katalysators Natriumnitroprussid unter Bildung eines blauen Indophenolfarbstoffes, der bei 546 nm quantitativ photometrisch bestimmt wird. (Bergmeyer 1974).

2.1.5 Bestimmung von Hämoglobin

Die Bestimmung des Hämoglobins erfolgte mit der Hämiglobincyanidmethode, die wegen der einfachen Durchführung und guter Präzision allgemein als Methode der Wahl gilt (Van Kampen und Zijlstra 1961).

Die $\text{Fe}^{\oplus\oplus}$ - Ionen des Hämoglobins werden mit Ausnahme des Verdoglobins in wäßriger Lösung durch Kaliumhexacyanoferrat-(III) zu Hämiglobin oxydiert. Dieses bildet mit dem zugesetzten KCN das stabile Hämiglobincyanid dessen breites Absorptionsspektrum bei 546 nm gemessen wird.

2.1.6 Bestimmung von Hydroxyethylstärke (HES)

2.1.6.1 Methodik des Nachweises von HES

Zum Nachweis der HES wurde eine modifizierte Polysaccharidbestimmung nach Förster und Wikarczyk (1981) verwendet, die wiederum auf einer modifizierten Glykogenbestimmung mit Ausfällung beruht.

Wichtig bei dieser Methode ist einerseits die entsprechende Aufarbeitung des Gewebes im alkalischen Milieu und andererseits die Fällung mit Alkohol, wodurch Hydroxyethylstärke vom Glykogen getrennt wird. Dabei entfällt die Enteiweißung des Blutes für die Bestimmung des Glucosegehaltes im Plasma nach Hydrolyse der darin enthaltenen Polysaccharide, da durch die Aufbereitung des Plasmas bzw. des Gewebes mit konzentrierter 35 % iger KOH bereits alle organischen Bestandteile (einschließlich Glucose und andere Zucker), außer den Polysacchariden, zerstört werden.

Zur Bestimmung von Glucose aus dem Hydrolysat der Polysaccharide wurde die Hexokinase / Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase - Methode nach Schmidt (1961) verwendet.

Zu erwähnen sei noch, daß die meisten Autoren ihre Untersuchungen zum intravasalen Verhalten von Hydroxyethylstärke mit der sehr unspezifischen Anthronmethode (zählt zu den Furfurolmethoden) häufig ohne vorausgehende Ausfällung unter Subtraktion der „freien Glucose“ durchgeführt haben, worauf hier aber nicht näher eingegangen werden soll (Wikarczyk 1981, Förster et al. 1981).

2.1.6.2 Bestimmung von HES im Plasma

Die Bestimmung der Hydroxyethylstärke im Plasma erfolgte nach Vorbehandlung im alkalischen Milieu zur Zerstörung aller Monosaccharide und Aufspaltung der

Polysaccharide durch Salzsäure. Anschließend erfolgte die Bestimmung der Glucose mit der Hexokinase / Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase - Methode.

1. In ein Zentrifugenröhrchen mit 0,5 ml 35% iger KOH wird 1 ml Plasma pipettiert. Ein Standard der auf ein Zehntel mit 0,9 % iger NaCl verdünnten HES-Lösung wird mitgeführt
2. Nach Durchmischung werden die Röhrchen für 45 Minuten in kochendes Wasserbad gestellt und danach abgekühlt
3. Zugabe von je mindestens 8 ml Ethanol und gut durchschütteln
4. Eine Stunde ins Eisbad stellen
5. Zentrifugieren bei 0°C und 3500 Umdrehungen/Minute für 60 Minuten
6. Dekantieren und verwerfen des Überstandes
7. Zum Niederschlag Zugabe von 5 ml 2 normaler HCl
8. 50 Minuten kochendes Wasserbad mit anschließendem Abkühlen
9. Umfüllen in 10 ml Meßkolben
10. Ausspülen des restlichen Niederschlags im Zentrifugenröhrchen mit 4 ml 2 normaler KOH und anschließender Zugabe zum Meßkolben
11. Auffüllen des Meßkolbens mit Aqua destillata auf 10 ml
12. Mischen der Lösung und filtrieren

Aus der entstanden Lösung wurde analog der obig beschriebenen Methode die Glucose bestimmt.

Die Konzentration errechnet sich nach der Formel:

$$\text{Konzentration [mg/dl]} = \frac{\text{Konz. Std [mg/dl]} * \Delta \text{Extinkt. Probe}}{\Delta \text{Extinkt. Std}}$$

2.1.6.3 Bestimmung von HES in der Leber

Die HES-Konzentration in der Leber wurde nach Gewebeaufschluß und Hydrolyse des HES zu Glucose nach der Hexokinase / Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase Methode bestimmt.

Verwendet wurden zwei bis drei Gramm Leber.

1. In ein Falconröhrchen mit 5 ml 35% iger KOH werden maximal 5g Organ gegeben. Ein Standard der auf ein Zehntel mit 0,9 % iger NaCl verdünnten HES-Lösung wird mitgeführt
2. Die Röhrchen werden für zwei Stunden in kochendes Wasserbad gestellt und danach abgekühlt
3. Zugabe von je mindestens 30 ml Ethanol und gut durchschütteln
4. Zentrifugieren bei 0°C und 3500 Umdrehungen/Minute für 60 Minuten
5. Dekantieren und verwerfen des Überstandes
6. Zum Niederschlag Zugabe von 10 ml Ethanol-Wasser-Gemisch im Verhältnis 1:1
7. Mit Glasstab zerkleinern und im Ultraschallbad gut lösen (mindestens 30 Minuten)
8. Zentrifugieren bei 10°C und 3500 Umdrehungen/Minute für 50 Minuten
9. Überstand in neue Röhrchen umfüllen und Niederschlag (Glykogen) verwerfen
10. Zum Überstand je 30 ml Ethanol zugeben und gut mischen
11. Fortfahren mit Punkt 5. des Nachweises im Plasma

Zur Berechnung der Konzentration nach der Glucosebestimmung wurde als Formel benutzt:

$$\text{Konzentration [g/Einwaage]} = \frac{\text{Konz. Std [g/dl]} * \Delta \text{Extinkt. Probe}}{\Delta \text{Extinkt. Std} * 100}$$

$$\text{Konzentration [g/Organ]} = \frac{\text{Konz. [g/Einwaage]} * \text{Gesamtgewicht [g/Organ]}}{\text{Gewicht [g/Einwaage]}}$$

2.2 Tierversuche

Die Leberperfusion wurde an männlichen Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von 200-400 g durchgeführt. Die Tiere waren in offenen Räumen, deren Temperatur auf ca. 25°C gehalten wurde, untergebracht. Ihre Haltung erfolgte in Makrolon®-Käfigen auf staubfreier Holzgranulateinstreu. Jeder Käfig war mit 5 bis 8 Tieren besetzt. Sie erhielten eine pelletierte Standard-Haltungsdiät und Trinkwasser ad libitum. Die Hell-Dunkelphasen entsprachen dem üblichen Tag-Nacht-Rhythmus.

Den Tieren wurde mindestens 18 Stunden vor Versuchsbeginn die Nahrung entzogen, da vorangegangene Versuche von Elliger (1984) mit nichtgehungenerten Tieren gezeigt haben, daß mit der Methode der quantitativen Hydroxyethylstärke-Bestimmung immer auch ein geringer Glykogenanteil miterfasst wurde. Sie wurden zusätzlich in einen Käfig mit Laufgitter gebracht, um eine Koprophagie zu verhindern. Trinkwasser stand während dieser Zeit ad libitum zur Verfügung.

Zur Narkose wurde Pentobarbital (Nembutal®) als Hypnotikum in einer Dosierung von 48 mg/kgKG, sowie als analgetische Komponente Ketamin (Ketanest®) mit 1 mg/kgKG subcutan im Nackenbereich injiziert. Die Steuerung der Narkosetiefe erfolgte durch Inhalation von Ether in der Inspirationsluft.

Als Perfusionsmedium wurde frisches heparinisiertes Rattenblut verwendet, das mit Plasmaexpander 1:2 verdünnt wurde.

2.2.1 Leberperfusion

Die Leberperfusion wurde nach der 1966 von Hems et al. beschriebenen Methode, sowie der Modifikation von Förster, Hoos et al. (1972, 1977) durchgeführt.

Nach Eintreten einer ausreichenden Narkosetiefe wurden die Tiere auf einem kleinem Operationstisch operiert. Das Abdomen wurde durch einen medianen Laparatomieschnitt entlang der Linea alba sowie zwei Schnitten parallel zu den Intercostalgefäßen in der Höhe zwischen der Arteria epigastrica superior und inferior eröffnet. Durch Mobilisieren des Intestinums nach links stellte sich das Ligamentum hepatoduodenale mit den Gallengang und den Lebergefäßen, sowie die Vena cava inferior dar. Ein dünner Katheder wurde in den Gallengang eingelegt und fixiert, um die Gallenflüssigkeit aufzufangen. Dann wurden die beiden Nieren abgebunden und ein mit Heparin gefüllter Schlauch mit einer Spritze am Ende in die Vena cava inferior gelegt und fixiert. Schließlich wurde die Arteria hepatica propria unterbunden, sowie zügig hintereinander ein Katheder in die Vena portae eingelegt, der an den zuführenden Teil des Perfusionskreislaufs angeschlossen war, und dann das Zwerchfell durchtrennt und die Vena cava inferior oberhalb der Mündung der Lebervene abgebunden. Die Spritze am ableitenden Schlauch wurde entfernt und dessen Ende in die Flasche zur Oxygenierung geführt. Durch das Durchtrennen des Zwerchfells kollabierten die beiden Lungenflügel und die Ratte hörte auf zu leben. Das Tier wurde dann in die vorgewärmte Kammer gebracht.

Um eine ausreichende Luftfeuchtigkeit und Raumtemperatur von 37°C zu gewährleisten, wurde die Perfusionskammer durch ein auf 60°C aufgeheiztes Wasserbad aufgewärmt. Die vollständige Sättigung des Perfusionsmediums mit Sauerstoff erfolgte mittels Einleitung von angefeuchteten Carbogen® (95% Sauerstoff und 5% Kohlendioxid) durch eine feinporige Glasfritte in eine Glasflasche, die als Reservoir diente. Es wurden 110 ml Perfusionslösung im Reservoir verwandt, und von den verbliebenen 40 ml wurden jede Stunde 10 ml zum Wiederauffüllen nach der Probenentnahme dem System zugeführt, um ein konstantes Reservoirvolumen zu behalten. Diese Flasche befand sich in einem zweiten Wasserbad das auf 37°C aufgeheizt wurde. Der Fluß der Perfusionslösung wurde über ein elektromagnetisches Blutflußmeßgerät eingestellt, und Druckänderungen über ein Statham-Druckaufnehmer kontrolliert.

2.2.2 Blutentnahme aus der Aorta abdominalis

Zur Gewinnung größerer Blutvolumina wurden die narkotisierten Tiere über die Aorta abdominalis ausgeblutet.

Man laparotomierte die in Rückenlage auf einem kleinen Operationstisch fixierten Tiere mit einem ca. fünf Zentimeter langen medianen Laparatomieschnitt längs der Linea alba und präparierte die Aorta aus dem Retroperitonealraum frei. Mit einer Kanüle an einen Schlauch und einer 1 ml Spritze am Ende, gefüllt mit 1 ml Heparin (Liquemin®) 1:10 auf 50 I.E./ml verdünnt, wurde das Gefäß punktiert und das Blut nach Injektion des Antikoagulanz in einem Zentrifugenröhrchen aufgefangen. Die Tötung der Tiere erfolgte durch zwei parasternale Schnitte.

2.2.3 Erythrozyten Waschung

Um eine Oxygenierung ohne Bestandteile des Plasmas zu ermöglichen, wurden die Erythrozyten mittels physiologischer Kochsalzlösung gewaschen.

150 ml Blut wurden 10 min bei 3000 U/min und 0°C zentrifugiert, der Überstand einschließlich buffy-coat abgesaugt, dann mit 0,9% NaCl auf 150 ml wieder aufgefüllt und anschließend gemischt. Es wurden noch ein zweites und ein drittes mal zentrifugiert, abgesaugt, NaCl-Lösung zugegeben und wieder gemischt. Danach wurden 150 mg Glucose zugegeben, die Röhrchen verschlossen und für 12 Stunden in den Kühlschrank bei 4°C gestellt.

Am nächsten Tag wurde ein viertes mal zentrifugiert und abgesaugt. Von der Erythrozytensuspension wurden 45 ml entnommen und auf 75 ml mit 0,9% NaCl-Lösung aufgefüllt.

