

Aus dem Zentrum der Anästhesiologie und Wiederbelebung des Klinikums der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

**Hydroxyethylstärke (HES) im Urin
nach Mehrfachinfusion von HES (450/0,7)**
Physiko-chemische Veränderungen der Substanzcharakteristika
einer hochsubstituierten, hochmolekularen HES

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Vorgelegt von
Alexander Lesch
aus
Köln

Frankfurt am Main 2003

Dekan: Prof. Dr. J.Pfeilschifter

Referent: Prof. Dr. H.Förster

Korreferent: Prof. Dr. M.Sachs

Tag der mündlichen Prüfung: 04.05.2004

**Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet
und
in Gedenken an meinen Großvater**

1 EINLEITUNG	1
1.1 EINSATZ VON KOLLOIDALEN INFUSIONSLÖSUNGEN	1
1.1.1 <i>Volumentherapie</i>	1
1.1.2 <i>Hämodilution</i>	1
1.1.3 <i>Small- volume Resuscitation</i>	2
1.2. KOLLOIDALE PLASMAERSATZMITTEL	3
1.2.1 <i>Albumin</i>	3
1.2.2 <i>Gummi arabicum</i>	4
1.2.3 <i>Polyvinylpyrrolidon (PVP)</i>	4
1.2.4 <i>Dextrane</i>	4
1.2.5 <i>Gelatine</i>	6
1.2.6 <i>Hydroxyethylstärke (HES)</i>	6
1.3 CHARAKTERISIERUNG DES HES-MOLEKÜLS	6
1.3.1 <i>Struktur des HES-Moleküls</i>	6
1.3.2 <i>Substitution</i>	9
1.3.2.1 <i>molare Substitution (MS)</i>	9
1.3.2.2 <i>Substitutionsgrad (DS)</i>	9
1.3.2.3 <i>Substituentenposition</i>	9
1.3.2.4 <i>Substitutionsmuster (PS=Pattern of substitution)</i>	10
1.3.3 <i>Molekulargewicht</i>	10
1.3.3.1 <i>Gewichtsmittel der Molmassen, mittleres Molekulargewicht (Mw)</i>	10
1.3.3.2 <i>Zahlenmittel der Molmassen, Median (Mn)</i>	10
1.3.3.3 <i>Spitzenfraktion (Sf)</i>	11
1.3.3.4 <i>Bodenfraktion (Bf)</i>	11
1.3.3.5 <i>Polydispersitätsquotient (Mw/Mn)</i>	11
1.3.4 <i>HES aus Rohstoffen unterschiedlicher Herkunft</i>	11
1.3.5 <i>Nebenwirkungen der HES-Präparate</i>	12
1.4 FRAGESTELLUNG	13
2 MATERIAL UND METHODIK	15
2.1 STUDIENDESIGN	15
2.2 KLINISCH-CHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN.....	16
2.2.1 <i>Gaschromatographische HES-Bestimmung</i>	16
2.2.1.1 <i>Probenaufbereitung</i>	16
2.2.1.2 <i>Trennung der Probenmonomeren</i>	18
2.2.1.3 <i>Der Flammenionisationsdetektor</i>	19
2.2.1.4 <i>Responsefaktoren</i>	19
2.2.1.5 <i>Identifizierung der Peaks</i>	20
2.2.2 <i>Bestimmung der Molmassen von HES (Dalton)</i>	20
2.2.3 <i>Enzymatische HES-Bestimmung (mg/ml)</i>	21
2.2.4 <i>KOD (mmHg)</i>	21
2.2.5 <i>Plasmaviskosität (mPa*s)</i>	22
2.2.7 <i>Hämatokrit (%)</i>	22
2.2.8 <i>Hämoglobin (g/dl)</i>	22
2.2.9 <i>α-Amylase (U/l)</i>	23
2.2.10 <i>Harnstoff im Urin (mg/dl)</i>	23
2.2.11 <i>Biomathematische Auswertung</i>	24
3 ERGEBNISSE	25
3.1 URIN.....	25
3.1.1 <i>HES, molare Substitution (MS)</i>	25

3.1.2 HES, C2/C6- Verhältnis	26
3.1.3 C2- und C6-substituierte Monomere quantitativ im 24h Sammelurin	27
3.1.4 HES, quantitativ (g), gaschromatographische Methode	28
3.1.5 HES-Wiederfindung in Prozent der infundierten Menge	29
3.1.6 Prozentuale HES-Wiederfindung innerhalb eines Tages	30
3.1.7 HES, quantitativ (g), enzymatische Methode.....	31
3.1.8 Wiederfindung HES im Urin: GC-Methode und enzymatische Methode im Vergleich	32
3.1.9 Harnstoffausscheidung (g) im 24h Sammelurin.....	33
3.2 SERUM.....	34
3.2.1 HES-Konzentration (mg/ml), enzymatische Methode, Infusionstage.....	34
3.2.2 HES-Konzentration (mg/ml), enzymatische Methode, Folgetage 1-31.....	35
3.2.3 HES-Halbwertszeit (h) im Serum, Infusions- und Folgetage	36
3.2.4 HES, mittleres Molekulargewicht, Mw (Da), Infusionstage.....	37
3.2.5 HES, mittleres Molekulargewicht, Mw (Da), Nachfolgetage	38
3.2.6 HES, Median Mn (Da), Infusionstage	39
3.2.7 HES, Spitzenfraktion Sf 90% (Da), Infusionstage.....	40
3.2.8 HES, Bodenfraktion Bf 10% (Da), Infusionstage.....	41
3.2.9 HES, Polydispersitätsquotient (Mw/Mn), Infusionstage	42
3.2.10 α -Amylase Serum (U/l), Infusionstage.....	43
3.2.11 α -Amylase Serum (U/l), Folgetage.....	44
3.2.12 Hämoglobin im Blut (g/dl), Infusionstage	45
3.2.13 Hämoglobin im Blut (g/dl), Folgetage	46
3.2.14 Hämatokrit des Blutes (%), Infusionstage	47
3.2.15 Plasmaviskosität (mPa*s), Infusionstage	48
3.2.16 KOD des Blutes (mmHg), Infusionstage.....	49
4 DISKUSSION	50
4.1 HES IM SERUM.....	50
4.1.1 HES-Konzentration im Serum und Halbwertszeit.....	50
4.1.2 Molmassenverteilung von HES 450/0,7 im Serum.....	54
4.2 SUBSTITUTIONSCHARAKTERISTIKA DER HES IM URIN.....	59
4.2.1 Molare Substitution (MS)	59
4.2.2 C2/C6-Verhältnis	61
4.3 HES IM URIN.....	66
4.3.1 Ausgeschiedene HES-Menge im Urin	66
4.3.2 Prozentuale HES-Wiederfindung innerhalb eines Tages	67
4.3.3 Nierenschwelle von HES.....	68
4.3.4 Erfassungsdefizit von HES.....	69
4.4 SERUM A-AMYLASE (U/L)	70
4.5 HÄMOGLOBIN (G/DL) UND HÄMATOKRIT (%), SERUM.....	72
4.6 KOD (MMHG), SERUM	73
4.7 PLASMAVISKOSITÄT (MPA*S), SERUM.....	75
4.8. AUSBLICK.....	76
5. ZUSAMMENFASSUNG/ SUMMARY	78
5.1 ZUSAMMENFASSUNG.....	78
5.2 SUMMARY	80
6. LITERATURVERZEICHNIS	82
7. ABBILDUNGSVERZEICHNIS	91

8. TABELLENVERZEICHNIS	94
9. DANKSAGUNG	96
10. LEBENSLAUF.....	97
11. SCHRIFTLICHE ERKLÄRUNG.....	98

1 Einleitung

1.1 Einsatz von kolloidalen Infusionslösungen

Der Einsatz von kolloidalen Infusionslösungen ist in der klinischen Praxis weit verbreitet. Hauptindikation für Hydrokolloide ist die Volumenersatztherapie. Weiterhin nutzt man Hydrokolloide zur Verbesserung der rheologischen Eigenschaften des Blutes bei Mikrozirkulationsstörungen durch Hämodilution (Blutverdünnung).

Die zu diesem Zweck eingesetzten Präparate sollten folgende Voraussetzungen erfüllen (*Mutschler, 2001*):

- ◆ gute Volumenwirksamkeit
- ◆ ausreichende Verweildauer innerhalb des Gefäßsystems
- ◆ gute Verträglichkeit bei möglichst geringen Interaktionsraten
- ◆ keine wesentliche Erhöhung der Plasmaviskosität
- ◆ gute Steuerbarkeit, d.h. die Halbwertszeit darf nicht zu lange, aber auch nicht zu kurz sein
- ◆ Abbaubarkeit im Gewebe und/oder vollständige Elimination durch Leber und/oder Niere
- ◆ geringe Kosten

1.1.1 Volumentherapie

Um eine normale Kreislauffunktion zu gewährleisten, ist eine ausreichende Füllung des Gefäßsystems unabdingbare Voraussetzung. Kommt es zum Abfall des intravasalen Volumens, sei es durch Blutverluste oder durch Gefäßerweiterungen, nimmt der venöse Rückstrom zum Herzen ab, der Füllungsdruck der Gefäße vermindert sich. Die Folge der Verminderung des Blutvolumens ist eine Abnahme des Herzzeitvolumens. Je nach Schweregrad des Abfalls des Herzzeitvolumens kann es zu einem schweren Schock kommen.

Der alleinige Einsatz kristalloider Lösungen, wie beispielsweise von 0,9%iger NaCl oder von Ringer-Laktatlösung, ist bei schweren Volumenverlusten auf Dauer nicht ausreichend, da die intravasale Verweildauer von kristalloidem Volumenersatz zu kurz ist (*Förster, 1994*).

1.1.2 Hämodilution

Die Verdünnung der zellulären und der gelösten Bestandteile des menschlichen Blutes wird als Hämodilution bezeichnet. Der schon im Mittelalter angewendete Aderlaß führte als Folge des Blutentzuges durch den Einstrom von interstitieller und intrazellulärer Flüssigkeit in das

Gefäßsystem zu einer gewollten physiologischen Blutverdünnung, die sich innerhalb von einigen Stunden einstellt und die an einem Abfall des Hämatokrit erkennbar ist. Die durch Hämodilution verbesserte Rheologie wird bei Mikrozirkulationsstörungen, bei denen es genau in diesem Bereich zu Störungen der Blutversorgung und damit des O₂- und Nährstofftransportes kommt (*Schulze, 1991*), genutzt. Jedoch ist Vorsicht geboten, da sowohl der kolloidosmotische Druck (KOD) aufgrund der Proteinverdünnung sinkt, und zudem auch die Gerinnungsfaktoren mitverdünnt werden, was wiederum die Blutungsneigung erhöhen kann. (*Treib et al., 1999; Schulze, 1991*).

Eine Sonderform der Blutverdünnung ist die Akute normovolämische Hämodilution (ANH), bei der unmittelbar präoperativ 10-20ml/kg KG Eigenblut entnommen werden. Gleichzeitig wird eine kolloidale Volumenersatzlösung infundiert, um den normovolämischen Zustand wiederherzustellen. Dieses Verfahren bringt zwei große Vorteile mit sich. Zum einen ist der Verlust O₂-tragender Erythrozyten während der Operation geringer, da nur verdünntes Blut verloren geht, zum anderen steht auf diese Weise Patienteneigenblut zur Verfügung, welches als Ersatz für Blutverluste intraoperativ oder postoperativ reinfundiert werden kann. Aufgrund der Hämodilution kommt es zu einem Absinken der Blutviskosität mit konsekutivem Abfall der Nachlast. Über diesen Mechanismus wird das Herzzeitvolumen gesteigert (*Bormann, 1989*). Dadurch bekommen die Organe pro Zeiteinheit trotz reduzierter Sauerstoffträger mehr Sauerstoff angeboten.