2.3 Perfusionsmedien

Plasmaexpander-Präparate:

Für unsere Versuche verwendeten wir Hydroxyethylstärke-Präparate vom Typ 200/0,5 und vom Typ 450/0,7, sowie über Harnstoffbrücken vernetzte Polypeptide aus abgebauter Gelatine. Den Plasmaexpandern wurden vorher folgende Mineralien zugesetzt:

NaCl	860	mg/dl
KCl	30	mg/dl
CaCl ₂ •2H ₂ O	33	mg/dl

Somit wurde die Elektrolytzusammensetzung einer Ringerlösung erreicht.

a) Expahes 200 Pfrimmer Ch.B. 2127482 und 2425362.

Eine mittelsubstituierte HES 200/0,5, die als 3 prozentige Lösung angesetzt wurde.

b) Plasmasteril Fresenius AG Ch.B.LCW40C.

Eine hochsubstituierte HES 450/0,7, die als 3 prozentige Lösung angesetzt wurde.

c) Haemaccel Behringwerke AG K.Nr.131075.

Eine Gelatine lösung, die als 1,75 prozentige Lösung angesetzt wurde.

Zur Unterscheidung der einzelnen Reihen in den Graphen, bekam jede Reihe noch ein Kürzel mit drei Zeichen angefügt. Das L an erster Stelle stand für eine Leberperfusion, während eine 0 für einen Leerversuch, also ohne Organ geschrieben wurde. Die beiden folgenden Buchstaben standen für Vollblut mit VB beziehungsweise mit GE für die Reihen mit gewaschenen Erythrozyten. Die Abkürzungen der sechs durchgeführten Reihen mit Erklärung sind unten aufgelistet:

Haemaccel	LVB	Gelatine, Leberperfusion mit Vollblut
HES 200/0,5	LVB	Mittelsubstituierte HES, Leberperfusion mit Vollblut
HES 200/0,5	0VB	Mittelsubstituierte HES, Leerversuch o. Organ mit Vollblut
HES 200/0,5	LGE	Mittelsubstituierte HES, Leberperfusion mit gewasch. Ery.
HES 200/0,5	0GE	Mittelsubstituierte HES, Leerversuch o. Organ m. gew. Ery.
HES 450/0,7	LVB	Hochsubstituierte HES, Leberperfusion mit Vollblut

2.4 Statistische Auswertungsmethoden

Die Berechnung des Mittelwertes erfolgte nach der Formel:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Die Standardabweichung wurde nach folgender Formel berechnet:

$$s = \sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n-1}}$$

Die Prüfung auf Signifikanz, also die Wahrscheinlichkeit eines überzufälligen Auftretens bestimmter Beobachtungen, wurde mit dem U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney durchgeführt (Sachs 1992). Dieses Testverfahren vergleicht zwei empirische Stichproben auf die Lageänderung einer Zufallsvariablen. Gegenüber dem Student-t-Test benötigt er keine Normalverteilung, sondern nur einen ähnlichen oder gleichen Verteilungstyp (Sachs 1993). Dennoch liegt die asymptotische Effizienz des U-Tests, das heißt daß er die gleich Teststärke aufweist wie der t-Test wenn in Wirklichkeit Normalverteilung vorliegt, bei $100 \cdot 3/\pi \cong 95\%$.

3 Ergebnisse

3.1 α -Amylase (Tabelle 1)

Die α -Amylaseaktivität stieg während der Leberperfusionen geringfügig an (Anstiege zwischen 79 U/l und 257 U/l), im Leerversuch dagegen veränderte sie sich kaum (Anstieg um 19 U/l). Der Anstieg der α -Amylaseaktivität während der Leberperfusion mit gewaschenen Erythrozyten von einem niedrigen Ausgangswert (20 U/l) zur Aktivität nach einer Stunde (94 U/l), war durch die Durchmischung mit dem Restblut in der Leber und den Gefäßen beim Anschließen zu erklären, und für die beiden restlichen Stunden ähnlich wie bei den anderen Reihen (Anstieg um 50 U/l in den beiden letzten Stunden).

3.2 Glucose (Tabelle 2 bzw. Tab. 4)

Bei der Perfusion mit Haemaccel war ein Anstieg der Glucosekonzentration in der ersten Stunde (von 36,0 mg/dl auf 58,3 mg/dl), gefolgt von einer gleichbleibenden Konzentration nach zwei Stunden (60,5 mg/dl) mit leichtem Abfall zur Konzentration nach drei Stunden (57,0 mg/dl) nachzuweisen. Einen fast gleichartigen Verlauf zeigte auch die Kurve der Perfusion mit HES 450/0,7 (Anstieg von 33,9 mg/dl auf 61,4 mg/dl in der ersten Stunde, 62,2 mg/dl in der zweiten Stunde, und 50,5 mg/dl bei drei Stunden), das heißt hierbei traten keine HES-spezifischen Veränderungen in der Glucosekonzentration auf (kein signifikanter Unterschied $p > 0,05$ in allen 3h). Da im Leerversuch mit gewaschenen Erythrozyten ein kontinuierlicher Abfall gemessen wurde (Abfall von 16,5 mg/dl auf 3,6 mg/dl), der auf den Verbrauch der Erythrozyten zurückgeführt wurde, führte allein schon die Perfusion der Leber zur Freisetzung von Glucose.

Der Anstieg der Glucosekonzentration im Leerversuch mit Vollblut (Anstieg von 68,5 mg/dl auf 122,4 mg/dl in der ersten Stunde) war aber nur auf die Freisetzung der Glucose aus der Hydroxyethylstärke durch Bestandteile des Blutes zurückzuführen.

Die hohe Anfangskonzentration beim Leerversuch (43,7 mg/dl) und die noch höhere Nullstundenkonzentration bei der Leberperfusion (68,5 mg/dl) war durch den schon erfolgten Anstieg während der Vorbereitung zurückzuführen (signifikanter Unterschied zwischen HES 200/0,5 LVB und Haemaccel LVB in allen drei Stunden $p < 0,05$). Deshalb war dann auch schon wieder ein Abfall der Glucosekonzentration (von 122,4 mg/dl in der zweiten Stunde auf 112,8 mg/dl nach drei Stunden), ähnlich den Perfusionen mit Haemaccel und HES 450/0,7 zu sehen (Abfall vom Wert nach einer Stunde von 58,3 mg/dl bzw. 61,4 mg/dl auf 57,0 mg/dl und 50,5 mg/dl respektive). Bei der Leberperfusion mit gewaschenen Erythrozyten erfolgte der Kontakt mit den glucosefreisetzenden Elementen erst direkt beim Start der Perfusion, daher war die Nullstundenkonzentration (18,4 mg/dl bei HES 200/0,5 LGE) ähnlich der Anfangskonzentration beim Leerversuch mit gewaschenen Erythrozyten (16,5 mg/dl bei HES 200/0,5 OGE). Dafür war hierbei aber ein etwas länger dauernder Anstieg der Glucosekonzentration (Anstieg in den beiden ersten Stunden) als bei der Leberperfusion mit Vollblut zu sehen (Anstieg nur innerhalb der ersten Stunde).

Eine Korrektur der Glucosekonzentration durch hinurechnen der theoretisch maximal aus Lactat gewinnbaren Glucose ergibt einen noch deutlicheren Konzentrationsanstieg. Berücksichtigte man im Graphen, die durch Lactat hervorgerufene Änderung, indem man die Hälfte an Mol Lactat addierte (zwei Mol Lactat ergeben ein Mol Glucose), und subtrahierte man gleichzeitig die während der Reihe mit Haemaccel beziehungsweise mit dem Leerversuch mit gewaschenen Erythrozyten gewonnenen Nullkonzentration und Änderungen, so ergab sich ein noch etwas deutlicheres Bild. Die Reihe mit HES 450/0,7 zeigte hier fast keine Änderungen (Werte zwischen -0,015 mmol/dl und -0,039 mmol/dl), während in der Reihe bei der Leberperfusion mit gewaschenen Erythrozyten ein Anstieg zwischen der ersten und zweiten Stunde erfolgte (von 0,039 mmol/dl auf 0,214 mmol/dl). Im Leerversuch mit Vollblut war der Anstieg früher, stärker und länger anhaltend (von 0,001 mmol/dl auf 0,307 mmol/dl in der ersten Stunde bis zu 0,451 mmol/dl

nach der dritten Stunde), aber auch hier mit zunehmender Zeit immer geringer (Anstieg um 0,306 mmol/dl in der ersten Stunde, um 0,112 mmol/dl in der zweiten Stunde, und 0,032 mmol/dl in der dritten Stunde).

Bei der Leberperfusion mit Vollblut ist dieser frühe Anstieg schon in der Nullkonzentration mit erfaßt (Nullkonzentration von 0,178 mmol/dl), und ein weiterer Anstieg war nur noch in der ersten Stunde feststellbar (Anstieg auf 0,362 mmol/dl in der ersten Stunde).

3.3 HES im Plasma (Tabelle 5)

Durch die Verdünnung einer 3% igen HES-Lösung im Verhältnis 1:2 wäre die theoretische Konzentration beim Anfang in allen Reihen 1,5 g/dl. Durch das Ansetzen der Lösung beim Verdünnen auf drei Prozent, dem Hinzufügen der entsprechenden Salze, und dem Mischen mit dem Blut wurden als höchste Nullstundenkonzentration nur 1,32 g/dl bei der Reihe HES 200/0,5 LGE erreicht (1,25 g/dl bei HES 200/0,5 OGE und 1,21 g/dl bei HES 450/0,7 LVB). Im Leerversuch mit gewaschenen Erythrozyten fand sich eine fast gleichbleibende HES-Konzentration (von 1,25 g/dl in der ersten Stunde auf 1,21 g/dl nach drei Stunden). Obwohl es nicht zum Glucoseanstieg kam, fand sich bei der Perfusion mit HES 450/0,7 eine Abnahme der Konzentration an Hydroxyethylstärke um 0,15 g/dl. Der erniedrigte Ausgangskonzentration beim Leerversuch mit HES 200/0,5 (1,05 g/dl) wurde auf den schon erfolgten Abbau während des Ansetzens der Lösung und dem Füllen des Systems zurückgeführt. Beim noch niedrigeren Ausgangskonzentration der gleichen Lösung bei der Leberperfusion (0,85 g/dl), kam noch die Dauer der Präparation der Ratte hinzu. Bei beiden war ein Abfall der HES-Konzentration feststellbar, der bei der Leberperfusion ausgeprägter als beim reinen Leerversuch war (Abfall um 0,20 g/dl beziehungsweise 0,16 g/dl). Bei der Leberperfusion mit gewaschenen Erythrozyten und der Perfusion mit Vollblut war der absolute Kon-

zentrationsabfall beinahe gleich (0,21 g/dl bei HES 200/0,5 LGE), bei einer höheren Nullstundenkonzentration (1,32 g/dl).

3.4 HES im Organ (Tabelle 6)

In den Organen waren keine größeren Unterschiede festzustellen. Alle drei Reihen zeigen keinen signifikanten Unterschied.

3.5 Harnstoff (Tabelle 8)

Die Harnstoffkonzentration ist in allen Reihen angestiegen. Am stärksten in der Reihe mit der harnstoffvernetzten Gelatine (Anstieg: 23,5 mg/dl) gefolgt von den beiden Vollblutperfusion mit HES 450/0,7 und HES 200/0,5 (19,4 mg/dl und 17,6 mg/dl). Am niedrigsten war der Anstieg in der Reihe mit gewaschenen Erythrozyten im Leerversuch (Anstieg: 9,4 mg/dl). Dazwischen die Werte vom Leerversuch mit Vollblut und der Perfusion mit gewaschenen Erythrozyten (15,2 mg/dl und 13,4 mg/dl).

3.6 Lactat (Tabelle 3)

Alle Reihen der Organperfusion mit Vollblut zeigten einen ähnlichen Abfall der Lactatkonzentration von einem Bereich zwischen 18,1 mg/dl und 17,6 mg/dl auf Konzentrationen zwischen 6,4 mg/dl und 5,3 mg/dl. Bei der Reihe mit gewaschenen Erythrozyten war die Dreistundenkonzentration etwas geringer (4,2 mg/dl), bei einer niedrigeren Ausgangskonzentration (7,5 mg/dl). Im Gegensatz dazu fand sich ein kontinuierlicher Anstieg der Laktatkonzentration in den beiden Leerversuchsreihen (Anstieg um 23 mg/dl bei HES 200/0,5 OVB), mit einem geringeren Anstieg bei den gewaschenen Erythrozyten (Anstieg von 6,1 mg/dl auf 12,6 mg/dl).

3.7 Hämoglobin (Tabelle 7)

Die Konzentrationen lagen in allen Reihen zwischen 6,8 g/dl und 7,6 g/dl. Die Hämoglobinkonzentration zeigte allenfalls einen geringen Anstieg (maximal um 0,6 g/dl). Die geringsten Veränderungen traten in den Leerversuchen (Anstieg um 0,1 g/dl bei HES 200/0,5 0VB) und den Reihen mit gewaschenen Erythrozyten auf (kein Anstieg).

Um die unterschiedliche Konzentrierung der Perfusionsmedien durch die Verdunstung auszugleichen, wurden alle Plasmakonzentratione mittels der Hämoglobinkonzentration bezogen auf den jeweiligen Wert bei Perfusionsbeginn korrigiert.

4 Diskussion

Der Abbau der Hydroxyethylstärke während der dreistündigen Leberperfusion, ließ sich am besten beim Vergleich der unterschiedlichen Reihen erklären. Obwohl die Konzentration der Hydroxyethylstärke auch in der klinischen Anwendung erreicht werden kann, durch Ersetzen eines Viertels des Blutvolumens mit sechsprozentiger HES-Lösung, war die Menge der Perfusionslösung ungefähr fünfmal so groß wie das zur Leber normalerweise gehörige Blutvolumen.

Da eine isolierte Leberperfusion durchgeführt wurde, entfallen die Umverteilung in andere Körperpartimente oder eine renale Excretion. Eine Regelung der Homöostase durch übergeordnete Körperfunktionen fiel auch weg, insbesondere der Einfluß der Bauchspeicheldrüse auf die Glucosekonzentration. Der Anstieg der Glucosekonzentration bei Thompson (1962) konnte auch durch den Stress der Tiere hervorgerufen worden sein. Der Abbau konnte sowohl in den Hepatozyten, als auch in den Zellen des RES der Leber stattfinden, und in den Reihen mit Vollblut ist eine Abnahme durch Monozyten möglich, als auch ein Abbau durch α -Amylase. Da die HES-Konzentration im Plasma gemessen wurde, würde eine Aufnahme von HES in die Monozyten zu einer niedriger gemessenen HES-Konzentration führen.

Der Anstieg der Glucosekonzentration war auch der eindrucksvollste Befund. Der Anstieg der Glucosekonzentration bei der hochsubstituierten HES 450/0,7 von 33.9 mg/dl auf 50.5 mg/dl ist vergleichbar dem Anstieg der Glucosekonzentration in der Ruhe mit Haemaccel (36 mg/dl auf 57 mg/dl). Dieser Anstieg ist also nicht auf einen Abbau der HES zu Glucose, sondern auf die Leberperfusion zurück zu führen. Eine signifikant höhere Glucosekonzentration im Vergleich zur Reihe mit Haemaccel wurde jedoch in allen drei Stunden der Reihe HES 200/0,5 LVB gemessen. Das heißt die im Blut vorhandene α -Amylase war in der Lage, aus der mittelsubstituierten HES Glucose freizusetzen, während dies bei der hoch-

substituierten HES nicht feststellbar war. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von Yoshida (et al. 1973) die einen linearen Zusammenhang von Substitutionsgrad und Abbaurate durch die α -Amylase gefunden hatten.

Ähnliche Ergebnisse wurden von Hulse und Yoshida (1980, 1983) wiederholt, die allerdings auch bei der hochsubstituierten HES einen, wenn auch sehr kleinen, Anstieg in der Glucosekonzentration feststellen konnten. Aber auch bei ihnen war schon nach einer Stunde kein weiterer Anstieg festgestellt worden. Dennoch sahen die beiden Autoren die α -Amylase als Haupteliminationsweg an.

Bei der Reihe HES 200/0,5 0VB wurde schon zu Beginn der Perfusion eine erhöhte Glucosekonzentration gemessen (43,7 mg/dl), und in der Reihe HES 200/0,5 LVB war diese Konzentration sogar noch höher (68,5 mg/dl). Der Anstieg im Leerver Versuch war durch die schon erfolgte Spaltung der Hydroxyethylstärke durch die α -Amylase des Blutes beim Ansetzen der Perfusionslösung zurückzuführen. Die Nullstundenkonzentration begann ja erst nachdem die Lösung gemischt und das System gefüllt war. Der stärkere Anstieg bei der Reihe mit Leberperfusion, ergab sich durch die zusätzliche Zeit, die benötigt wurde, um die Leber anzuschließen. Die Operation der Ratte wurde erst begonnen, nachdem das System anschlussfertig war. Dadurch erklärt sich auch der erniedrigte HES-Ausgangskonzentration der Reihe HES 200/0,5 0VB (43,7 g/dl) zur Reihe HES 200/0,5 LVB (68,5 g/dl).

Während sowohl Glucose als auch Lactat sofort enteweiß wurden geschah der HES-Nachweis aus dem Plasma. Da die Aufbearbeitung des Plasmas noch zusätzlich verzögert geschah, könnte die im Plasma vorhandene α -Amylase weiterhin zu einem Abbau der HES beitragen. So spiegeln durch die weiterhin mögliche Aktivität der α -Amylase im Serum, die Glucosekonzentration und die HES-Konzentration obwohl zur gleichen Zeit entnommen unterschiedliche Zeiten wieder.

Bei den Reihen mit Leberperfusion war der Abfall der Hydroxyethylstärke zwischen dem Nullwert und der ersten Stunde wohl mitbedingt durch die Verdünnung mit dem Restblut in der Leber und den Gefäßen sowie dem Heparin in den Schlauch beim Anschließen, aber auch durch eine Aufnahme der Hydroxyethylstärke in die Zellen der Leber. Erst die Abnahme danach deutete auf einen kontinuierlichen Abbau durch die Leber hin.

Der Anstieg der Glucosekonzentration war gemessen in Milligramm schon allein durch die Nichterfassung der substituierten Glucosemoleküle nicht gleich dem Abfall der HES-Konzentration. Aber auch wenn man berücksichtigt, daß nur die Hälfte der Glucosemoleküle bei der HES mit einem Substitutionsgrad von 0,5 gemessen wurden, beziehungsweise 30% beim Substitutionsgrad von 0,7, und damit die Freisetzung der substituierten Glucosemoleküle nicht erfaßt wurde, war der Abfall der HES-Konzentration nicht allein durch den Abbau zu Monosacchariden zu erklären. Vielmehr ergab sich der Abfall wohl auch aufgrund der Bildung von Oligosacchariden, die beim HES-Nachweis nicht mehr gefällt wurden, und damit nicht erfaßt wurden. Dieser Anteil wäre allerdings auch durch die Niere ausgeschieden worden.

Dennoch war die α -Amylase höchstens in der Lage die Hälfte des HES-Abbaus zu erklären. Denn schon nach etwa zwei Stunden fand sich kein weiterer Anstieg der Glucosekonzentration. Das heißt die α -Amylase war nur innerhalb dieser Zeit in der Lage, Monosaccharide aus den Hydroxyethylstärkemolekülen freizusetzen. Alle danach noch übriggebliebenen HES-Moleküle wurden danach entweder gar nicht oder nur noch sehr verlangsamt durch die α -Amylase gespalten. Vor allem erklärte die α -Amylase nicht den Abbau der hochsubstituierten HES 450/0,7. Die geringe Effizienz der α -Amylase vermuteten auch Banks et al. (1972), da statistisch die Zahl der Angriffspositionen für die α -Amylase sehr gering sein dürften.

Die α -Amylaseaktivität selbst schien keine Auswirkung auf dem Abbau zu haben, da schon die geringe α -Amylaseaktivität bei der Leberperfusion mit gewaschenen Erythrozyten nach einer Stunde (94 U/l) zu einem Anstieg der Glucosekonzentration in der zweiten Stunde geführt hatte. Ähnliche Ergebnisse hatten auch Thompson et al. (1962) die nach Pankreatektomie α -Amylaseaktivitäten von 10-25 % der Kontrollgruppe hatten, und keinen Unterschied im Abbau durch die α -Amylase fanden.

Der Anstieg der α -Amylaseaktivität bei der Reihe HES 200/0,5 LGE vom Nullstundenwert (20 U/l) zum Wert nach einer Stunde (94 U/l) war allein durch die Durchmischung mit den in der Leber und den Gefäßen vorhanden Restblut zurückzuführen. Er ist nicht gleichzusetzen mit dem bei klinischer Anwendung auftretenden Anstieg der α -Amylaseaktivität, der durch die verminderte Ausscheidung bedingt ist. Denn hier fand während der Leberperfusion keine renale Ausscheidung statt, und es fand sich ein Anstieg der α -Amylaseaktivität auch bei der Reihe mit Haemaccel.

Die unterschiedliche Höhe der Nullwerte erklärte sich rein schwankungsbedingt, insbesondere bei der Reihe HES 200/0,5 LVB bei der nur die Aktivitäten einer Perfusion als Stichprobe gemessen wurde. Die Reihe des Leerversuchs mit gewaschenen Erythrozyten ergab nur Aktivitäten innerhalb des Grundrauschens der Methode, und wurde deshalb hier nicht aufgeführt. So war die Nullstundenaktivität bei der Leberperfusion mit gewaschenen Erythrozyten (20 U/l) eher als Grundrauschen, denn als tatsächliche Aktivität zu sehen. Durch das Waschen der Erythrozyten kam es also zu einer Entfernung der α -Amylase aus dem Perfusionsmedium.

Der Anstieg der Hämoglobinkonzentration war dagegen auf Verdunstung während der Oxygenierung zurückzuführen. Der geringere Anstieg bei den Reihen mit den gewaschenen Erythrozyten erklärte sich durch die geringere Schaumbildung aufgrund des geringen Eiweißanteils im Perfusionsmedium. Der geringere Anstieg bei

den Leerversuchen ergab sich einmal aus einem niedriger notwendigen Carbogeneinstrom zur Oxygenierung, der fehlenden zusätzlichen Eiweiße als Schaumbildner aus der Leber, und aus dem weniger häufig erforderlichen Öffnen der Kammer zur Beobachtung der Leberperfusion.

Um diese Unterschiede auszugleichen wurden alle gemessenen Konzentrationen aufgrund des Hämoglobingehalts rechnerisch kompensiert und auf den jeweiligen Nullpunkt ihrer Reihe bezogen.

Unterschiede gab es auch bei den Lactatkonzentrationen. Während in allen Reihen mit Vollblut die Werte beinahe gleich waren (17,6 mg/dl - 18,1 mg/dl), war die Nullstundenkonzentration bei den Reihen mit gewaschenen Erythrozyten niedriger (6,1 mg/dl - 10,6 mg/dl). Auch bei den Leerversuchen war der Verlauf zwischen Vollblut und gewaschenen Erythrozyten unterschiedlich. War es bei der Leberperfusion hauptsächlich die unterschiedliche Anfangskonzentration, bedingt durch das Entfernen des Plasmas, so war es in den Leerversuchen ein geringerer Anstieg, der sich durch die verminderte Synthese des Lactats bei den gealterten Erythrozyten zurückführen ließ.

Die niedrigen Lactatkonzentrationen bei den Leberperfusionen auch in der Konzentration nach 3 Stunden (4,2 mg/dl - 6,4 mg/dl), ließen auf eine intakte Leberfunktion schließen. Ansonsten hätte es durch das Fehlen des Cori-Zyklus einen kontinuierlichen Anstieg wie in den Reihen ohne Leber geben müssen.

Um diese Effekte, die auch zu einem Anstieg der Glucosekonzentration führen könnten, zu berücksichtigen, wurde in einer weiteren Tabelle (Tabelle 4) der Glucosekonzentration die Lactatkonzentration hinzugerechnet, als wäre das gesamte Lactat in Glucose umgewandelt worden. Das heißt schon in der Nullstundenkonzentration wurde das Lactat zur Glucosekonzentration addiert, so daß

eine Umwandlung dieses Lactats in Glucose die Kurve nicht mehr beeinträchtigt hätte.

Dieser Effekt war allerdings bedingt durch den im Vergleich zur Glucose doch sehr niedrigen Konzentrationen gering. Um auch noch die unterschiedliche Nullstundenkonzentration von Glucose zu berücksichtigen wurden bei der Leberperfusion mit gewaschenen Erythrozyten der Nullstundenwert des entsprechenden Leerversuchs abgezogen, und bei den Versuchen mit Vollblut der Nullstundenwert der Reihe mit Haemaccel.

Zusätzlich wurden die bei der Reihe mit Haemaccel auftretenden Änderungen bei den Versuchsreihen mit Leberperfusion berücksichtigt, und entsprechend addiert. Bei der Reihe 200/0,5 0VB wurde dafür die Reihe des Leerversuchs mit gewaschenen Erythrozyten herangezogen. Insgesamt wurden dadurch die Kurven etwas deutlicher ohne jedoch daraus eine neue Aussage treffen zu können.

Keine sehr großen Unterschiede ergaben die Messungen des Harnstoffs. Da auch in den Leerversuchen ein, wenn auch geringerer, Anstieg der Harnstoffkonzentration gemessen wurde, kann auf Miterfassung von Ammoniak beruhen.

Enttäuschend war jedoch der geringe Anteil der Leber am Abbau der Hydroxyethylstärke während der drei Stunden. Dieser langsame Abbau in der Leber ist aber auch eine Erklärung der persistierenden Fraktion bei der hochsubstituierten Stärke. Man muß jedoch auch die hohe Menge von HES im Vergleich zur Leber berücksichtigen. Außerdem fehlen natürlich noch alle anderen Zellen des RES insbesondere der Milz.