Das Risiko von Infektionen durch Blutkonserven oder Transfusionszwischenfälle soll bei Verwendung von Eigenblut geringer sein (*Bormann, 1986*), wenngleich es sich hierbei eher um einen psychologischen Vorteil handelt, da der Patient zwar „eigenes Blut“ reinfundiert bekommt, eine Infektionsgefahr aber trotzdem weiterhin nicht auszuschließen ist. Ein Vorteil, dem in der heutigen Zeit der knappen Gesundheitskassen durchaus eine Relevanz zukommt, ist die Kostenersparnis, die durch die ANH gegenüber der Fremdbluttransfusion erzielt werden kann (*Goodnough, 2000*).

1.1.3 Small- volume Resuscitation

Bei der Small-volume Resuscitation handelt es sich um ein relativ neues Konzept zur schnellen Auffüllung des Gefäßsystems. Hierbei werden 4ml/kg KG einer hyperosmotischen Lösung, die aus 7,2-7,5%iger NaCl und einem Kolloid (HES oder Dextran) besteht, rasch intravenös als Bolus infundiert. Die hohe Osmolarität dieser Applikationsform bedingt eine schnelle Verschiebung von extrazellulärer Flüssigkeit in den Intravasalraum im Sinne einer

„inneren Infusion“. Das zugegebene Kolloid bindet die mobilisierte Flüssigkeit länger intravasal und sorgt somit für einen länger anhaltenden Volumeneffekt (*Kreimeier et al., 2001*).

Die durch hyperosmolare Lösungen hervorgerufene Verschiebung von Flüssigkeit nach intravasal verbietet jedoch einen Einsatz bei exsikkierten Patienten, da deren intrazellulärer Flüssigkeitsmangel dadurch nur noch weiter verstärkt werden würde.

Als weitere Indikation für die Small- volume Resuscitation wird eine Senkung des intrakraniellen Druckes im Rahmen akuter Hypovolämien in Kombination mit Schädel-Hirn-Traumen diskutiert. Bei therapierefraktärem erhöhten intrakraniellen Druck ist allerdings Vorsicht geboten. Hier verbietet sich eine Dauertherapie mit solchen hyperosmolaren Volumenersatzmitteln (*Kröll et al., 1994*).

1.2. Kolloidale Plasmaersatzmittel

Zur Herstellung der kolloidalen Plasmaersatzmittel wird eine isoosmotische kristalloide Lösung mit einer hochmolekularen, onkotisch aktiven, Substanz versehen (*Weidhase, 1999*).

1.2.1 Albumin

Albumin ist das wichtigste Protein zur Aufrechterhaltung des KOD. Dieses Protein hat ein Molekulargewicht von 66.000 Dalton (Da). Seine Plasmakonzentration beträgt 3,5-6,0g/dl bei einer Gesamteiweißkonzentration von etwa 6-8,4g/dl. Daneben hat Albumin noch weitere Aufgaben, u.a. als Transportprotein für Hormone, Enzyme und Pharmaka. Es bietet sich deshalb durchaus an, bei Volumenmangelsituationen Albumin anzuwenden.

Erstmals wurden Albuminlösungen 1941 im Laufe des 2. Weltkrieges eingesetzt, nachdem eine Separierung von Plasmaproteinen gelungen war. Die Infusion von isoliertem Albumin führte zu positiven Ergebnissen bei Menschen mit größeren Blutverlusten (*Cohn, 1941*). Derzeit sind 5%ige isoonkotische und 20%ige bzw. 25%ige hyperonkotische Lösungen von Albumin im Handel. Die Herstellung erfolgt aus gepooltem humanen Plasma durch Alkoholfraktionierung (*Mutschler, 2001*). Die auf diese Weise hergestellte Humanalbuminlösung enthält keine Antikörper und kann dementsprechend ohne vorherige Blutgruppenbestimmung infundiert werden.

Allerdings ist bei „kapillären Lecks“ Vorsicht geboten, da es zu einem vermehrten Austritt von Albumin aus dem Intravasalraum in den Extravasalraum kommen kann. Folglich erhöht sich auch der Abstrom von Plasmawasser nach extravasal. Die eigentlich erwünschte Volumenwirkung verschlechtert die Ausgangssituation infolge der unerwünschten Flüssigkeitsver-

schiebung beträchtlich. Daher ist der Einsatz von Humanalbuminlösungen schon bei bloßem Verdacht auf eine Störung der kapillären Permeabilität kontraindiziert (*von Bormann, 1993; Sibbald, 1983*).

Aufgrund der beschriebenen Nebenwirkungen und infolge des relativ hohen Preises ist von einem sofortigen Einsatz von Albumin eher abzuraten. Zum Einsatz sollte es nur noch kommen, wenn der Blutverlust mehr als 50% des zirkulierenden Blutvolumens beträgt, da dann das körpereigene Albumin ebenfalls so stark abfällt, wodurch ein Transport von Hormonen, Enzymen und Pharmaka nicht mehr sicher gewährleistet sein könnte.

1.2.2 Gummi arabicum

Gummi arabicum, ein Kolloid pflanzlicher Herkunft auf Basis von Polysacchariden, wurde erstmals 1906 in Kochsalz gelöst bei ausgebluteten Hunden experimentell mit Erfolg eingesetzt. Weitere klinische Erfolge führten zu einem gewissen klinischen Einsatz. Es kam vor allem im Ersten Weltkrieg zum Einsatz. Später, so ab 1937, verschwand es zunehmend aus der klinischen Praxis, da die Toxizität, die Antigenität und die Tendenz zur Leberzerstörung der schwer zu klassifizierenden Polysaccharide erkannt wurde (*Le Gal, 1975*).

1.2.3 Polyvinylpyrrolidon (PVP)

Polyvinylpyrrolidon ist ein Polymergemisch aus synthetischem Kunststoff, welches 1940, im 2. Weltkrieg, entwickelt wurde, in der deutschen Armee verbreitet als Plasmaersatz zum Einsatz kam und in der Literatur als Periston oder Kollidon bezeichnet wurde (*Hecht, 1943*). Polyvinylpyrrolidon kann nicht abgebaut werden, da entsprechende Enzyme nicht vorhanden sind. Infolgedessen ist die intrazelluläre Speicherung irreversibel. Daher wirkte sich bei diesem Volumenersatzmittel die in tierexperimentellen Studien festgestellte permanente Speicherung in der Niere („Kolloidonnieren“) und in Zellen des retikulo-endothelialen Systems (RES) verschiedener Organe nachteilig aus (*Heinlein, 1958*). Diesen Erkenntnissen folgend, verlor PVP bei Entwicklung von Alternativen in den 50er Jahren zunehmend an Bedeutung in der klinischen Praxis.

1.2.4 Dextrane

Dextrane sind Polysaccharide aus vorwiegend α -1,6 glykosidisch verknüpften Glucosemolekülen, die durch das Bakterium *Leuconostoc mesenteroides* durch Umlagerung aus Saccharose gewonnen werden. Dextrane unterscheiden sich in ihrer Struktur von der Stärke und dem Glykogen (mit überwiegenden α -1,4 glykosidischen Bindungen) durch flexible Bindungen im

Sinne eines Zufallsknäuel (Im Gegensatz zur Stärke und Glykogen, die starre Bindungen in baumartiger Struktur zeigen) und werden vor allem unverändert renal eliminiert (*Förster et al., 1981*). Das natürlich gebildete Rohdextran besitzt ein zu hohes Molekulargewicht, so dass die Dextranpräparate erst teilhydrolysiert werden müssen. Eine weitere Modifizierung erfolgt nicht (*Weidhase, 1999*). Diese Entdeckung machten bereits Grönwall und Ingelmann, von denen Dextran 1943 erstmalig genauer untersucht wurde, bei ihren Versuchen mit Katzen und Ratten. 1947 kam mit „Macrodex“ das erste Dextranpräparat auf den Markt (*Le Gal, 1975*).

Zur Zeit befinden sich Präparate mit einem mittleren Molekulargewicht (Mw) von 70.000, 60.000 und 40.000 Da im Handel. Dextrane haben eine ausgeprägte Volumenwirkung. Der initiale Volumeneffekt beträgt in Abhängigkeit von der Konzentration des Hydrokolloids bis zu 150% der infundierten Menge. Zudem verbessert das niedermolekulare Dextran 40 (Mw: 40.000 Da) die Mikrozirkulation durch Auflösung von Erythrozytenkonglomeraten (Sludge-Phänomen). Diese Eigenschaft nutzt man bei Mikrozirkulationsstörungen im akuten Schockgeschehen (*Mutschler, 2001*). Die Elimination erfolgt ausschließlich über die Niere, wobei die Nierenschwelle bei ca. 50.000 Da liegt (*Asskali, 1988*). Größere Moleküle müssen vorher intrazellulär im RES enzymatisch abgebaut werden.

Bei der Anwendung von Dextranpräparaten ist Vorsicht geboten, da in einigen Fällen anaphylaktoide Reaktionen beschrieben wurden. Die Angabe der Häufigkeiten schwankt in der Literatur. Demzufolge lagen sie zwischen 0,03-4,7% für leichtere Abwehrreaktionen (Typ I und II) und bei 0,008-0,6% für schwere Zwischenfälle vom Typ III und IV (*Schulze, 1991*). Pathophysiologisch ist von einer Kreuzreaktion zwischen Dextran und in Zahnplaques gebildeten präformierten Antikörpern auszugehen (*Hedin, 1976*). Die Schwere der anaphylaktischen Reaktion hängt dabei von der Menge sensibilisierender Antikörper, der applizierten Dextranmenge und vom Molekulargewicht ab (*Richter et al., 1980*). Um die Gefahr anaphylaktischer Reaktionen herabzusetzen sollte unmittelbar vor der eigentlichen Dextraninfusion niedermolekulares Dextran1 infundiert werden, welches Hapten mit einem Molekulargewicht von 1.000 Da darstellt. Durch Bindung des Haptens an die Antigenbindungsstellen eventuell vorhandener Antikörper, soll die Bildung hochmolekularer Komplexe verhindert werden und damit der Entstehung schwerer anaphylaktoider Reaktionen vorgebeugt werden. Zu beachten ist dabei, dass vor jeder Dextraninfusion das Hapten erneut appliziert werden muss, wenn mehr als 48 h zwischen zwei aufeinanderfolgenden Infusionen liegen (*Schulze, 1991*).

1.2.5 Gelatine

Gelatinelösungen sind Polypeptidgemische mit einem mittleren Molekulargewicht von 30.000-35.000 Dalton. Die ersten klinischen Studien mit Gelatine fanden 1915 statt, wobei ein ausgedehnterer Einsatz dieser Lösungen sich anfangs nicht durchsetzen konnte, da zum einen in dieser Zeit der Einsatz von Gummi arabicum sehr weit verbreitet war und zum anderen die Kontamination der Gelatine mit Tetanus und *Bacillus anthracis* befürchtete wurde (*Le Gal, 1975*). Erst während des 2. Weltkrieges wurde die Gelatine als Volumenersatzlösung wiederentdeckt.