Da die α -Amylase aber auch nicht die mittelsubstituierte HES vollständig abbauen konnte, müßte auch ein kleiner Teil des HES 200/0,5 verlangsamt abgebaut werden. Da bei diesen Versuchsreihen der Teil der übriggebliebenen HES, der durch die

α -Amylase in nierengängige Moleküle gespalten wurde, aber weiterhin mitgemessen wurden, dürfte der Anteil sehr klein sein. Beim HES 450/0,7 wurde durch die α -Amylase während der drei Stunden die HES nicht direkt abgebaut und daher wohl auch nicht in Moleküle unterhalb der Nierenschwelle gespalten, bei einem höheren Anteil an primär nicht nierengängigen Molekülen bedingt durch Molekülgröße und Substitutionsgrad.

Keinen Unterschied gab es jedoch bei der Konzentration von Hydroxyethylstärke in der Leber. Leider wurde jedoch nicht näher untersucht ob sich das HES im Rest der Perfusionslösung, den Hepatozyten oder in den Zellen des RES befand. Die Menge entsprach mit 14 bis 16 g/Leber in etwa der Masse in einem bis anderthalb Milliliter Perfusionsgemisch, so daß allein durch die noch vorhandene Restblutmenge bei der Einwaage der Wert erreicht werden konnte. So daß eine anschließende Spülung mit gekühlter HES-freier Lösung diesen Fehler korrigiert hätte. Dies hätte jedoch immer noch nicht geklärt ob, und welches HES in den Hepatozyten, und wieviel HES in den Zellen des RES gespeichert wurde.

Messungen der HES Konzentration in der Galle konnten keine Hydroxyethylstärke nachweisen. Dies steht im Gegensatz zu Hulse und Yacobi (1980), die nach der Gabe von markierter HES aufgrund einer Anreicherung von Radioaktivität in den Fäces, auf eine biläre Exkretion schlossen. Entweder waren die drei Stunden der Perfusion zu kurz, oder die Galle schied nur soweit abgebaute HES aus, daß es nicht mehr im Test erfaßt wurde. Zumindest über den Abbau der entstandenen Glucose könnte man sich eine Anreicherung radioaktiv markierter Kohlenstoffatome in den Fäces vorstellen.

So scheint also für die mittelsubstituierte HES 200/0,5, die hier verwendet wurde zu gelten, daß zuerst die nierengängigen Moleküle ausgeschieden werden. Die dann verbleibenden Moleküle werden durch die α -Amylase entweder zu Monosacchariden abgebaut, oder zumindest zum Teil wenigstens in Moleküle unterhalb der

Nierenschwelle gespalten. Der dabei gefundene Anstieg der Glucosekonzentration dürfte in der klinischen Anwendung aber ohne Bedeutung sein (Hofer et al. 1992). Nur der dann noch verbleibende Teil bei der HES 200/0,5 muß über die gleichen Mechanismen wie die hier auch verwendete hochsubstituierte HES 450/0,7 ausgeschieden werden. Obwohl auch hier ein relativ kleinerer Teil renal ausgeschieden werden kann, muß der größte Teil durch das RES oder andere langsame Mechanismen eliminiert werden. Das bedeutet, daß zwar beide HES kumulieren können bei der Daueranwendung, der Anteil bei der mittelsubstituierten HES aber deutlich niedriger liegt. Für eine dauerhafte Volumensubstitution dürfte aber dennoch die hochsubstituierte HES besser geeignet sein.

Studien mit einer Nierenperfusion sowohl mit Vollblut als auch mit gewaschenen Erythrozyten im Vergleich könnten einerseits zeigen inwiefern die α -Amylase die Hydroxyethylstärke in nierengängige Bruchstücke spaltet, und andererseits beim Vergleich verschiedener HES-Sorten eine genauere Aussage über die Nierenschwelle treffen. Eine genauere Untersuchung der nicht nierengängigen HES, der nicht sofort ausgeschieden wird könnte mehr über deren langfristiger Bedeutung aussagen. Sollten tatsächlich die substituierten Glucosemoleküle durch die Ethergruppe nicht weiter abgebaut werden können, so müßte man die Indikation für HES vor allem bei häufiger Gabe strenger stellen.

5 Zusammenfassung

Die zunehmend breitere Verwendung der Hydroxyethylstärke in immer höheren Dosierungen stellt die Frage nach ihrem Abbau und der Speicherung im Körper. Dazu wurde die Leber, als ein Organ mit bekannter Speicherung von Hydroxyethylstärke und als möglicher Abbauort, mit HES 200/0,5 künstlich perfundiert. Als Modell wurde die Wistar-Ratte gewählt, und als Kolloide zum Vergleich diente eine HES 450/0,7 und eine Gelatinelösung. Zur Differenzierung des Abbaus durch die Leber und des Plasmas wurde eine Reihe mit gewaschenen Erythrozyten als Sauerstoffträger, und ein Leerversuch ohne Leber durchgeführt. Durch die Leberperfusionen konnte gezeigt werden, daß ein Abbau in der Leber nur sehr langsam stattfindet. Weiterhin ließ sich nur ein eingeschränkter Abbau der Hydroxyethylstärke mit mittlerer Substitution durch die α -Amylase zeigen, während er sich bei der hochsubstituierten HES überhaupt nicht nachweisen ließ. Der Abbau der Hydroxyethylstärke ist nach anfänglich schneller Spaltung durch die α -Amylase und Ausscheidung durch die Niere anschließend nur noch sehr langsam. Da in der Leber sowohl Hepatozyten als auch Zellen des RES vorhanden sind, scheint diese langsame Elimination auch für den Patienten zu gelten, nachdem alle nierengängigen Moleküle im Urin ausgeschieden wurden. Während diese langsame Elimination die mittelsubstituierte HES nur zum kleinen Teil betrifft, dürfte jedoch der größte Teil der hochsubstituierten HES auf diese Art abgebaut werden. Dennoch ist wohl nur der Anteil der persistierenden Fraktion unterschiedlich, aber sowohl bei HES 200/0,5 als auch bei HES 450/0,7 scheint die persistierende Fraktion nicht nur ähnlich eliminiert zu werden sondern auch chemisch gleich zu sein. Sowohl hoch- als auch mittelsubstituierte HES können bei häufiger Applikation kumulieren. Ein Kolloid mit ähnlich positiven Eigenschaften, aber ohne persistierende Fraktion wäre für die Daueranwendung der Hydroxyethylstärke vorzuziehen.

6 Dokumentation der Ergebnisse Tabellen und Graphen

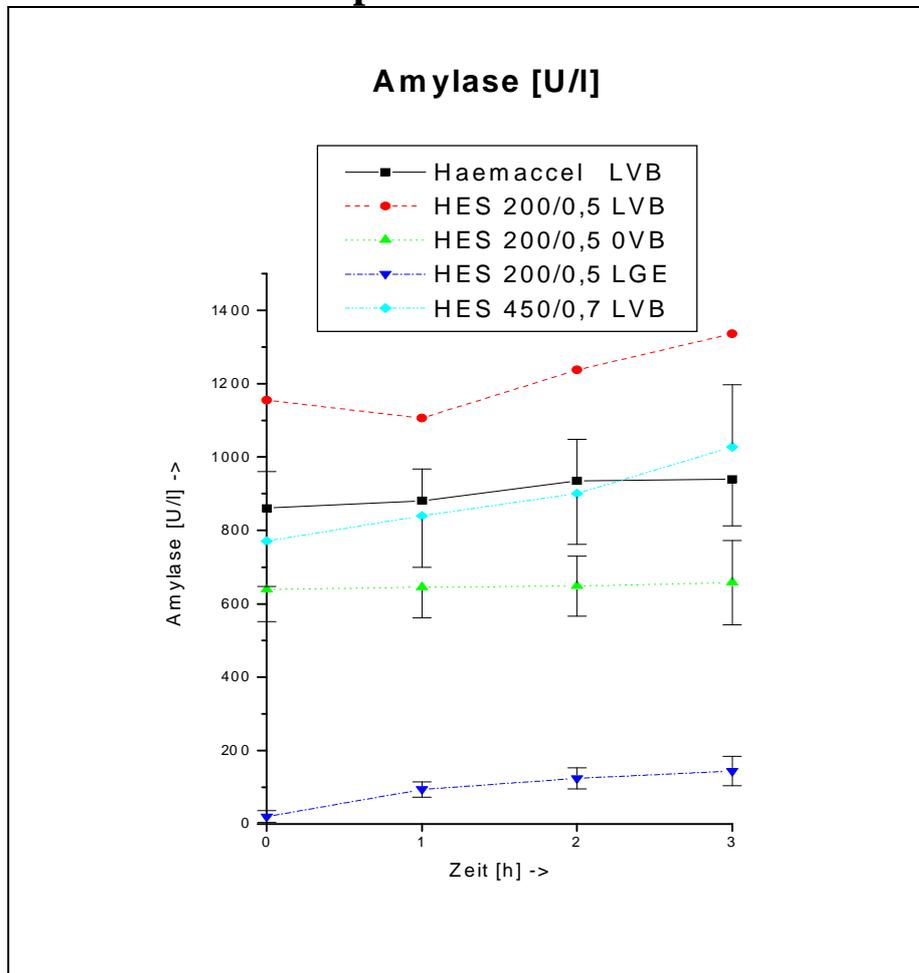


Abbildung & Tabelle 1: α -Amylase [U/l] Aktivität während einer dreistündigen Leberperfusion.

a - Amylase [U/l]						
Mittelwerte und Standardabweichung						
Zeit [h]	Haemaccel LVB	HES 200/0,5 LVB	HES 200/0,5 0VB	HES 200/0,5 LGE	HES 450/0,7 LVB	
	n=8	n=1	n=6	n=6	n=12	
0	861 ± 99	1155 ± 0	639 ± 88	20 ± 16	771 ± 124	
1	881 ± 86	1106 ± 0	645 ± 83	94 ± 21	840 ± 141	
2	935 ± 113	1238 ± 0	648 ± 82	124 ± 29	901 ± 139	
3	940 ± 127	1336 ± 0	658 ± 115	144 ± 40	1028 ± 169	

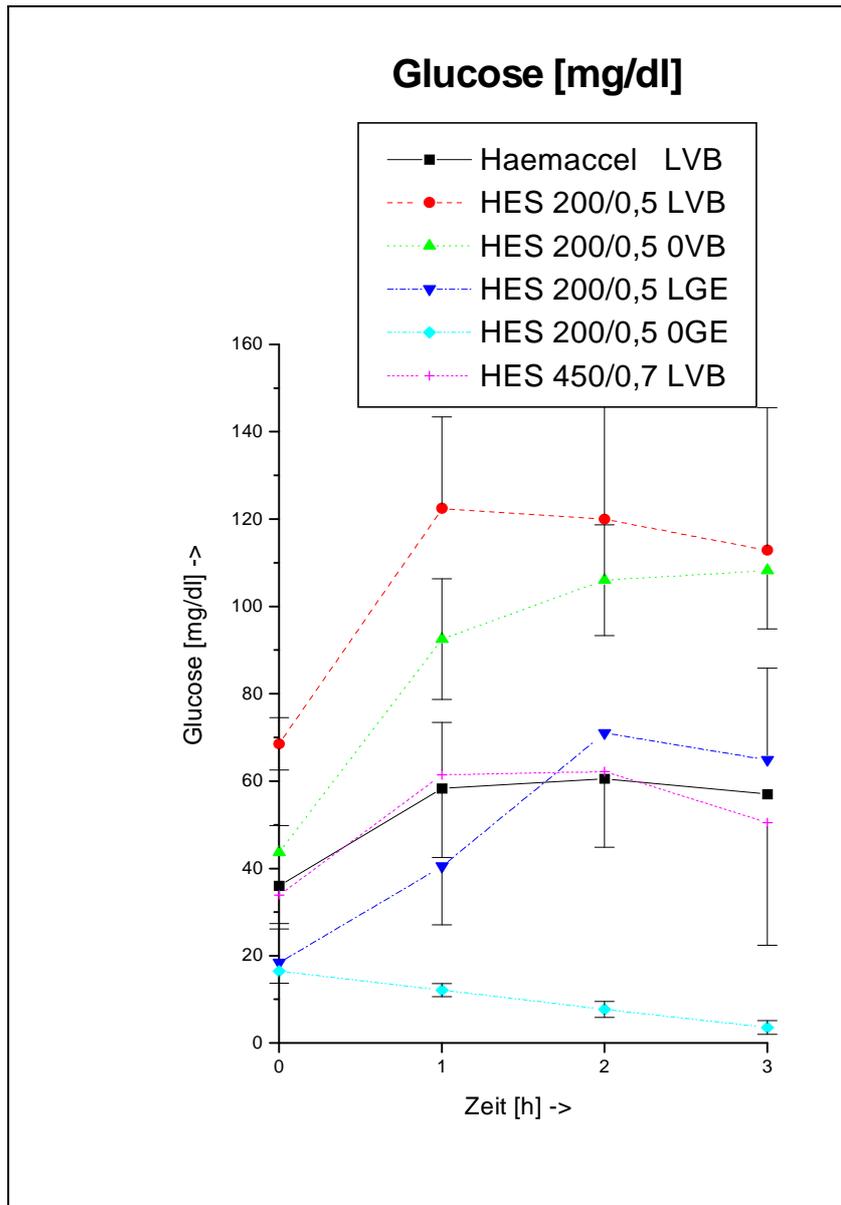


Abbildung &Tabelle 2: Glucose [mg/dl] Konzentration während einer dreistündigen Leberperfusion.