Zur Zeit gibt es drei verschiedene Varianten im Handel

- 1.) Modifizierte Flüssiggelatine
- 2.) Oxypolygelatine
- 3.) Harnstoffvernetzte Gelatine

Durch den Proteincharakter dieser Substanzen erklärt sich auch die vorhandene Antigenität, die wiederum zu anaphylaktischen Reaktionen führen kann. Die Häufigkeit anaphylaktischer Reaktionen liegt bei etwa 0,273% (*Laxenaire, 1994*). Höhermolekulare Gelatinelösungen „gelatinieren“ rasch, weshalb nur mittelmolekulare Präparate eingesetzt werden können. Der Großteil der Gelatine wird daher relativ schnell renal eliminiert, ein geringer Teil wird über den Darm ausgeschieden. Im Vergleich zu den Dextranen ist die intravasale Verweildauer und somit der Volumeneffekt deutlich geringer ausgeprägt (*Weidhase, 1999*).

1.2.6 Hydroxyethylstärke (HES)

Die derzeit in Deutschland gebräuchlichsten kolloidalen Infusionslösungen zur Therapie des Volumenmangels gehören zur Gruppe der Stärkederivate (*Weidler, 1989*). Weitere Indikationen für den Einsatz von Hydroxyethylstärkelösungen sind die periphere arterielle Verschlusskrankheit, pAVK (*Kiesewetter et al. 1987*), cerebraler Insult (*Haaf, 1989*), plazentare und otogene Durchblutungsstörungen (*Heilmann et al., 1991; Desloovere et al., 1988*).

1.3 Charakterisierung des HES-Moleküls

1.3.1 Struktur des HES-Moleküls

Hydroxyethylstärke ist ein Derivat des Amylopektins, der hochverzweigten Komponente der Stärke. Amylopektin macht etwa 95% der Wachsmaisstärke aus, die restlichen 5% entfallen auf die lineare Amylose, die ausschließlich α -1,4 glykosidisch verknüpfte Glucosemoleküle

enthält. Amylopektin ist ein aus ebenfalls α -1,4 glykosidisch verknüpften Glucosemolekülen aufgebautes verzweigtes Glucosepolymer mit 1,6 glykosidischen Verzweigungsstellen, das in seiner Struktur der tierischen und menschlichen Kohlenhydratspeichersubstanz Glykogen ähnelt (Förster und Asskali, 1998). Durch die α -1,4 glykosidische Verknüpfung ist die Grundstruktur des Amylopektins im Vergleich zur α -1,6 glykosidischen Bindung der Dextrane relativ starr. In wässriger Lösung bilden sich aufgrund der α -1,4 glykosidischen Bindungen helikale Strukturen, die sog. Wendeltreppenstrukturen, aus. Das Gesamtmolekül des Amylopektins zeigt eine baumförmige Struktur mit flexiblen „Ästen“.

Native Stärke ist aufgrund von intermolekularen und intramolekularen Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Glucoseresten der Amylopektinmoleküle schlecht wasserlöslich und neigt zur „Verkleisterung“ (Förster, 1988). Damit wäre das Polysaccharid für eine Infusionslösung ungeeignet. Um die Wasserlöslichkeit zu erhöhen wurden durch chemische Verfahren kurze Seitenketten mit Hydroxyethylgruppen eingeführt, das Amylopektinmolekül muss also substituiert werden. Die hydroxylierten Ethylgruppen wirken als Störstellen, um die vorgeannten Wechselwirkungen zu verhindern. Ergebnis dieser Substitution ist ein HES-Molekül, das eine wesentlich höhere Wasserbindungskapazität aufweist, wobei sich das Wasser im Inneren des Stärkemoleküls anlagert und so zu einer Aufspreizung des Gesamtmoleküls führt (Förster, 1997).

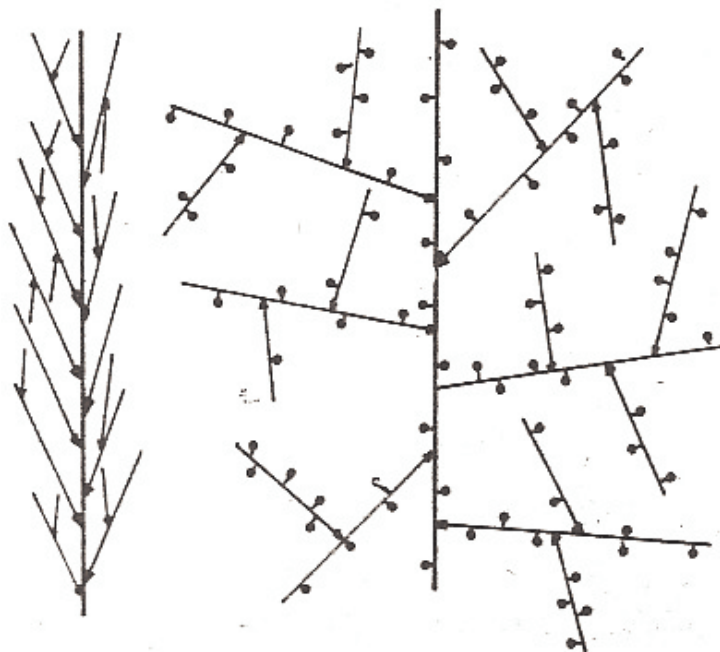
**Amylopektin****Hydroxyethylstärke**

Abbildung 1.1: Wirkung der Substitution auf das Verhalten von Stärke (Förster, 1988)

Ein weiterer durch die Substitution erzielter Effekt ist die Behinderung des HES Abbaus durch die α -Amylase sowie durch Phagozytose und die damit verlängerte Verweildauer im Blut (Fömmel, 1994). Nach Einführung von HES 1974 in Deutschland (als HES 450/0,7) wurden im Lauf der Zeit weitere Präparate auf HES Basis entwickelt. Dementsprechend gibt es zur Zeit eine Vielzahl von HES Lösungen auf dem Arzneimittelmarkt, z.B. HES 200/0,5; HES 70/0,5; HES 450/0,7; HES 200/0,62. Eine Neuentwicklung ist HES 130/0,4 mit einer sehr kurzen Halbwertszeit (Langeron et al., 2001). Im deutschsprachigen Europa wird klinisch vor allem HES 200/0,5 eingesetzt, während im angelsächsischen Raum bevorzugt und in den USA noch immer ausschließlich die hochsubstituierte, hochmolekulare HES 450/0,7 verwendet wird (Treib et al., 1999).

Präparat	Deklaration nach Roter Liste	Mittleres Molekulargewicht	Substitutionsgrad
Expafusin®	70/0,5 –0,55 6%	70000	0,5-0,55
Expafusin ®sine	70/0,5-0,55 6%	70000	0,5-0,55
Haemofusin® 6%	200/0,5 6%	200000	0,5
Haemofusin® 10%	200/0,5 10%	200000	0,5
HAES-Rheopond 70	70/0,5-0,55	70000	0,5-0,55
HAES-steril® 3%	200/0,5 3%	200000	0,5
HAES-steril® 6%	200/0,5 6%	200000	0,5
HAES-steril® 10%	200/0,5 10%	200000	0,5
Hemohes® 6%	200/0,45-0,55 6%	200000	0,45-0,55
Hemohes® 10%	200/0,45-0,55 10%	200000	0,45-0,55
Infukoll® HES 6%	200/0,45-0,55 6%	200000	0,45-0,55
Infukoll® HES 10%	200/0,45-0,55 10%	200000	0,45-0,55
Plasmafusin® HES 450	450/0,7 6%	450000	0,7
Plasmasteril®	450/0,7 6%	450000	0,7
Rheohes®	70/0,5-0,55 6%	70000	0,5-0,55
Serag-HAES 6%	200/0,5 6%	200000	0,5
Serag-HAES 10%	200/0,5 6%	200000	0,5
Voluven®	130/0,4 6%	130000	0,4

Tabelle 1.1: Handelsübliche HES-Präparate nach Roter Liste 2003

Die Unterschiede zwischen den einzelnen Präparaten betreffen wie nachfolgend beschrieben das Molekulargewicht, den Polydispersitätsquotienten, die molare Substitution, den Substitutionsgrad, die Substituentenposition, das Substitutionsmuster und den Basisrohstoff der HES-Lösung.

1.3.2 Substitution

1.3.2.1 molare Substitution (MS)

Die molare Substitution (MS) stellt die Gesamtzahl der Hydroxyethylgruppen der Gesamtzahl der Glucosemoleküle gegenüber. Durch Mehrfachsubstitution der Glucosebausteine im Stärkemolekül kann der MS dabei im Extremfall Werte deutlich über 1 annehmen.

1.3.2.2 Substitutionsgrad (DS)

Etwas anders verhält es sich mit dem Substitutionsgrad, Degree of Substitution. Hierunter ist das Verhältnis von substituierten Glucosemolekülen zur Gesamtzahl von Glucosemolekülen zu verstehen. Eine eventuell vorliegende Mehrfachsubstitution hat dabei keine Bedeutung. Der DS kann somit maximal 1 betragen, d.h. jedes der im HES-Molekül vorkommenden Glucosemoleküle ist mit mindestens einer Hydroxyethylgruppe versehen. Aus den beiden obigen Definitionen ergibt sich, dass beim Vorliegen von Mehrfachsubstitution der MS in der Regel größer ist, als der DS. Liegt jedoch lediglich Monosubstitution vor, wären sowohl MS und DS gleich groß (*Fömmel, 1994; Förster, 1997b*).

1.3.2.3 Substituentenposition

Angriffsstellen für die einzufügenden Hydroxyethylgruppen können die C-Atome 2 ; 3 ; 6 der glykosidisch verbundenen Glucosemoleküle sein. In der Substitution bevorzugt erscheinen die C-Atome 2 und 6, während dem C-Atom 3 eine eher zu vernachlässigende Bedeutung beigemessen wird (*Förster und Asskali, 1998*). Ein Teil der C6-Atome fällt durch die Kettenverzweigungen des Amylopektinmoleküls weg.

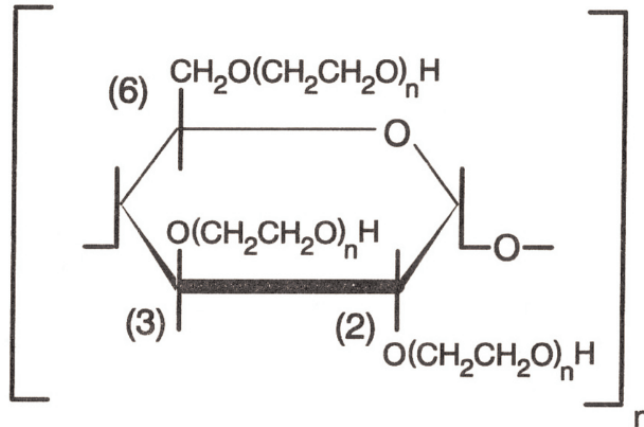


Abbildung 1.2: Mögliche Substituentenpositionen (Fömmel, 1994)

1.3.2.4 Substitutionsmuster (PS=Pattern of substitution)

Eine Möglichkeit das HES-Polymer zu charakterisieren besteht in der Betrachtung des Substitutionsmusters. Hierbei werden Quotienten der unterschiedlich substituierten Glucosemoleküle der HES gebildet. Dies geschieht durch gaschromatographische quantitative Bestimmung der einzelnen substituierten und unsubstituierten Glucosemoleküle nach vollständiger Hydrolyse. Der gängigen Literatur zufolge soll der Substituentenposition an C2 und an C6 eine für den Abbau von HES entscheidende Bedeutung zukommen (*Weidhase, 1998*). Hieraus hat sich allgemein der Begriff des C2/C6-Verhältnisses oder des C2/C6-Quotienten entwickelt, der in der Literatur fälschlicherweise oftmals schon an sich als PS bezeichnet wird (*Weidhase, 1998*). Ein C2/C6-Quotient von 8 bezeichnet den Grenzbereich für die Annahme eines hohen Substitutionsverhältnisses (*Förster und Asskali, 1998*).

1.3.3 Molekulargewicht

1.3.3.1 Gewichtsmittel der Molmassen, mittleres Molekulargewicht (M_w)

M_w bezeichnet das mittlere Molekulargewicht, welches man erhält, indem das Gesamtmolekulargewicht durch die Gesamtteilchenanzahl geteilt wird. Man erhält hierbei das rechnerische Gewichtsmittel der Molmassenverteilung. Die Angabe des M_w erfolgt in Dalton (Da).

1.3.3.2 Zahlenmittel der Molmassen, Median (M_n)

Da das Polymergemisch einer HES aus vielen verschiedenen Molekülen der unterschiedlichsten Molekulargewichte besteht und das rechnerische Gewichtsmittel

Mw lediglich die durchschnittliche Größe der Moleküle näher bezeichnet, nichts jedoch über die zahlenmäßige Verteilung der verschiedenen Molekülgrößen aussagt, wird ein weiterer Parameter zur näheren Bestimmung der HES benötigt.

Das Zahlenmittel, Mn, auch als Median (mittlerer Wert) bezeichnet, liefert diese weitere spezifizierende Größe. Er gibt an, dass 50% der Teilchen größer und 50% der Teilchen kleiner sind als diese Meßgröße (*Förster, 1997*).

1.3.3.3 Spitzenfraktion (Sf)

Die Spitzenfraktion (Sf 90%) bezeichnet das Molekulargewicht, bei dem 90% der Moleküle kleiner und nur 10% größer sind.

1.3.3.4 Bodenfraktion (Bf)

Die Bodenfraktion (Bf 10%) bezieht sich auf das Molekulargewicht, bei dem 10% der Moleküle kleiner und 90% größer sind.

1.3.3.5 Polydispersitätsquotient (Mw/Mn)

Der Polydispersitätsquotient bezeichnet den Quotienten aus Mw/Mn. Er kennzeichnet die Breite der Molekulargewichtsverteilung und stellt ein Maß für die Güte der hergestellten HES-Lösung dar. Je näher dieser Quotient sich dem Zahlenwert 1 nähert, desto enger liegen Mw und Mn zusammen (*Sommermeier et al., 1987; Förster und Asskali, 1998*).

1.3.4 HES aus Rohstoffen unterschiedlicher Herkunft

Zusätzlich zu den bisher auf dem Markt befindlichen HES-Präparaten, die auf Wachsmaisstärke beruhen, wurden in neuerer Zeit zusätzlich HES-Lösungen angeboten, die auf der Basis von Kartoffelstärke hergestellt wurden. Die beiden Rohstoffe (Maisstärke und Kartoffelstärke) unterscheiden sich vor allem im unterschiedlichen Gehalt der beiden Stärkebestandteile Amylopektin und Amylose. In der Wachsmaisstärke findet man etwa 95% Amylopektin und 5% Amylose, während in der Kartoffelstärke ein Verhältnis von 80% Amylopektin zu 20% Amylose vorliegt (*Pöhlmann, 1998*). Signifikante pharmakokinetische und pharmakodynamische, damit auch klinisch relevante Unterschiede, konnten bisher nicht gefunden werden (*Asskali und Förster; 1997*). Es ist davon auszugehen, dass Amylose und substituierte Amylose während der Herstellung entfernt werden.

1.3.5 Nebenwirkungen der HES-Präparate

Durch die strukturelle Ähnlichkeit der Hydroxyethylstärke mit dem körpereigenen Glykogen kann es nur in ganz seltenen Fällen zu allergischen Reaktionen nach HES-Infusion kommen. Bezeichnend hierfür ist das bislang nicht nachgewiesene Vorkommen präformierter Antikörper gegen HES im menschlichen Serum (*Dieterich et al., 1998*). Die Inzidenz schwerer (Grad III und IV), gesicherter auf HES-Infusion beruhender anaphylaktischer Zwischenfälle, beträgt 0,016%. Unabhängig vom Schweregrad, also leichte und schwere anaphylaktoide Zwischenfälle betreffend, muss von einer Gesamtinzidenz von etwa 0,058% ausgegangen werden (*Laxenaire, 1994*). Die heute kaum noch nachgewiesenen Nebenwirkungen werden mutmaßlich durch Verunreinigungen hervorgerufen.

Als wichtige Nebenwirkung wurde persistierender Pruritus nach hohen Dosen von HES beobachtet, der vor allem im Rahmen der Behandlung von Erkrankungen aus dem HNO-Bereich auftrat (*Weidhase et al., 1998*). Als Ursache für diese teilweise sehr unangenehme und die Patientencompliance beeinträchtigende Nebenwirkung wird die Speicherung von HES in den Zellen des Endo-, Perineuriums und den Schwann-Zellen verantwortlich gemacht (*Ständer et al., 2001*). Dabei ist von einer Dosisabhängigkeit auszugehen (*Kimme et al., 2001*).

Eine weitere nicht zu unterschätzende Nebenwirkung ist die schlechte Mobilisierbarkeit von interstitiellen Ödemen. In einer 1985 vorgestellten Studie kam es bei der Behandlung von schwerstverbrannten Patienten mit HES 450/0,7 zu einer vermehrten Wassereinlagerung im Interstitium, die nur schwer mobilisiert und ausgeschieden werden konnte. Als Ursache wurde die Verschiebung der Kolloide nach extravasal mit nachfolgender Wasserretention angenommen (*Steen, 1985*). Diese Nebenwirkung wäre, wie auch bei Albumin, die Folge eines kapillären Lecks.

Die Auswirkungen einer HES-Therapie auf die Blutgerinnung sind Gegenstand intensiver Diskussionen. Hierbei muss zwischen Beeinflussung der plasmatischen und der plättchenabhängigen Gerinnung unterschieden werden. Vor allem aus den USA liegen verschiedene Berichte über schwerwiegende Blutungskomplikationen, teils mit letalem Ausgang, nach HES-Infusion vor (*Chang et al., 1990; Trumble et al., 1995*). Zu beachten ist jedoch, dass in den USA die hochmolekulare, hochsubstituierte HES 480/0,7 (Hetastarch) als einzige HES zur Volumenersatztherapie zugelassen ist (*Treib et al., 1999*). Verschiedene europäische Studien konnten die Ergebnisse aus den USA ebenfalls bestätigen. So wurde gezeigt, dass eine hochsubstituierte HES die Plättchenfunktion stärker hemmt als eine niedrigsubstituierte HES. Für diese Beeinträchtigung der Plättchenfunktion soll eine verminderte Verfügbarkeit des GP IIb/IIIa- Rezeptors auf der Thrombozytenoberfläche ursächlich sein, mit konsekutiver verrin-

gerter Interaktion mit Fibrinogen und von-Willebrand-Faktor (*Franz et al., 2001; Boldt et al., 1993*). Der Einfluss einer gleichzeitig beobachteten Verringerung des Plättchenvolumens auf die Plättchenfunktion konnte (als Folge einer Thrombozytenschrumpfung aufgrund eines erhöhten kolloidosmotischen Druckes) als nur gering eingestuft werden. Zusätzlich zur Störung der Thrombozytenfunktion kommt es zu einer Verminderung der plasmatischen Gerinnung, die über den Verdünnungseffekt hinausgeht (*Treib et al., 1997b*). So kam es nach täglicher Infusion von 500ml HES 200/0,62 über einen Zeitraum von 10 Tagen zu einer Verringerung des Hämatokrits und der Fibrinogenkonzentration zwischen 22-29 %. Die Faktor VIII: C – Konzentration verringerte sich allerdings um etwa 70%. Die partielle Thromboplastinzeit (pTT) verlängerte sich um 43%. Für diesen über die Hämodilution hinausgehenden Effekt soll eine Komplexbildung zwischen den HES-Molekülen und Faktor VIII/vWF mit nachfolgend beschleunigter Eliminierung dieses Gesamtkomplexes verantwortlich sein. Folglich gehen diese komplexgebundenen Gerinnungsfaktoren der physiologischen Gerinnungskaskade verloren (*Warren und Durieux, 1997*). Eine zusätzliche negative Beeinträchtigung des Gerinnungssystems resultiert aus der Verringerung der Faktoren XI und XII, die ebenfalls über den Hämodilutionseffekt hinausging (*Treib et al., 1997a*). Folglich ist die Störung der Gerinnungskaskade durch HES an mehreren Punkten nachweisbar, wobei diese Beeinträchtigung schon auf Stufe der primären Blutstillung (auf thrombozytärer Ebene) einsetzt. Diese weitreichenden, durchaus bedrohlichen, Effekte konnten vor allem nach Infusion der höher substituierten HES-Lösungen nachgewiesen werden (*Felfernig et al., 2003*). Der aktuellen Studienlage wie vorangehend beschrieben folgend, gehen die Empfehlungen zur Volumentherapie eher in Richtung der niedermolekularen bis mittelmolekularen sowie mittelsubstituierten HES-Lösungen. Trotzdem bleibt festzuhalten, dass bei Überschreiten der gängigen Dosierungsempfehlungen mit klinisch bedeutsamen Blutgerinnungsstörungen, unabhängig vom eingesetzten HES-Präparat, aufgrund von Überinfusion mit konsekutiver Verdünnung der Gerinnungsfaktoren gerechnet werden muss (*Förster und Asskali, 1999*).

1.4 Fragestellung

Die obigen Ausführungen lassen es erforderlich erscheinen, die vielen verschiedenen auf dem weltweiten Markt befindlichen Hydroxyethylstärken genauer zu charakterisieren. Jede dieser hinsichtlich Mw und MS unterschiedlichen Substanzen hat ihre eigenen physikochemischen Eigenschaften und demzufolge eine andere Charakteristik bezüglich des Metabolismus und Elimination. Die Folge dieser physikalisch-chemischen Unterschiede sind die oben angespro-

chenen Auswirkungen auf Gerinnung und auf die Speicherung der Hydroxyethylstärke im Körper. Ziel dieser Arbeit sollte die Untersuchung der durch hochsubstituierte, hochmolekulare HES (HES 450/0,7) hervorgerufenen Veränderungen anhand eines auch in Deutschland verfügbaren Präparates (Plasmasteril®) sein.

Dabei kamen zur Charakterisierung von HES drei verschiedene Methoden zur Anwendung:

- 1.) Gaschromatographische HES-Analyse im Urin
- 2.) Flüssigchromatographische (HPLC) Analyse der HES-Molmassenverteilung im Serum.
- 3.) Enzymatische Bestimmung der HES-Konzentration im Serum und im Urin

Die mit obigen Methoden gemessenen „In-vivo“ Veränderungen der infundierten HES bei Probanden lassen Rückschlüsse auf die Bedeutung der einzelnen Substanzcharakteristika bezüglich des HES-Metabolismus, bzw. der HES-Elimination zu. Die Gewichtung der molaren Substitution, des Molekulargewichtes und des Substitutionsmusters sollte besonders herausgearbeitet werden, da nach bisherigen Erkenntnissen diesen HES-Charakteristika eine überragende Bedeutung für die Metabolisierung und Elimination zukommt.