Glucose [mg/dl]						
Mittelwerte und Standardabweichung						
Zeit [h]	Haemaccel LVB n=13	HES 200/0,5 LVB n=10	HES 200/0,5 0VB n=6	HES 200/0,5 LGE n=6	HES 200/0,5 0GE n=6	HES 450/0,7 LVB n=12
0	36 ± 8	68,5 ± 6	43,7 ± 6,1	18,4 ± 7,7	16,5 ± 2,8	33,9 ± 6,5
1	58,3 ± 15,8	122,4 ± 21	92,5 ± 13,8	40,5 ± 13,4	12,1 ± 1,5	61,4 ± 12
2	60,5 ± 15,7	120 ± 27,6	106 ± 12,7	71 ± 48,2	7,7 ± 1,8	62,2 ± 17,3
3	57 ± 23,1	112,8 ± 32,7	108,2 ± 13,3	64,9 ± 21	3,6 ± 1,6	50,5 ± 28,1

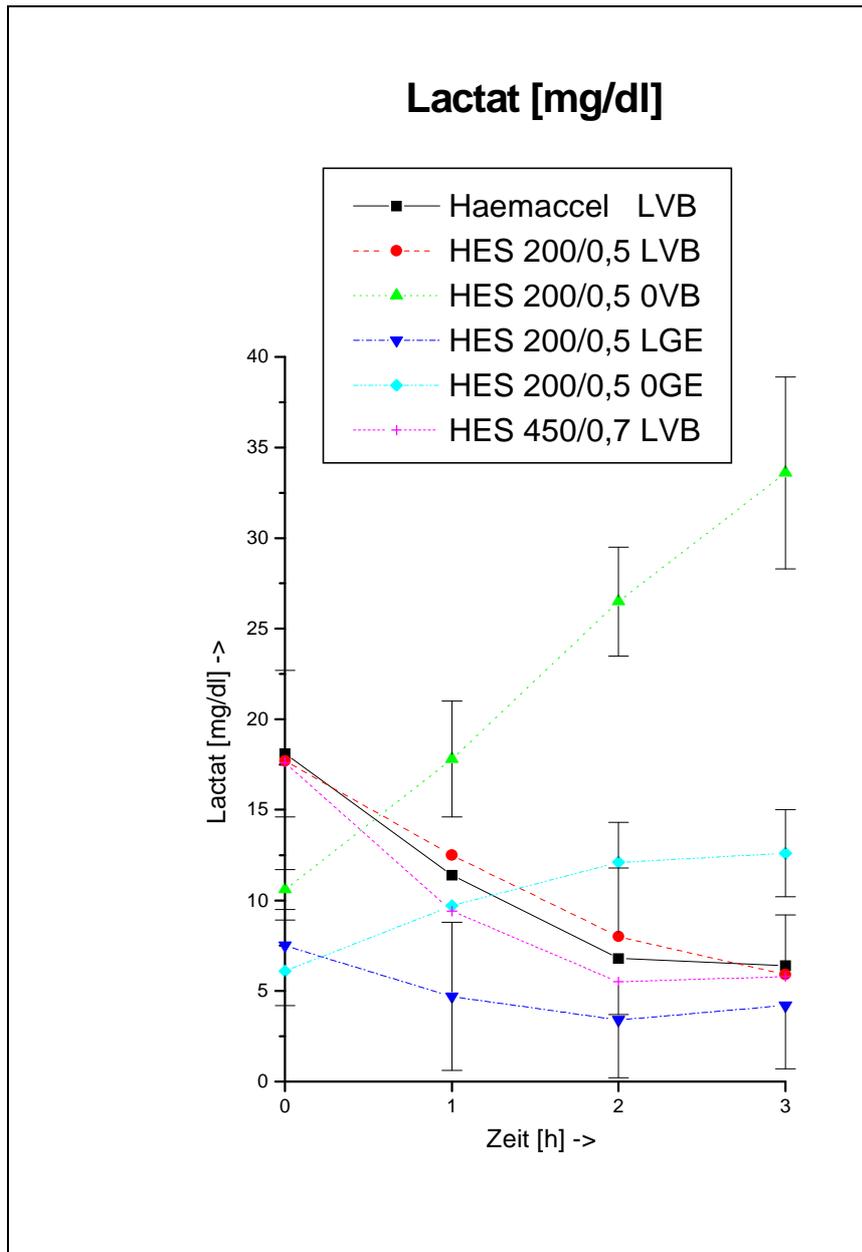


Abbildung & Tabelle 3: Lactat [mg/dl] Konzentration während einer dreistündigen Leberperfusion.

Lactat [mg/dl]						
Mittelwerte und Standardabweichung						
Zeit [h]	Haemaccel LVB n=13	HES 200/0,5 LVB n=10	HES 200/0,5 0VB n=6	HES 200/0,5 LGE n=6	HES 200/0,5 0GE n=6	HES 450/0,7 LVB n=12
0	18,1 ± 4,6	17,7 ± 3,2	10,6 ± 1,1	7,5 ± 1,4	6,1 ± 1,9	17,6 ± 3,0
1	11,4 ± 4,7	12,5 ± 7,5	17,8 ± 3,2	4,7 ± 4,1	9,7 ± 1,7	9,4 ± 5,2
2	6,8 ± 3,5	8,0 ± 3,8	26,5 ± 3,0	3,4 ± 3,2	12,1 ± 2,2	5,5 ± 1,8
3	6,4 ± 2,8	5,9 ± 2,5	33,6 ± 5,3	4,2 ± 3,5	12,6 ± 2,4	5,8 ± 2,5

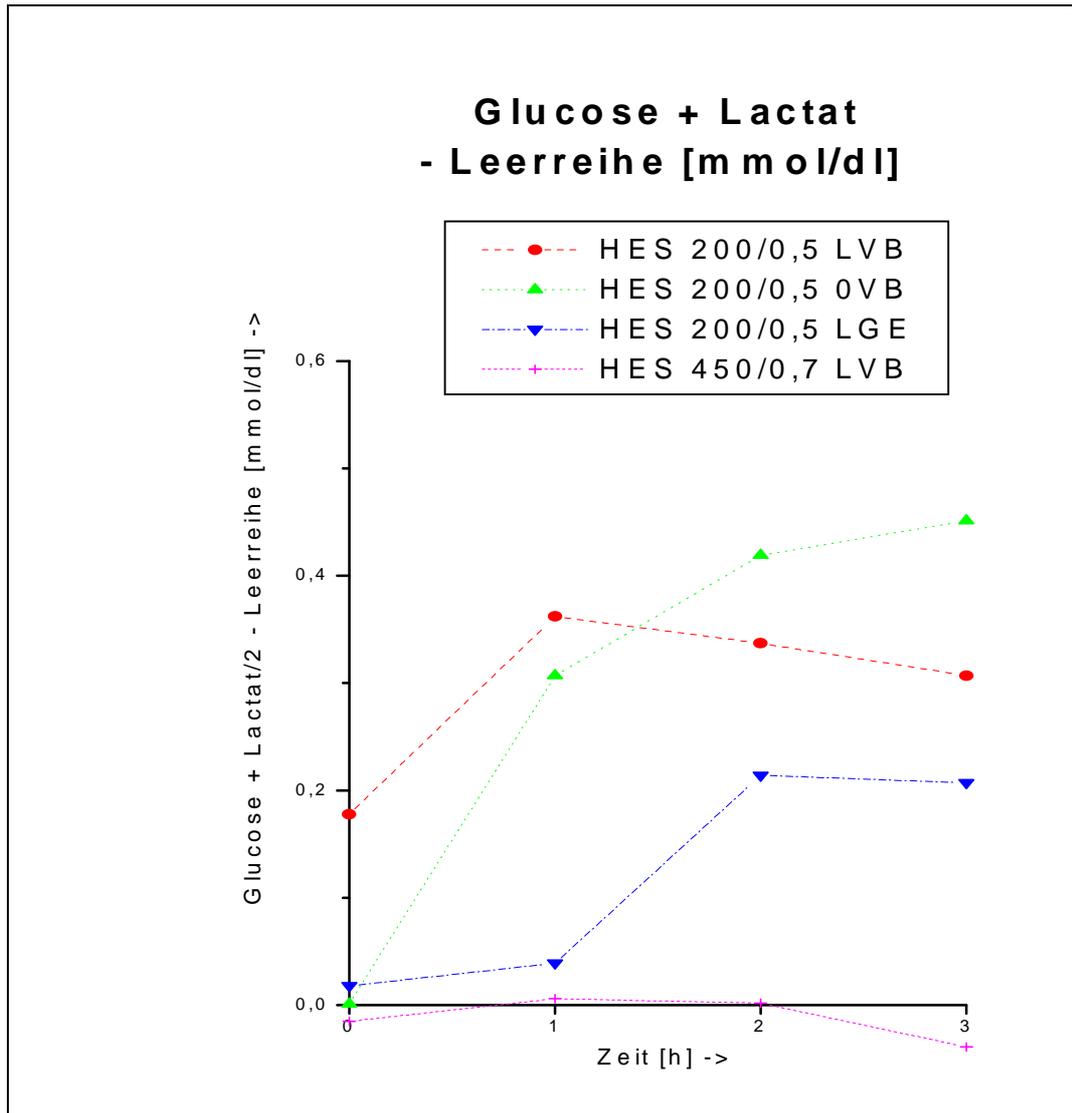


Abbildung &Tabelle 4: Glucose + Lactat - Leerreihe [mmol/dl] errechnete Konzentration während einer dreistündigen Leberperfusion.

Glucose + Lactat/2 - Leerreihen [mmol/dl]				
Mittelwerte				
Zeit [h]	HES 200/0,5 LVB	HES 200/0,5 0VB	HES 200/0,5 LGE	HES 450/0,7 LVB
	n=10	n=6	n=6	n=12
0	0,2	0	0	-0
1	0,4	0,3	0	0
2	0,3	0,4	0,2	0
3	0,3	0,5	0,2	-0

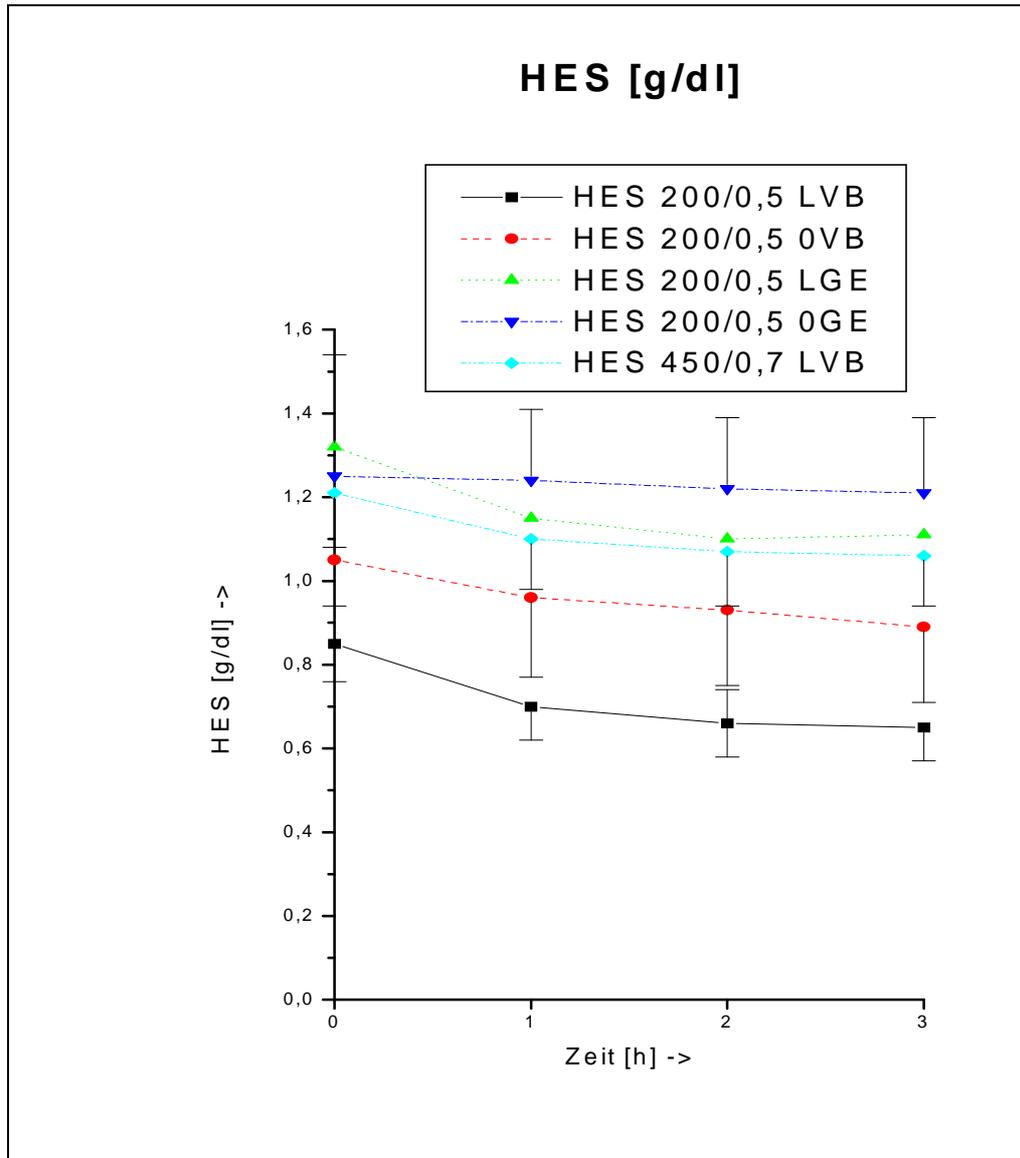


Abbildung & Tabelle 5: HES [g/dl] Konzentration während einer dreistündigen Leberperfusion.