2 Material und Methodik

2.1 Studiendesign

Die zu untersuchenden Blut- und Urinproben wurden im Rahmen einer prospektiven klinischen Studie der Phase IV gewonnen. Dabei wurde 5 gesunden, männlichen Probanden an fünf aufeinanderfolgenden Tagen jeweils 466ml einer 6%igen HES 450/0,7 Lösung (Plasmasteril®, Charge: 1504) konstant über 4 Stunden infundiert. Die Tagesdosis der applizierten HES-Menge betrug dabei 28g und die Gesamtmenge 140g. Die vorher schriftlich eingeholte Zustimmung der Ethikkommission und die Einverständniserklärung der Probanden lagen vor.

n= 5	Median	Spannweite
Alter [Jahren]	27	25-30
Größe [cm]	181	180-182
Gewicht [kg]	74	65-81

Tabelle 2.1: Probandendaten der Studie PS0897

In der Zeit vom Vorabend der Infusion (ab 22:00 Uhr) bis vier Stunden nach Infusionsende sollte keine Nahrungsaufnahme mehr stattfinden. Ausgenommen hiervon waren 500ml Mineralwasser, die vom Zeitplan unabhängig eingenommen werden konnten. Diese Nüchternphase galt für alle fünf Infusionstage. Außerhalb dieser Zeiten wurde die Nahrungsaufnahme und das Trinkverhalten nicht weiter vorgegeben.

Täglicher Versuchsbeginn war morgens zwischen 6:00 und 7:00 Uhr.

Nach dem Einführen einer Venenverweilkanüle (18G) am Unterarm und Entnahme einer Blutprobe wurde die Infusion gestartet. Zur kontinuierlichen Infusion (500ml/4h) wurde ein Infusomat®fm (Fa. Braun Melsungen AG) benutzt. Die während der Infusion erforderlichen Blutentnahmen wurden mittels eines Einmalpunktionsbesteckes Venofix® (Fa. Braun Melsungen AG) am kontralateralen Arm durchgeführt. Nach Infusionsende konnte die Blutentnahme über die liegende Venenverweilkanüle entnommen werden. Die ersten 5ml einer jeden Entnahme wurden verworfen. Zwischen den einzelnen Entnahmen wurde die Venenverweilkanüle mittels eines Mandrins verschlossen. Insgesamt wurden pro Tag 11 Blutentnahmen vorgenommen, wobei die entnommene Blutmenge zwischen 10-15ml lag. An den 10 Nachfolgetagen sowie am 20. und 31. Nachfolgetag wurden ebenfalls morgens jeweils 15ml Blut entnommen.

Abnahmenr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Zeit (min)	0	30	60	120	240	+15	+30	+60	+120	+240	+420
Zeit während der Infusion						Zeit nach der Infusion					

Tabelle 2.2: Blutentnahmeschema der Infusionstage (Tage 1-5)

Die Probandenurine wurden jeweils über 24h gesammelt und die gewonnene Menge notiert. An den Infusionstagen wurden morgens, vor der 1. Infusion, und 4h nach Infusionsende jeweils 40ml Urin entnommen und eingefroren.

An den 10 Nachfolgetagen erfolgten Blutentnahme und Abgabe des 24h Sammelurins morgens in der Zeit zwischen 7:30 und 9:00 Uhr.

2.2 Klinisch-chemische Untersuchungen

Es kamen verschiedene klinisch-chemische Untersuchungen bei der Auswertung der gesammelten Urin- und Serumproben zum Einsatz. Eine nähere Beschreibung der genutzten Verfahren zur Ermittlung der relevanten Daten erfolgt untenstehend.

Urine wurden nur an den Infusionstagen und den Nachfolgetagen 1 bis 3 dargestellt, da der Zielparameter HES danach unterhalb der Nachweisgrenze von 0,5mg/ml lag.

2.2.1 Gaschromatographische HES-Bestimmung

Mit Hilfe der gaschromatographischen Analyse konnte die HES-Fraktion im Urin genauer untersucht werden. Aufgrund dieser Methodik ist eine Bestimmung der molekularen Substitution, der Substituentenposition, der Monomerensumme, der Summe der disubstituierten Glucosemoleküle und des C2/C6-Verhältnisses möglich. Der Versuchsablauf folgte der von Fömmel (1994) entwickelten Methodik.

2.2.1.1 Probenaufbereitung

Zur Überprüfung des analytischen Verfahrens und der Genauigkeit von Tag zu Tag wurde vor jedem neuen Analysegang ein Xylit-Leerwert und je zwei HES-Standards (HES 450/0,7; je 6mg/ml) mitbestimmt. Die während der Studie gewonnenen Probandenurine wurden aufgetaut, auf dem Rüttler gemischt und anschließend zentrifugiert. Probandenurine, bei denen sich während der enzymatischen HES-Bestimmung Urinkonzentrationen größer als 10mg/ml ergaben wurden mit Aqua dest. 1:3 verdünnt. Um die gaschromatographische Analytik störende Substanzen zu entfernen wurde eine Enteiweißung mit 28%iger Trichloressigsäure (TCA) durchgeführt.

Probandenurin	100µl
Trichloressigsäure (TCA) 28%	500µl
<p>Auf dem Rüttler mischen. Zentrifugation bei 10000U/min für 10min. Den Überstand in Pyrexröhrchen umfüllen.</p>	
Aceton	9ml
<p>Im Pyrexröhrchen mischen. 50 Minuten ins Eisbad stellen. Zentrifugation bei 0°C und 3300U/min für 50min. Überstand abkippen und verbleibenden Rest als Probe einsetzen. Bestimmung von Doppelwerten.</p>	
Probe	100µl
Xylit (interner Standard)	100µl
HCl 2N	500µl
<p>Gründlich mischen. Hydrolyse im Kochbad bei 100°C für 60min. Proben abkühlen lassen und Neutralisation.</p>	
Triethanolaminpuffer	100µl
NaOH 2N	485µl
<p>Gründlich mischen. Proben dürfen nicht zu basisch werden, da die HES- Monomere dadurch teilweise zerstört werden. Bei Modifikationen ist darauf zu achten, dass der ph-Wert im neutralen oder leicht sauren Milieu liegt. Proben über Nacht in der Gefriertrocknungsanlage trocknen.</p>	
Pyridin	1000µl
<p>Gründlich mischen. Proben danach auf dem Heizblock bei 70°C für 10min in Lösung bringen.</p>	
BSTFA	100µl
<p>Gründlich mischen. Proben für 2h bei 60°C derivatisieren. Alle 30min Proben auf dem Rüttler vermischen, um eine bessere Lösung aus den NaCl-Kristallen zu erreichen. Abblasen des Reagenzienüberschusses bei leichtem Erwärmen (50°C) unter Zufuhr von Stickstoff unter dem Abzug. Zum trockenen Rückstand Acetonzugabe.</p>	
Aceton (wasserfrei)	250µl
<p>Gründlich mischen. Zentrifugation mit 4000 U/min für 30min. Klaren Überstand in 300µl Probengebervials umpipettieren. Zentrifugation mit 4000 U/min für 30min.</p>	

Tabelle 2.3: Anleitung zur Aufbereitung der HES-Proben für die gaschromatographische Analyse

Die wiederholte Zentrifugation sollte eine schnelle Auskristallisation der Proben im Autosampler während der laufenden gaschromatographischen Analyse verhindern. Nach Umfüllen der zentrifugierten Proben in neue Probengebervials und luftdichtem Verschluss erfolgte die Platzierung der nun fertig aufbereiteten Proben im Probensteller des Autosamplers, wo sie während der Analyse bei 4-8°C gelagert wurden.

Geräte:	
Gefriertrocknungsanlage	LYOVAC GT2, Fa.Amsco Finn Aqua
Ölvakuumpumpe	Univac D08, Fa. Unielectric
Heizblock	Driblock DB3, Fa. Techne
Probenkonzentrator	Sample Concentrator, Fa. Techne
Rüttler	REAX 2000, Fa. Heidolph
Zentrifuge für Eppendorfcups	3 MK, Fa. Sigma
Zentrifuge für Pyrexröhrchen und Vials	Rotax/ RP, Fa. Hettich
Chemikalien:	
Aceton (wasserfrei)	Fa. Merck
BSTFA (N,O-bis-Trimethylsilyl-trifluoracetamid)	Fa. Macherey/ Nagel
HCl (Salzsäure) 2N	Fa. AppliChem
NaOH (Natronlauge) 2N	Fa. AppliChem
Pyridin getrocknet über KOH	Fa. AppliChem
TCA 28% (Trichloressigsäure)	Fa. AppliChem
Triethanolaminhydrochlorid (für Puffer)	Fa. Boehringer Mannheim
Xylit (interner Standard)	Fa. Merck

Tabelle 2.4: Verwendete Geräte u. Materialien für die gaschromatographische HES-Probenaufbereitung

2.2.1.2 Trennung der Probenmonomeren

Nach dem Einspritzen der Probe durch den Autosampler verdampfte diese im Injektor, bei einer für diese Substanz spezifischen Temperatur von 220°C. Ein Teil des Probenpfropfes wurde zur Trennung weitertransportiert. Die Trennung der substituierten Glucosemonomere erfolgte durch eine Kapillarsäule in deren Verlauf die durch ein Trägergas transportierten Moleküle je nach Struktur aufgetrennt wurden. Die Auftrennung der Probenmonomere bewirkte eine zeitliche Trennung der Monomere, je nach Größe und räumlicher Struktur. Durch diese zeitliche Trennung gelangten chemisch gleiche Monomere zur gleichen Zeit in den nachfolgend beschriebenen Flammenionisationsdetektor. Die Flussgeschwindigkeit des Trägergases wurde konstant bei 1 ml/min gehalten.

2.2.1.3 Der Flammenionisationsdetektor

Mit dem Flammenionisationsdetektor wurde die durch die Kapillarsäule qualitativ getrennten Glucosemonomere durch eine Wasserstoffflamme bei 320°C vollständig ionisiert. Die Leitfähigkeit der Flamme kann nun mit Hilfe von zwei Elektroden gemessen werden. Dieses Verfahren eignet sich in diesem Fall zur Bestimmung von C-C bzw. C-H Bindungen. Werden bei der Verbrennung einer in den Detektor gelangten Substanz Ionen freigesetzt, nimmt die Leitfähigkeit der Flamme zu, d.h. zwischen dem Kollektor (Anode) und der Flammenspitze (Kathode) bildet sich ein elektrischer Strom aus, der proportional zur absoluten Masse der jeweiligen Substanz ist. Dies bedeutet wiederum, dass je mehr C-C und C-H im Molekül vorhanden sind, das Detektorsignal stärker wird (*Gottwald, 1995*). Fließt lediglich das Trägergas durch den Detektor, entstehen keine ionisierten Spaltprodukte und die Leitfähigkeit ist praktisch Null.

Gerät	HP 5890 A Serie II		
Detektor	Flammenionisationsdetektor		
Säule	HP Ultra 2 (Crosslinked 5% PH ME Siloxane)		
Temperaturprogramm	Injektortemperatur		220°C
	Detektortemperatur		320°C
	Initial temp.		185°C
	Initial time		2,00 min
	Level 1	Rate: 2,00 °C/min	Final temp.: 230°C
	Level 2	Rate: 1,80 °C/min	Final temp.: 255°C
Programmdauer	38 min		
Trägergas	Stickstoff 5.0		
Make-up-Gas	Stickstoff 5.0		
Probengeber	HP 7673 A		
Splitverhältnis	1:40		

Tabelle 2.5: Arbeitseinstellungen des Gaschromatographen für die HES-Analytik

2.2.1.4 Responsefaktoren

Da jedoch gleiche Mengen verschiedener Substanzen aufgrund unterschiedlicher Detektorempfindlichkeit nicht auch gleiche Peakflächen in den Chromatogrammen liefern, musste für jede zu bestimmende Verbindung ein Korrekturfaktor (Responsefaktor) zur Berechnung der Konzentration aus den Peakflächen der erhaltenen Chromatogramme herangezogen werden (*Fömmel, 1994*). Hierfür wurden definierte Standardsubstanzen benötigt. Diese lagen für wasserfreie Glucose und die einfach substituierten HES-Moleküle wie 2-Hydroxyethylglucose (2-HEG), 3-HEG und 6-HEG vor. Durch erstellte Konzentrationsreihen konnten die erhaltenen Peakflächen der Standardsubstanzen mit der des internen Standards Xylit verglichen und in Relation dazu gesetzt werden. Standards für die di- und trisubstituierten HEG's standen nicht

zur Verfügung. Für diese Moleküle wurde der höchste Responsefaktor der einfach substituierten HES-Moleküle herangezogen (*Fömmel, 1994*).

2.2.1.5 Identifizierung der Peaks

Aus den nach gaschromatographischer Bearbeitung erhaltenen Chromatogrammen der Standardsubstanzen (Glucose, 2-HEG; 3-HEG; 6-HEG), bezogen auf Xylit als internen Standard, konnten die relativen Retentionszeiten ermittelt werden (*Fömmel, 1994*).

Die Identifizierung der Peaks erfolgte dann mit Hilfe der relativen Retentionszeiten (RRT), wobei die neu ermittelten Retentionszeiten und die Responsefaktoren mit denen der von Fömmel 1994 entwickelten Methode verglichen und den aktuellen Arbeitsbedingungen des Gaschromatographen angeglichen wurden.

Errechnet wurden die Peakflächen von dem Programm „HP 3365 ChemStation A.02.01.“. Die erhaltenen Werte konnten dann in eigens für diesen Zweck erstellte Microsoft® Excel 8.0 Datenmaske eingegeben werden, woraufhin die Peakflächen in Konzentrationen umgerechnet wurden.

2.2.2 Bestimmung der Molmassen von HES (Dalton)

Zur Bestimmung der Molmassen der HES-Moleküle im Serum wurde eine Kombination aus High Performance Liquid Chromatographie (HPLC) und Gelpermeationschromatographie (GPC) genutzt.

Es wurden 500µl Serum in 2,5ml Eppendorf-Cups abpipettiert und sofort mit 500µl 20%iger Trichloressigsäure zur Enteiweißung versehen. Anschließend wurden die Proben 10 Minuten bei 14000U/min zentrifugiert (Zentrifuge Sigma, 3MK, Sigma, Osterode am Harz). Nach Abhebung des Überstandes wurden 500µl davon in dicke Zentrifugenröhrchen mit 8ml eiskaltem, vergälltem Ethanol versetzt, gemischt und zur vollständigen HES-Ausfällung für 30 Minuten im Eisschrank gekühlt. Der Niederschlag wurde 30 Minuten bei 4000U/min zentrifugiert (Zentrifuge Rotax/ RP bzw. Rotanta /TRC, Hettich, Stuttgart) und der Überstand anschließend dekantiert. Der Niederschlag wurde nochmals mit 8ml eiskaltem Ethanol versetzt, wieder für 10 Minuten bei 4000U/min zentrifugiert, dekantiert und dann 30 Minuten im Vakuumexiccator getrocknet. Nach der vollständigen Trocknung wurden die Proben mit 500µl destilliertem Wasser 30 Minuten lang unter häufigem Schütteln gelöst. Die so vorbereiteten Proben wurden schließlich luftblasenfrei in 500µl Probengebervials eingefüllt. Als Standard wurde eine 10%ige HES-Lösung, 1:10 verdünnt, die ebenfalls in die Vials gefüllt wurde und immer mitlief, eingesetzt.

Elutionsmittel	0,4% ige NaCl-Lösung (20g NaCl auf 5 Liter Aqua dest.; mit 0,01% iger Natriumazid stabilisiert.
Flussrate	1 ml/min
SEC-Trennsäulen	Kombination aus: Bio-Gel SEC 10; Bio-Gel SEC 50 XL; Bio-Gel SEC 60 XL; Bio-Gel SEC Guard XL; Nucleogel-SAX 1000- 8/46“
Injektionsvolumen	100 µl der in Aqua dest. gelösten Probe wurden auf die Säule appliziert

Tabelle 2.6: HPLC-Einstellungen zur Molmassenbestimmung der HES-Moleküle

2.2.3 Enzymatische HES-Bestimmung (mg/ml)

Die halbenzymatische HES-Bestimmung (*Förster et al., 1981*) diente dem quantitativen Vergleich der ermittelten HES-Mengen zwischen eben dieser Methode und dem Nachweis mittels der Gaschromatographie.

Zur Analyse wurden jeweils 1ml Urin, bzw. Serum eingesetzt. Durch das anschließende Kochen mit 35 %iger KOH konnten sowohl Proteine, als auch freie Glucose zerstört werden. Die folgende Zugabe von 8ml 96%igem Ethanol führte zu einer Dehydratation der Polysaccharide. Etwa 96% der HES-Moleküle fielen auf diese Weise aus und konnten somit abzentrifugiert werden (*Förster et al., 1981*). Zu dem verbliebenen Rückstand mit dem Großteil der HES-Moleküle wurden 5ml 2M HCl hinzugegeben und diese durch ein 60 minütiges Kochbad hydrolysiert. Auf diese Weise konnten die α -1,4 und die α -1,6 glykosidischen Bindungen gespalten werden. Schließlich wurden dem Hydrolysat noch 4ml 2M NaOH hinzugegeben. Nun konnte die Glucosekonzentration mittels der Hexokinase/Glc-6P-DHG-Reaktion über einen immer mitgeführten externen Standard photometrisch bestimmt werden.

2.2.4 KOD (mmHg)

Der kolloidosmotische Druck (KOD), auch als onkotischer Druck bezeichnet, ist ein Sonderfall der Osmose. Er tritt dort auf, wo größere Proteine nicht durch eine semipermeable Membran gelangen können, im Gegensatz zu niedermolekularen Teilchen, wie Wasser und Elektrolyte. Das Gefäßendothel stellt im Prinzip nichts anderes dar als eine semipermeable Membran, die Moleküle ab einer bestimmten Größe zurückhält (*Silbernagl, 1996*).

Die Messung erfolgte mit dem Onkometer BMT der Fa. Thomae, Biberach. Mit Heparin und Kaliumfluorid versetztes Vollblut wurde in eine Messkammer pipettiert. Diese stand, durch eine semipermeable Membran mit 20 kDa Durchlassgröße getrennt, mit einer physiologischen Kochsalzlösung in Verbindung. Über einen Druckabnehmer wurde die Druckdifferenz ermittelt und war als KOD auf der Anzeigetafel des Gerätes abzulesen.

Normalwert: 17,5-25,0 mmHg

2.2.5 Plasmaviskosität (mPa*s)

Plasma ist eine Newtonsche Flüssigkeit mit einer Viskosität von etwa 1,2mPa*s. Als Viskosität wird der Quotient aus Schubspannung und Scherkraft bezeichnet (*Gaethgens, 1996*). Sie ist ein Maß für die innere Reibung, den Fließwiderstand und hängt vor allem von der Konzentration der Blutfette, der Eiweiße oder anderer großmolekularer Plasmabestandteile ab. Gemessen wurde die Plasmaviskosität mit dem Plasmaviskosimeter der Fa. Fresenius. Ein Plasmabolus von 0,3ml wird aufgebracht und bewegt sich dabei über eine definierte Strecke in einer auf 37°C erwärmten Messkapillare. Die Plasmasäule bewegt sich bei einem konstanten Druck. Aus der Laufzeit ermittelt der Prozessor des Viskosimeters die Plasmaviskosität, die auf dem Gerät dann in der Einheit mPa*s abgelesen werden kann.

Normalwert: 1,2-1,38mPas*s

2.2.7 Hämatokrit (%)

Unter dem Hämatokrit versteht man den Anteil der Erythrozyten des Blutes am gesamten Blutvolumen. Die Erfassung des Hämatokritwertes dient der Einschätzung einer sich einstellenden Verdünnung des Blutes nach HES-Infusion. Für die Bestimmung wurde eine heparinisierte 20 µl Glaskapillare zu $\frac{3}{4}$ mit EDTA-Blut gefüllt und anschließend mit Spezialkitt an der Unterseite verschlossen. Nun wurde die Probe für drei Minuten bei 13000 U/min zentrifugiert. Die Ablesung erfolgte an der zur Glaskapillare gehörenden Messschablone.

Berechnung des Hämatokrits: $HKT (\%) = 100 \times (\text{Präzipitatlänge} / \text{Gesamtlänge})$

Normalwert: 35-45%

2.2.8 Hämoglobin (g/dl)

Hämoglobin ist ein Tetramer, zu 97,5% bestehend aus zwei α - und zwei β -Polypeptidketten (HbA₁), die anderen 2,5% Prozent des menschlichen Hämoglobins bestehen aus zwei α - und zwei γ -Ketten (HbA₂).

An jede dieser Ketten ist eine Hämgruppe gebunden, die je ein Sauerstoffatom binden kann. Die Bindung erfolgt über einen Histidinrest der Proteinkette und das zentrale Eisenatom, welches den Sauerstoff bindet. Die Bestimmung des Hämoglobinwertes erfolgt zur genaueren Erfassung des Verdünnungseffektes durch die HES-Infusionen.

Zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration wurde die Cyanidmethode verwendet (*Zijlstra, 1960 und 1962*), bei der Hämoglobin mit Kaliumhexacyanoferrat zu Hämoglobin oxidiert wird. In einer zweiten Reaktion bildet Hämoglobin mit Kaliumcyanid das Hämiglo-

bincyanid, welches dann quantitativ über eine photometrische Bestimmung bei einer Wellenlänge von 546 nm gemessen werden kann.

Normalwert: 14-18g/dl

2.2.9 α -Amylase (U/l)

Amylasen sind Enzyme die bei der Spaltung von Polysacchariden eine wichtige Rolle spielen. Sie sind in der Lage die α -1,4 glykosidischen Bindungen von Oligo- und Polysacchariden zu spalten. Damit erfüllen sie eine wichtige Funktion bei der Resorption von Kohlenhydraten.

Die Aktivität der Amylase wurde sowohl im Serum, als auch im Urin bestimmt. Zur Bestimmung dieses Parameters wurde der Monotest α -Amylase PNP der Fa. Boehringer Mannheim herangezogen. Hierbei handelte es sich um einen enzymatischen Farbttest, bei dem Ethyliden-G7-PNP als Substrat diente. Im Verlauf von drei verschiedenen chemischen Reaktionen entstand als Endprodukt u.a. p-Nitrophenol (PNP), welches dann photometrisch bei einer Wellenlänge von 405nm mit einer Dreipunktmessung bestimmt werden konnte.

Normalwert: Aktivität < 120 U/l

2.2.10 Harnstoff im Urin (mg/dl)

Zur Bestimmung der Harnstoffkonzentration im Urin wurden 100 μ l Urin mit 49,5ml 0,9%iger NaCl-Lösung gemischt. Auf diese Weise erhält man eine Verdünnung von 1:500. Von dieser verdünnten Probe wurden anschließend 200 μ l in große Reagenzgläser gegeben und mit 100 μ l Ureasereagenz versehen, gemischt und 10min bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Danach wurden je 5ml von Lösung 3 und Lösung 4, die weitere Reagenzien für die chemischen Folgereaktionen enthielten, dazugegeben. Genauso wurden die parallel mitgeführten Standards und die Kontrollen behandelt. Anschließend wurde alles gemischt und für 15 Minuten bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur und nochmaligem Durchmischen erfolgte die photometrische Extinktionsmessung bei 546nm.