HES [g/dl]					
Mittelwerte und Standardabweichung					
Zeit [h]	HES 200/0,5 LVB n=10	HES 200/0,5 0VB n=6	HES 200/0,5 LGE n=6	HES 200/0,5 0GE n=6	HES 450/0,7 LVB n=12
0	0,85 ± 0,09	1,05 ± 0,2	1,32 ± 0,22	1,25 ± 0,18	1,21 ± 0,13
1	0,70 ± 0,08	0,96 ± 0,19	1,15 ± 0,24	1,24 ± 0,17	1,10 ± 0,12
2	0,66 ± 0,08	0,93 ± 0,18	1,10 ± 0,24	1,22 ± 0,17	1,07 ± 0,13
3	0,65 ± 0,08	0,89 ± 0,18	1,11 ± 0,2	1,21 ± 0,18	1,06 ± 0,12

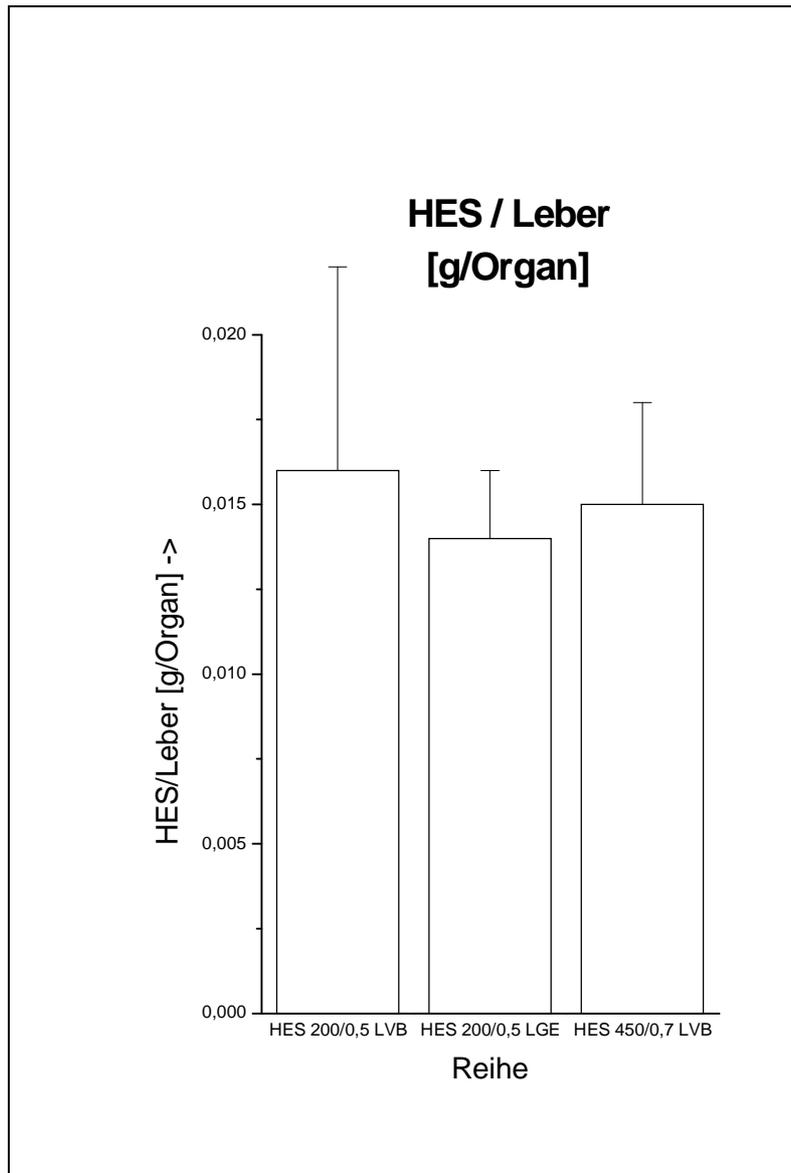


Abbildung & Tabelle 6: HES/Leber [g/Organ] Konzentration nach einer dreistündigen Leberperfusion.

HES/Leber [g/Organ]				
Reihe		Mittelwert		Standardabweichung
HES 200/0,5 LVB	n=9	0,016	±	0,006
HES 200/0,5 LGE	n=6	0,014	±	0,002
HES 450/0,7 LVB	n=6	0,015	±	0,003

Hämoglobin [g/dl]

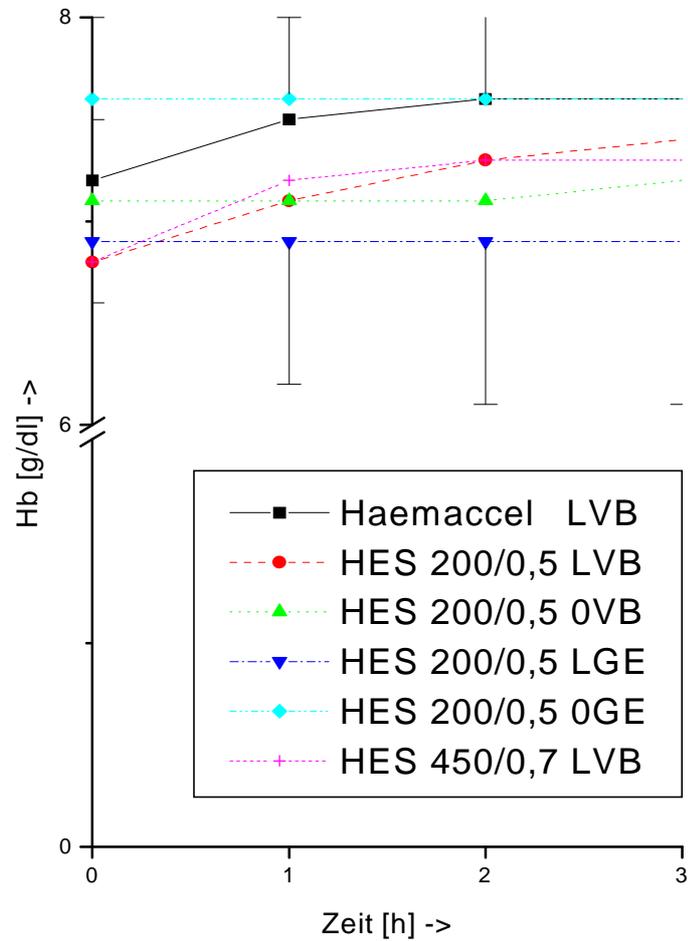


Abbildung & Tabelle 7: Hämoglobin [g/dl] Konzentration während einer dreistündigen Leberperfusion.

Hb [g/dl]						
Mittelwerte und Standardabweichung						
Zeit [h]	Haemaccel LVB n=13	HES 200/0,5 LVB n=10	HES 200/0,5 0VB n=6	HES 200/0,5 LGE n=6	HES 200/0,5 0GE n=6	HES 450/0,7 LVB n=12
0	7,2 ± 0,3	6,8 ± 0,2	7,1 ± 0,3	6,9 ± 0,8	7,6 ± 0,4	6,8 ± 0,3
1	7,5 ± 0,3	7,1 ± 0,3	7,1 ± 0,4	6,9 ± 0,7	7,6 ± 0,4	7,2 ± 0,3
2	7,6 ± 0,4	7,3 ± 0,2	7,1 ± 0,4	6,9 ± 0,8	7,6 ± 0,5	7,3 ± 0,4
3	7,6 ± 0,4	7,4 ± 0,3	7,2 ± 0,5	6,9 ± 0,8	7,6 ± 0,5	7,3 ± 0,5

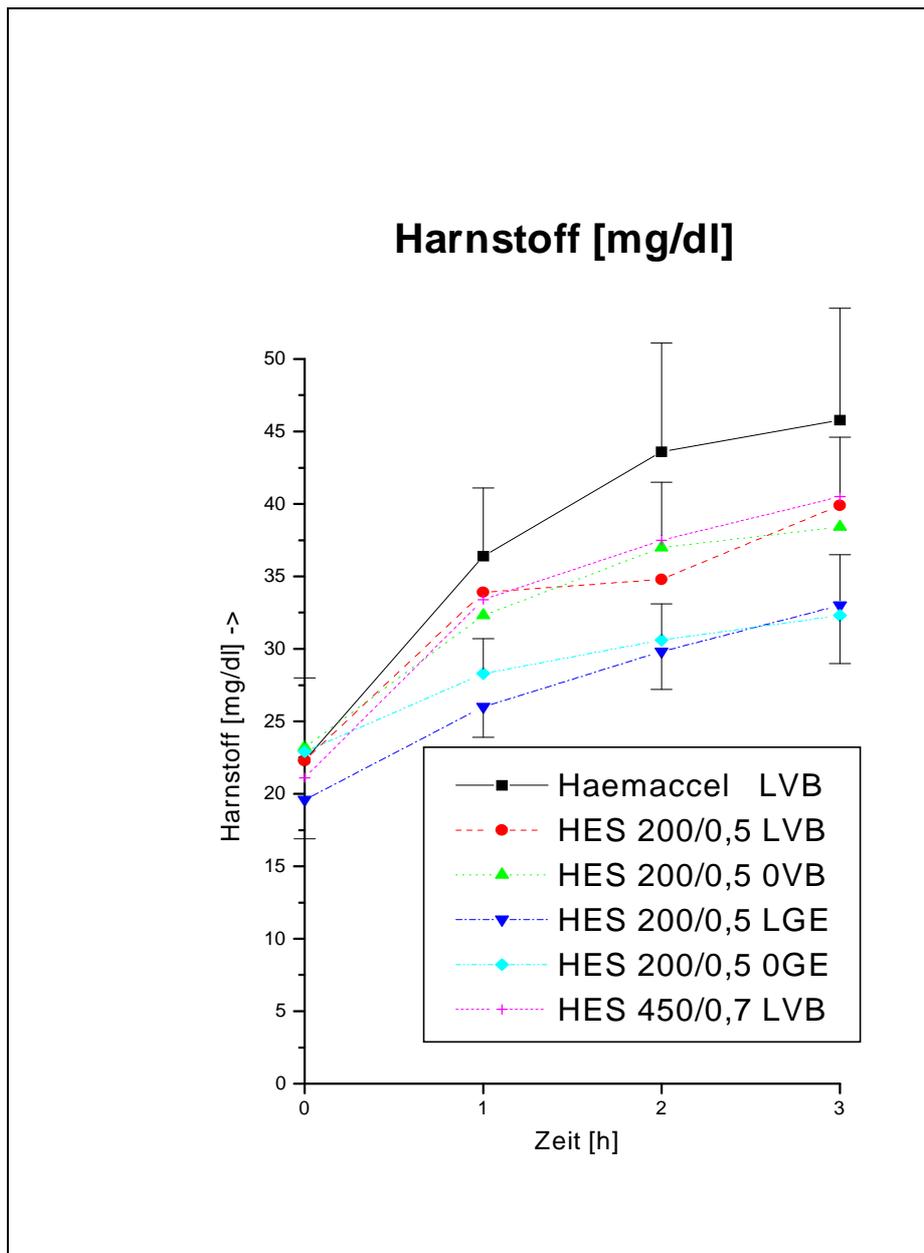


Abbildung &Tabelle 8: Harnstoff [mg/dl] Konzentration während einer dreistündigen Leberperfusion.