Zur Berechnung der Harnstoffkonzentration diene folgende Formel:

$$\text{Konz. (mg/dl)} = 3,2 \times E_{\text{probe}} / E_{\text{standard}} \times 500$$

Aufgrund der starken individuellen Schwankungen der Harnvolumina wurden die absoluten Harnstoffmengen ermittelt, die im 24h Sammelurin gefunden werden konnten.

Folgende Formel wurde zur Berechnung eingesetzt:

$$(\text{Harnstoff im Urin (mg/dl)} \times \text{Harnvolumen (l) / 24h}) / 100$$

Normalwert: 20-35g/24h

2.2.11 Biomathematische Auswertung

Alle in den Versuchen erhaltenen Daten wurden in das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft® Excel 2000 aufgenommen. Zur besseren Veranschaulichung der gewonnenen Daten wurden diese mit Hilfe von Excel als Säulen- oder Liniendiagramme präsentiert.

Die in den Diagrammen angezeigten Werte sind als Mittelwerte der Probandenwerte ($n=5$) und deren Standardabweichung dargestellt.

Die statistische Auswertung der gewonnenen Daten wurde mit dem Statistikprogramm BiAS für Windows, Version 7.05.2020 (Demoversion), durchgeführt. Zur Anwendung kam der t-Test für gepaarte Stichproben. Ein $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angenommen.

Die Halbwertszeiten wurden kompartimentenunabhängig mit dem Programm Topfit 2.0 errechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Urin

3.1.1 HES, molare Substitution (MS)

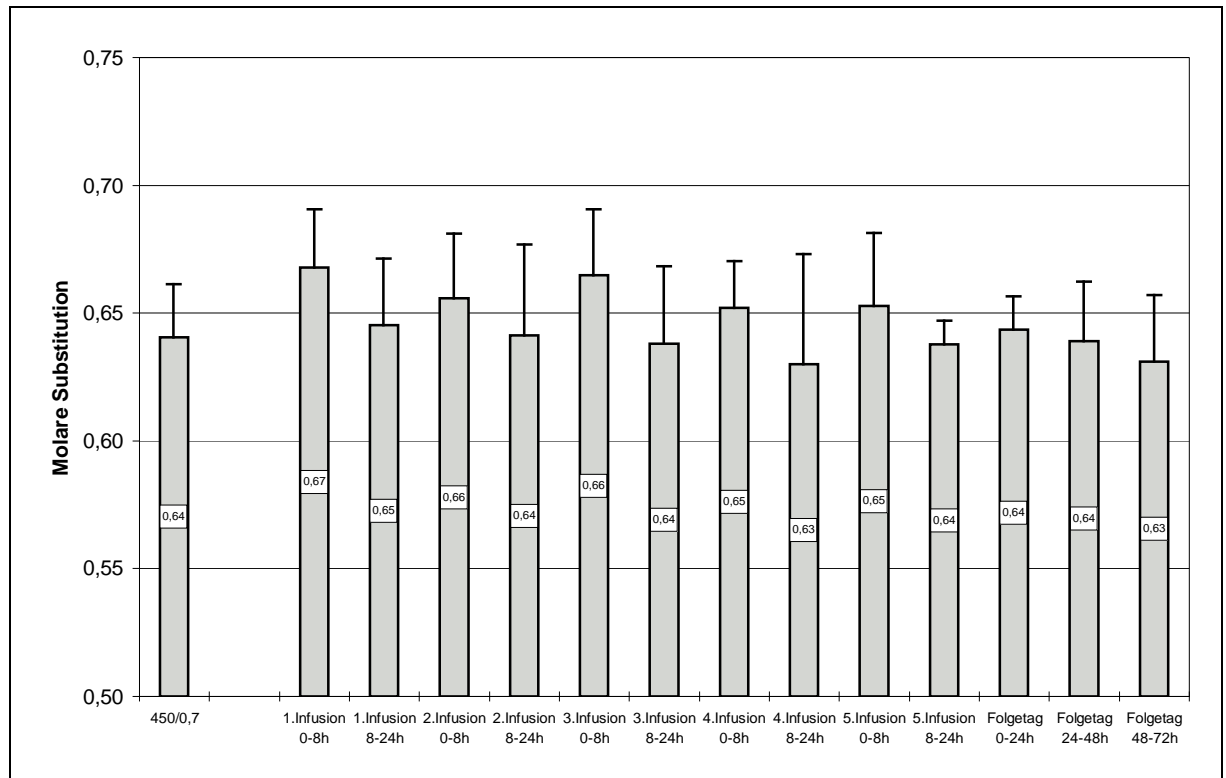


Abbildung 3.1: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3
Verlauf der molaren Substitution (MS) der im Urin ausgeschiedenen HES nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7 unter Berücksichtigung der beiden Sammelperioden 0-8h und 8-24h

Die gaschromatographisch ermittelte molare Substitution (MS) der Infusionslösung, Plasmasteril® 450/0,7, lag bei 0,64.

Die im Urin in der ersten Sammelperiode (0-8h) wiedergefundenen HES-Moleküle wiesen zwar einen leicht höheren Wert auf, als die der zweiten Sammelperiode (8-24h), jedoch ließ sich dieser geringe Unterschied statistisch nicht bestätigen. Gleiches galt auch für die scheinbare Abnahme der MS der Sammelperiode 1. Infusion (0-8h und 8-24h) im Verhältnis zu den drei Nachfolgetagen. Zu keinem der Sammelzeitpunkte zeigten die wiedergefundenen HES-Moleküle eine statistisch signifikante Veränderung der molaren Substitution.

3.1.2 HES, C2/C6- Verhältnis

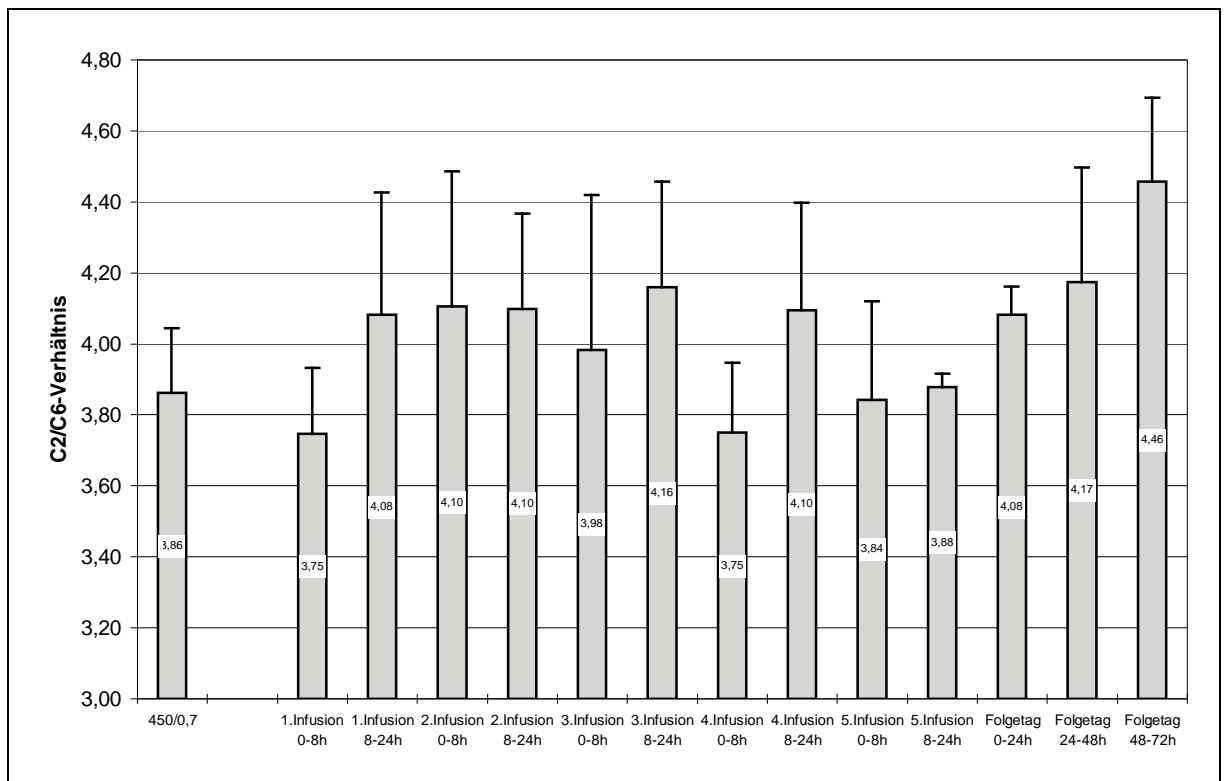


Abbildung 3.2: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3

Verlauf des C2/C6-Verhältnis der im Urin ausgeschiedenen HES nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7 unter Berücksichtigung der beiden Sammelperioden 0-8h und 8-24h

Das C2/C6-Verhältnis der Infusionslösung lag bei 3,86.

Die nach Infusion in vivo veränderte und mit dem Urin ausgeschiedene HES wurde in den 10 Sammelperioden, während der Infusionstage, und an den 3 Nachfolgetagen auf etwaige Veränderungen dieses Verhältnisses untersucht. Signifikante Veränderungen innerhalb der einzelnen Sammelperioden ließen sich bis auf den Anstieg von 1. Infusion (0-8h) nach 1. Infusion (8-24h) nicht messen. Ebenfalls nicht signifikant waren die Veränderungen im Vergleich der jeweils 1., bzw. 2. Sammelperioden der einzelnen Tage. Lediglich nach der letzten Infusion ließ sich über die Folgetage ein geringer, nicht immer signifikanter, Anstieg des C2/C6-Verhältnisses auf einen Wert von 4,46 ermitteln.