Harnstoff [mg/dl]							
Mittelwerte und Standardabweichung							
Zeit [h]	Haemaccel LVB	HES 200/0,5 LVB	HES 200/0,5 OVB	HES 200/0,5 LGE	HES 200/0,5 OGE	HES 450/0,7 LVB	
	n=9	n=10	n=6	n=6	n=6	n=12	
0	22,3 ± 2,0	22,3 ± 4,3	23,2 ± 4,8	19,6 ± 2,7	22,9 ± 2,8	21,1 ± 2,6	
1	36,4 ± 4,7	33,9 ± 6,0	32,3 ± 5,1	26,0 ± 2,1	28,3 ± 2,4	33,4 ± 2,1	
2	43,6 ± 7,5	34,8 ± 4,8	37,0 ± 8,1	29,8 ± 2,6	30,6 ± 2,5	37,5 ± 4,0	
3	45,8 ± 7,7	39,9 ± 8,3	38,4 ± 7,6	33,0 ± 3,5	32,3 ± 3,3	40,5 ± 4,1	

7 Literaturverzeichnis

1. Asskali F, Förster H: Acetyl-Stärke, Volumenersatz der Zukunft ? Anaesthesist 1994;43[Suppl 1]:11.
2. Asskali F: Einfluß von Substitution und Molekulargewicht auf die Pharmakokinetik von Hydroxyethylstärke - Untersuchung bei Versuchspersonen. Beitr Anaesth Intensivmed 1988;26:27-42.
3. Banks W, Greenwood CT, Muir DD: The structure of hydroxyethyl starch. Brit J Pharmac 1973;47:172-178.
4. Banks W, Greenwood CT, Muir DD: Studies on hydroxyethyl starch. Part 1. A review of the chemistry of hydroxyethyl starch, with reference to its use as a blood plasma volume expander. Stärke 1972;24:181-187.
5. Bergmeyer HU: Methods of Enzymatic Analysis. Weinheim, Verlag Chemie, 1984, 3 ed, Vol. VI, pp 163-172.
6. Bergmeyer HU: Methoden der enzymatischen Analyse. Weinheim, Verlag Chemie, 1974, 3 ed, Bd II, pp 1839-1842.
7. Bogan RK, Gale GR, Walton RP: Fate of ¹⁴C-Labeled Hydroxyethylstarch in Animals. Toxicol Appl Pharmacol 1969;15:206-211.
8. Boon JC, Jesch F, Ring J, Messmer K: Intravascular persistence of hydroxyethylstarch in man. Eur surg Res 1976;8:497-503.
9. von Borman B, Aulich S, Klein R: Volumetherapie in der operativen Medizin. Krankenhausarzt 1993;66:44-51.
10. von Bormann B, Sticher J, Ratthey K, Idelberger R, Hempelmann G: Volumensubstitution während akuter normovolämischer Hämodilution (ANH). Humanalbumin 5% vs. Hydroxyäthylstärke 6%. Infusionstherapie 1990;17:142-146.
11. von Bormann B: Blutsparende Verfahren - anästhesiologische Aspekte. Autotransfusionsverfahren in einem Großklinikum. Unfallchirurgie 1989;15:194-200.
12. von Bormann B: Akzeptanz einer normovolämischen Anämie zur Einsparung von Fremdbluttransfusionen. Perfusion 1988;1:83-90.
13. von Bormann B, Hempelmann G: Bemerkungen zur Arbeit von M. Halmágyi: Zur Bewertung des kolloidalen Volumenersatzmittels 6% HES 40/0,5. Anaesthesist 1985;34:265-266.

14. Didzun D: Die Hämodilution mit Hydroxyethylstärke hat sich bei vielen Indikationen bewährt (Teil 1). *Krankenhausarzt* 1989;12:62-65.
15. Didzun D: Die Hämodilution mit Hydroxyethylstärke hat sich bei vielen Indikationen bewährt (Teil 2). *Krankenhausarzt* 1990;1:1-4.
16. Dienes HP, Gerharz CD, Wagner R, Weber M, John HD: Accumulation of hydroxyethyl starch (HES) in the liver of patients with renal failure and portal hypertension. *J Hepatol* 1986;3:223-227.
17. *Dt Ärztebl* 1993;90:B-1677.
18. *Dt Ärztebl* 1993;90:B-2454-2455.
19. Elliger J: Beziehung von Elimination, Metabolisierung und Wirkung von Hydroxyethylstärke in Abhängigkeit vom Substitutionsgrad und dem Massenmittel der Molmassen (Mw). Diss. Fachbereich Humanmedizin Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt, 1985.
20. Fawcett JK, Scott JE: A rapid and precise Method for the determination of urea. *J Clin Pathol* 1960;13:156-161.
21. Ferber HP: Experimentelle Untersuchungen zur Elimination und Gewebespeicherung mittel- und nieder molekularer Hydroxyäthylstärke („HAES-steril“ und Expafusin“). Habil. Fachbereich Humanmedizin Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt, 1984.
22. Ferber HP, Nitsch E, Förster H: Studies on hydroxyethylstarch. Part II: Changes of the molecular weight distribution for hydroxyethyl starch types 450/0.7, 450/0.5, 450/0.3, 300/0.4, 200/0.7, 200/0.5, 200/0.3 and 200/0.1 after infusion in serum and urine of volunteers. *Arzneimittelforschung* 1985;35:615-622.
23. Fömmel D, Asskali F, Förster H: Veränderung des Substitutionsgrades und des Substitutionsmusters von HES nach i.v. Applikation im Menschen. *Anaesthesist* 1994;43[Suppl 1]:229.
24. Förster H: Einführung: Hydrokolloide im Vergleich mit Albumin. *Anaesthesist* 1994;43[Suppl 1]:9.
25. Förster H: Aktualisierte gutachterliche Stellungnahme mit wissenschaftlicher Kommentierung insbesondere der klinischen Daten von HES 450/0,7 (Varihes) der Fa Laevosan Gesellschaft Linz/Donau. 1992.
26. Förster H, Asskali F, Nitsch A, Inventors; Laevosan Gesellschaft mbH, Linz, Austria, assigne. Metabolisierbarer Plasmaersatz. International Patent P4122999.1. July 11, 1991.

27. Förster H: Physikalisch-chemische und physiologische Bedeutung von Substitution und Molekulargewicht bei Hydroxyethylstärke, in Heilmann L, Ehrly AM (eds): Hämorheologie und operative Medizin. Münch wiss Publ, 1988, p 118-134.
28. Förster H: Biochemische Grundlagen zur Verwendung von polymeren Kohlenhydraten als Plasmaersatz. Beitr Anaesth Intensivmed 1988;26:27-42.
29. Förster H: Zusammenfassung der klinischen Daten über Hydroxyethylstärke unter besonderer Berücksichtigung von HES 200/0,5 der Firma Laevosan-Gesellschaft mbH, Isohes (6%) und Expahes (10 %) Infusionsflasche und Infusionsbeutel. 1987. Gutachten.
30. Förster H: Zusammenfassung der nichtklinischen Daten über Hydroxyethylstärke unter besonderer Berücksichtigung von HES 200/0,5 der Firma Laevosan-Gesellschaft mbH, Isohes (6%) und Expahes (10 %) Infusionsflasche und Infusionsbeutel. 1987. Gutachten.
31. Förster H, Wicarkzyk C, Dudziak R: Bestimmung der Plasmaelimination von Hydroxyethylstärke und von Dextran mittels verbesserter analytischer Methodik. Infusionsther Klin Ernähr 1981;8:88-94.
32. Förster H, Hoos I, Schneider M, Hauk H: Zur Verwendung von stromafreien Hämoglobinlösungen als Blutersatz. Infusionsther Klin Ernähr 1977;4, 122.
33. Förster H: Laboratoriumsuntersuchung bei Diabetes mellitus, in Mehnert H, Schöffling K (eds): Diabetologie in Klinik und Praxis. Stuttgart, Thieme, 1974, Teil 2, pp 148-162.
34. Förster H, Bruhn U, Hoos I: Verhalten von Trihydroxyethylrutosid und Tetrahydroxyethylrutosid in der perfundierten Leber. Arzneimittelforschung 1972;22, 1312-1317.
35. Halmágyi M: Erwiderung auf die Bemerkungen von B. Bormann und G. Hempelmann zur Arbeit von M. Halmágyi: Zur Bewertung des kolloidalen Volumenersatzmittels 6% HÄS 40/0,5. Anaesthesist 1985;34:365-366.
36. Halmágyi M: Zur Bewertung des kolloidalen Volumenersatzmittels 6% HÄS 40/0,5. Anaesthesist 1984;33:73-81.
37. Heilmann L, Lorch E, Hojnacki B, Müntefering H, Förster H: Die Speicherung von zwei unterschiedlichen Hydroxyethylstärke-Präparaten in der Plazenta nach Hämodilution bei Patientinnen mit fetaler Mangelentwicklung oder Schwangerschaftshochdruck. Infusionstherapie 1991;18:236-243.

38. Hems R, Ross BD, Berry MN, Krebs HA: Gluconeogenesis in the perfused rat liver. *Biochem J* 1966;101:284-292.
39. Herrath D von, Thimme W (ed): Plasmaersatzmittel. *Der Arzneimittelbrief* 1990;24:9-12.
40. Hölscher B: Langzeitverträglichkeit hochdosierter Infusionen von Hydroxyäthylstärke und Dextran 60 bei normovolämischen Kaninchen. *Infusionsther Klin Ernähr* 1975;2:215-220.
41. Hofer RE, Lanier WL: Effect of hydroxyethyl starch solutions on blood glucose concentrations in diabetic and nondiabetic rats. *Crit Care Med* 1992;20:211-215.
42. Hohorst HJ: Enzymatische Bestimmung von L(+)-Milchsäure. *Biochem Z* 1957;328:509-521.
43. Hulse JD, Yacobi A: Hetastarch: An overview of the colloid and its metabolism. *Drug Intell Clin Pharm* 1983;17:334-341.
44. Hulse JD, Stoll RG, Yacobi A, Gupta SD, Lai CM: Elimination of high molecular weight hydroxyethylstarch in rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1980;29:149-158.
45. Jurecka W, Szépfalusi Z, Parth E, Schimetta W, Gebhart W, Scheiner O, Kraft D: Hydroxyethylstarch deposits in human skin--a model for pruritus?. *Arch Dermatol Res* 1993;285:13-19.
46. Kampen EJ van, Zijlstra WG: Hämoglobinbestimmung. *Clin Chim Acta* 1961;6:538.
47. Klotz U, Kroemer H: Clinical pharmacokinetic considerations in the use of plasma expanders. *Clin Pharmacokinet* 1987;12:123-135.
48. Köhler H, Zschiedrich H, Linfante A, Appel F, Pitz H, Clasen R: Die Elimination von Hydroxyäthylstärke 200/0,5, Dextran 40 und Oxypolygelatine. *Klin Wochenschr* 1982;60:293-301.
49. Köhler H, Zschiedrich H, Clasen R, Linfante A, Gamm H: Blutvolumen, kolloidosmotischer Druck und Nierenfunktion von Probanden nach Infusion mittelmolekularer 10% Hydroxyäthylstärke 200/0,5 und 10% Dextran 40. *Anaesthesist* 1982;31:61-67.

50. Köhler H: Blutvolumen, kolloidosmotischer Druck und Nierenfunktion nach Infusion mittelmolekularer 6% Hydroxyäthylstärke 200/0,5 im Vergleich zu 5,5 % Oxypolygelatine. in: Wissenschaftliche Informationen Anästhesie, Wiederbelebung, Intensivbehandlung. Fresenius Stiftung, Bad Homburg 1982.
51. Köhler H, Kirch W, Pitz H: Volumenzweiteffekt nach einmaliger Infusion von Hydroxyäthylstärke. *Klin Wochenschr* 1978;56:977-983.
52. Köhler H: Elimination und Volumenwirkung von Hydroxyäthylstärke 450/0,7. in: Wissenschaftliche Informationen Anästhesie, Wiederbelebung, Intensivbehandlung, Beiheft 2. Fresenius Stiftung, Bad Homburg 1978:71-77.
53. Kretzschmar A: Hydroxyethylstärke - eine aktuelle Übersicht. *Krankenhausarzt* 1988;61:10-17.
54. Lackner FX, Graninger W, Ilias W, Panzer S, Schulz E: Präoperative Eigenblutspende, der Einfluß von Hydroxyethylstärke auf Retikuloendothelialesystem und Opsonine. *Infusionstherapie* 1990;17:276-279.
55. Lederer K, Huber C, Dunky M, Fink JK, Ferber HP, Nitsch E: Studies on hydroxyethyl starch. Part I: Molecular characterization by size exclusion chromatography coupled with low-angle laser light scattering. *Arzneimittelforschung* 1985;35:610-614.
56. Lenz G, Hempel V, Junger H, Werle H, Buckenmaier P: Auswirkungen von Hydroxyäthylstärke, Oxypolygelatine und Humanalbumin auf die Phagozytosefunktion des Retikuloendothelialen Systems (RES) gesunder Probanden. *Anaesthesist* 1986;35:423-428.
57. Lindblad G, Falk J: Konzentrationsverlauf von Hydroxyäthylstärke und Dextran in Serum und Lebergewebe von Kaninchen und die histopathologischen Folgen der Speicherung von Hydroxyäthylstärke. *Infusionsther Klin Ernähr* 1976;3:301-303.
58. Lindblad G: Leserzuschrift zu der Leserzuschrift von Thompson WL zu: Konzentrationsverlauf von Hydroxyäthylstärke und Dextran in Serum und Lebergewebe von Kaninchen und die histopathologischen Folgen der Speicherung von Hydroxyäthylstärke. *Infusionsther Klin Ernähr* 1978;5:118-119.
59. Maurer C, Poppendiek B: Lactatbestimmung mit APAD. *Z Klin Biochem* 1973;11:476-8.

60. Meier B, Asskali F, Abasi ZM, Förster H: Pharmakokinetik der Acetylstärke-Vergleich von Acetylstärke mit Hydroxyethylstärke nach Infusion in splenektomierte Beagle-Hunde. *Anaesthesist* 1994;43[Suppl 1]:230.
61. Messmer K: Characteristics, effects and side-effects of plasma substitutes, in Lowe KC (ed): *Blood substitutes: preparation, physiology, and medical applications*. Weinheim, VCH, 1988, pp51-70.
62. Messmer KFW: The use of plasma substitutes with special attention to their side effects. *World J Surg* 1987;11:69-74.
63. Messmer K, Jesch F: Volumenersatz und Hämodilution durch Hydroxyäthylstärke. *Infusionsther Klin Ernähr* 1978;5:169-177.
64. Messmer K, Jesch F: Leserzuschrift zu: Volumenersatz und Hämodilution durch Hydroxyäthylstärke. *Infusionsther Klin Ernähr* 1978;5:237-238.
65. Mishler JM: *the Pharmacology of hydroxyethyl starch*. Oxford, Oxford University Press, 1982.
66. Mishler JM, Ricketts CR, Parkhouse EJ: Urinary excretion kinetics of hydroxyethyl starch 350/0.60 in normalvolaemic man. *J Clin Pathol* 1981;34:361-365.
67. Mishler JM: Clinical pharmacology of hydroxyethyl starches. *Rev Fr Transfus* 1980;23:283-298.
68. Mishler JM: Pharmakokinetik mittelmolekularer Hydroxyethylstärke HES 200/0,5. *Infusionsther Klin Ernähr* 1980;7:96-102.
69. Mishler JM, Ricketts CR, Parkhouse EJ: Changes in the molecular size distribution and post-transfusion survival of hydroxyethyl starch 350/0.60 as influenced by a lower degree of hydroxyethylation: a study in normal man. *J Clin Pathol* 1980;33:880-884.
70. Mishler JM, Ricketts CR, Parkhouse EJ, Borberg H, Gross R: The catabolism of low molecular weight-hydroxyethylated amylopectin in man. II. Changes in the urinary molecular profiles. *Int J Clin Pharmacol Biopharm* 1980;18:5-9.
71. Mishler JM, Beez M: Die mathematische Beschreibung der intravasalen Ausscheidung von HES nach wiederholten Infusionen beim Menschen. *Infusionsther Klin Ernähr* 1979;6:119-122.
72. Mishler JM, Dürr HK: Macroamylasaemia following the infusion of low molecular weight-hydroxyethyl starch in man. *Eur Surg Res* 1979;11:217-222.

73. Mishler JM, Ricketts CR, Parkhouse EJ, Borberg H, Gross R: Catabolism of low-molecular-weight hydroxyethylated amylopectin in man. I. Changes in the circulating molecular composition. *J Lab Clin Med* 1979;94:841-847.
74. Mishler JM, Ricketts CR, Parkhouse EJ: Changes in the molecular composition of circulating hydroxyethyl starch following consecutive daily infusions in man. *Br J Clin Pharmacol* 1979;7:505-509.
75. Morawitz CH: Beobachtungen über den Wiederersatz der Bluteiweißkörper. *Beitr Chem Physiol Path* 1906;7:153.
76. Paulini K, Sonntag W: Veränderungen des RHS der Ratte nach parenteraler Gabe von Dextran (Mw 40 000) und Hydroxyäthylstärke (Mw 40 000). Chemische, licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen. *Infusionsther Klin Ernähr* 1976;3:294-299.
77. Pfeifer U, Kult J, Förster H: Ascites als Komplikation hepatischer Speicherung von Hydroxyethylstärke (HES) bei Langzeitdialyse. *Klin Wochenschr* 1984;62:862-866.
78. Pöhlmann R: Hydroxyäthylstärke. Chemische Charakterisierung und Pharmakokinetik. *Krankenhauspharmazie* 1991;12:496-498.
79. Rauscher E: α -amylase, colorimetric method, in Bergmeyer HU (ed): *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim, Verlag Chemie, 1984, 3 ed, Vol. II, pp 157-161.
80. Ring J, Sharkoff, Richter: Intravascular persistence of hydroxyethyl starch (HES) after serial granulocyte collections using HES in men. *Vox Sang* 1980;39:181-185.
81. Sachs L: *Statistische Methoden*. Berlin, Springer, 1993.
82. Sachs L: *Angewandte Statistik*. Berlin, Springer, 1992.
83. Schildt B, Bouveng R, Sollenberg M: Plasma substitute induced impairment of the reticuloendothelial system function. *Acta Chir Scand* 1975;141:7-13.
84. Schmidt FH: Die enzymatische Bestimmung von Glucose und Fructose nebeneinander. *Klin Wochenschr* 1961;39:1244-1247.
85. Schreiber S: *Metabolismus und Speicherung von unterschiedlichen Hydroxyäthylstärke-Typen bei Ratten mit partieller und vollständiger Niereninsuffizienz*. Diss. Fachbereich Humanmedizin Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt, 1988.

86. Shatney CH, Chaudry IH: Hydroxyethylstarch administration does not depress reticuloendothelial function or increase mortality from sepsis. *Circ Shock* 1984;13:21-26.
87. Sirtl C, Dieterich HJ, Kraft D, Laubenthal H: Anaphylaktoide Nebenwirkung von Hydroxyethylstärke (HES): Keine präformierten HES-reaktiven Antikörper beim Menschen. *Anaesthesist* 1991;40[Suppl 2]:268.
88. Sirtl C, Hübner G, Jesch F: Zur Speicherung von hoch- und mittelmolekularer Hydroxyäthylstärke (HÄS) im menschlichen Gewebe. *Beitr Anaesth Intensivmed* 1988;26:74-97.
89. Sommermeyer K, Cech F, Hildebrand U, Pfitzer E, Baumbach C: Chromatographische Untersuchungen zur Polydispersität von Hydroxyethylstärke. *Stärke* 1992;44:215-218.
90. Sommermeyer K, Cech F, Schmidt M, Weidler B: Klinisch verwendete Hydroxyethylstärke: Physikalisch-chemische Charakterisierung. *Krankenhauspharmazie* 1987;8:271-278.
91. Szépfalusi Z, Parth E, Jurecka W, Luger TA, Kraft D: Human monocytes and keratinocytes in culture ingest hydroxyethylstarch. *Arch Dermatol Res* 1993;285:144-150.
92. Thompson WL: Hydroxyethyl Starch. *Develop Biol Standard* 1981;48:259-266.
93. Thompson WL, Fukushima T, Rutherford RB, Walton RP: Intravasale Persistenz, Gewebsspeicherung und Ausscheidung von Hydroxyäthylstärke (HÄS). *Infusionsther Klin Ernähr* 1979;6:151-155.
94. Thompson WL: Leserzuschrift zu: Lindblad G, Falk J: Konzentrationsverlauf von Hydroxyäthylstärke und Dextran in Serum und Lebergewebe von Kaninchen und die histopathologischen Folgen der Speicherung von Hydroxyäthylstärke. *Infusionsther Klin Ernähr* 1977;4:56-62.
95. Thompson WL, Fukushima T, Rutherford RB, Walton RP: Intravascular persistence, tissue storage, and excretion of hydroxyethylstarch. *Surg Gynec Obstet* 1970;131:965-972.
96. Thompson WL, Britton JJ, Walton RP: Persistence of starch derivatives and dextran when infused after hemorrhage. *J Pharmacol Exp Ther* 1962;136:125-132.
97. Waldhausen P, Kiesewetter H, Leipnitz G, Scielny J, Jung F, Bambauer R, von Blohn G: Durch Hydroxyäthylstärke induzierte passagere Niereninsuffizienz bei vorbestehender glomerulärer Schädigung. *Acta Med Austriaca* 1991;18:52-55.

98. Weidler B, von Bormann B, Sommermeyer K, Lohmann E, Peil J, Hempelmann P: Pharmakokinetische Merkmale als Kriterien für den klinischen Einsatz von Hydroxyethylstärke. *Arzneimittelforschung* 1991;41:494-498.
99. White KL Jr, Krasula RW, Munson AE, Holsapple MP: Effects of hydroxyethylstarch (Hespan), a plasma expander, on the functional activity of the reticuloendothelial system. Comparison with human serum albumin and pyran copolymer. *Drug Chem Toxicol* 1986;9:305-322.
100. Wicarkzyk C: Zum Verhalten von intravenös verabreichter Hydroxyäthylstärke im Vergleich zu Dextran. Diss. Fachbereich Humanmedizin Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt, 1981.
101. Wiedersheim M: An investigation of hydroxyethylstarch as a new plasma volume expander in animals. *Archs Int Pharmacodyn* 1957;111:353-361.
102. Yacobi A, Stoll RG, Sum CY, Lai C, Gupta SD, Hulse JD: Pharmacokinetics of hydroxyethyl starch in normal subjects. *J Clin Pharmacol* 1982;22:206-212.
103. Yoshida M, Yamashita T, Matsuo J, Kishikawa T: Enzymic degradation of hydroxyethyl starch. Part I. Influence of the distribution of hydroxyethyl groups on the enzymic degradation of hydroxyethyl starch. *Stärke* 1973;25:373-376.
104. Yoshida M, Kishikawa T: A study of hydroxyethyl starch. Part II. Degradation-sites of hydroxyethyl starch by pig pancreas α -amylase. *Stärke* 1984;36:167-169.
105. Yoshida M, Minami Y, Kishikawa T: A study of hydroxyethyl starch. Part III. Comparison of metabolic fates between 2-O-hydroxyethyl starch and 6-O-hydroxyethyl starch in rabbits. *Stärke* 1984;36:209-212.
106. Yoshida M, Nozaka T, Kishikawa T: A study of hydroxyethyl starch. Part V. Some physicochemical and biological properties of hydroxyethyl starch isolated from the blood and urine, and limit hydroxyethyl starch. *Stärke* 1984;36:269-272.

8 Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:

**„Metabolismus und Speicherung
von Hydroxyethylstärke
in der perfundierten Rattenleber“**

im Zentrum für Anaesthesiologie und Wiederbelebung, Institut für Experimentelle Anaesthesiologie, der Johann Wolfgang Goethe-Universität unter Leitung von Prof. Dr. med. H. Förster ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Medizinischen ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Mühlthal, den 07.05.98

9 Lebenslauf

02.05.1966	geboren in Frankfurt am Main
1972-1976	Pestalozzi-Schule, Kelkheim/Ts.
1976-1977	Eichendorffschule, Kelkheim/Ts.
1977-1985 11.6.1985	Georg Büchner Schule, Darmstadt, Abschluß mit dem Abitur
1985-1991	Studium der Humanmedizin an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main
25.8.1987	Ärztliche Vorprüfung
25.8.1988	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
28.8.1990	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
25.10.1991	Ärztliche Prüfung
1991-1992	Arbeiten im Zentrum für Anaesthesiologie und Wiederbelebung in der Abteilung für Experimentelle Anaesthesiologie an der Johann Wolfgang Goethe- Universität in Frankfurt am Main
1992-1994	Arzt im Praktikum im Institut für Anesthesiologie der Städtische Kliniken Darmstadt
1.6.1994	Approbation als Arzt
1994-1995	House officer im Department of Surgery im Beth Israel Medical Center in New York
1995-1997	Resident im Department of Anesthesiology im St. Vincent's Hospital in New York
seit 1997	Resident im Department of Anesthesiology im Columbia-Presbyterian Medical Center in New York

Mühlthal, den 07.05.98