3.1.3 C2- und C6-substituierte Monomere quantitativ im 24h Sammelurin

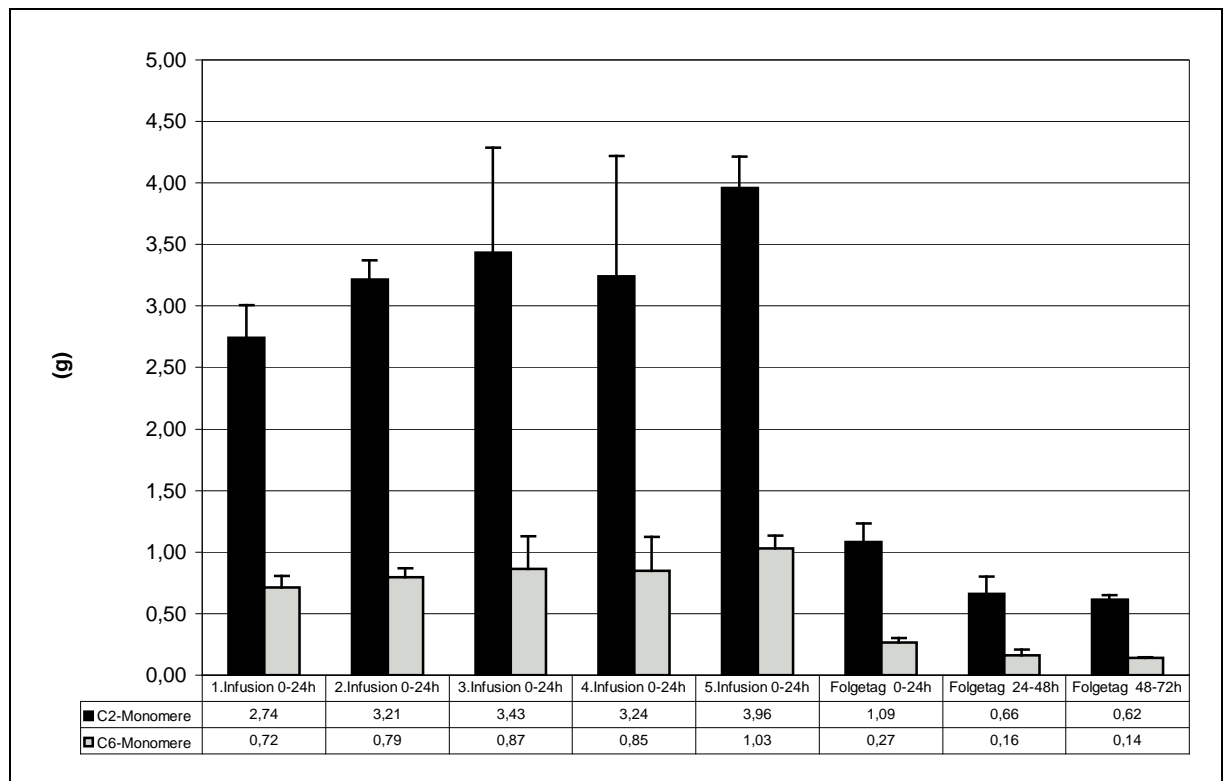


Abbildung 3.3: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3

Verlauf der im Urin wiedergefundenen C2- und C6-Monomere, quantitativ (g) im 24h Sammelurin nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

	450/0,7	1. Infusion 0-24h	2. Infusion 0-24h	3. Infusion 0-24h	4. Infusion 0-24h	5. Infusion 0-24h	Folgetag 0-24h	Folgetag 24-48h	Folgetag 48-72h
C2/C6	3,86	3,81	4,06	3,94	3,81	3,85	4,04	4,13	4,43

Tabelle 3.1: Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3

Verlauf des C2/C6-Verhältnisses berechnet anhand der Monomerenmenge (g) im 24h Urin nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Die im 24h Sammelurin wiedergefundene Mengen an C2- und C6-Monomeren unterschieden sich gemäß dem unterschiedlichen C2/C6-Verhältnis der Ausgangslösung 450/0,7 signifikant. Eine statistisch signifikante Veränderung in der Wiederfindung der einzelnen C2- bzw. C6-Monomere über die Zeit ließ sich nur für den Anstieg vom 1. zum 2. Infusionstag bei den C2-Monomeren sichern. Ebenso signifikant war der Abfall der wiedergefundenen C2- und C6-Monomere vom 5. Infusionstag zum 1. Folgetag und von diesem zum 2. Folgetag.

3.1.4 HES, quantitativ (g), gaschromatographische Methode

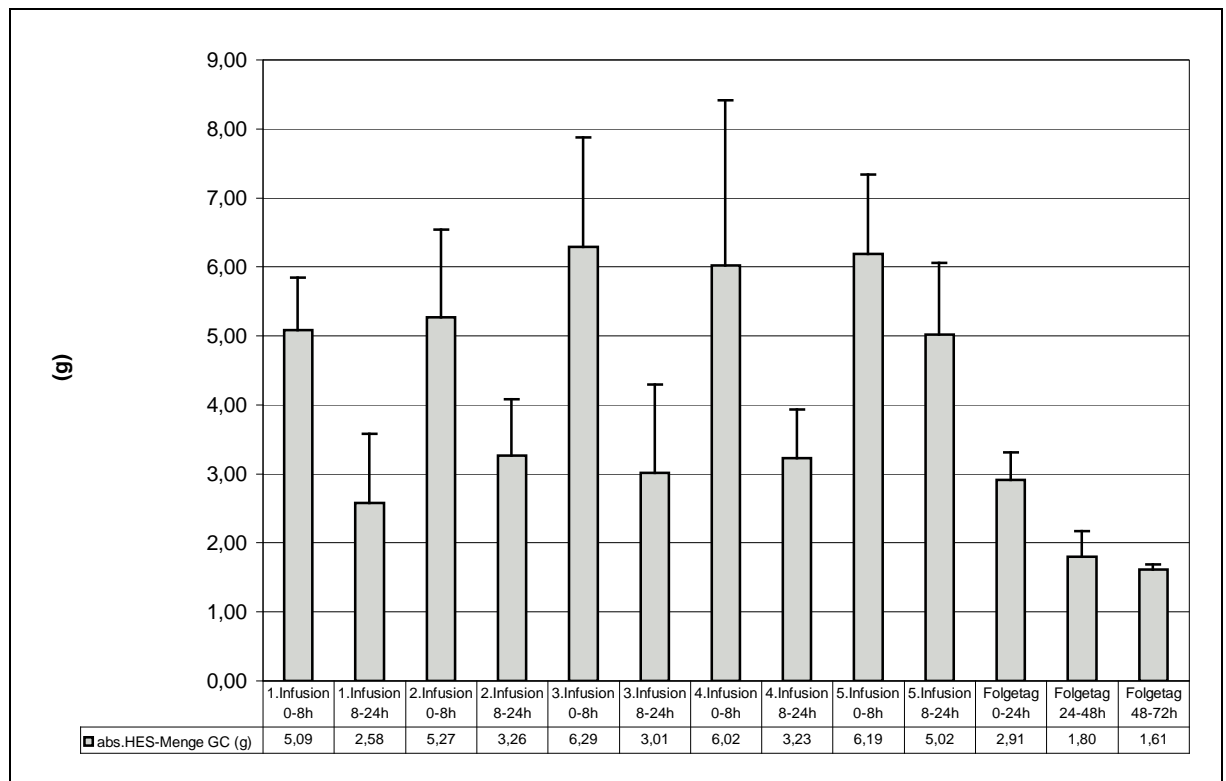


Abbildung 3.4: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3

HES-Ausscheidung in Gramm im Urin nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7 unter Berücksichtigung der beiden Sammelperioden 0-8h und 8-24h, gaschromatographische Methode

Nach Applikation von 140g HES (450/0,7) konnten mit der gaschromatographischen Methodik während den 5 Infusions- und 3 Nachfolgetagen insgesamt 52,28g HES im Urin wiedergefunden werden. Dies entspricht einer Wiederfindungsrate von 37,35%. Die Ausscheidung der absoluten HES-Menge in Gramm lag in der ersten Sammelperiode pro Tag (0-8h) zwischen 5,09 und 6,29g. Für die zweite tägliche Sammelperiode (8-24h) lagen die Werte zwischen 2,58 und 5,02g. Die statistische Auswertung ergab dabei einen signifikanten Unterschied der ausgeschiedenen HES-Menge zwischen diesen beiden Urinsammelperioden für jeden Infusionstag. Ein Vergleich der Werte innerhalb der jeweils ersten, bzw. zweiten Sammelperiode ergab bis auf den Anstieg von 4. Infusion 8-24h nach 5. Infusion 8-24h, der signifikant war, keine weiteren statistisch signifikanten Veränderungen.

3.1.5 HES-Wiederfindung in Prozent der infundierten Menge

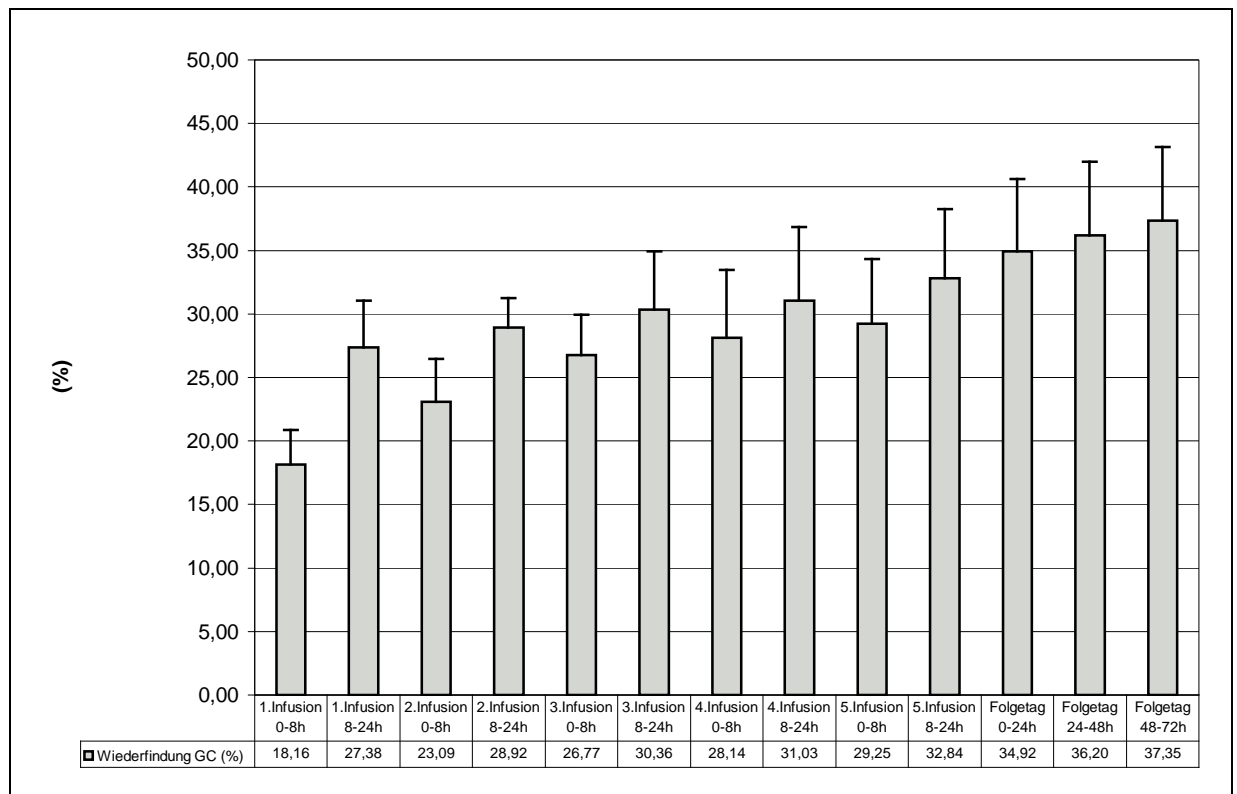


Abbildung 3.5: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3
HES-Wiederfindung im Urin in Prozent der infundierten HES-Menge nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7 unter Berücksichtigung der jeweils am nächsten Infusionstag neu infundierten HES-Menge

Die Wiederfindung von HES war an allen Infusionstagen erwartungsgemäß in der zweiten Sammelperiode (8-24h) signifikant höher als in der ersten Sammelperiode (0-8h). Ursächlich ist der längere Zeitraum, der zwischen den beiden Sammelperioden lag. Nach der ersten Sammelperiode (0-8h) konnte weiter HES mit dem Urin ausgeschieden werden, ohne das „neue“ HES hinzu kam. Nach jeder erneuten Infusion von 466ml HES 450/0,7 wurde die neu zugeführte HES-Menge zu der bis dahin infundierten HES dazugezählt und die kumulative Menge in Gramm als 100% genommen. Hierzu wurde die mit dem Urin ausgeschiedene HES-Menge in Gramm in Relation gesetzt, woraus sich die prozentuale Ausscheidung der HES für die einzelnen Sammelperioden, wie oben abgebildet, ergab.

Die Wiederfindung für die erste Sammelphase lag zwischen 18,16 und 29,25% und für die zweite Sammelperiode zwischen 27,38 und 32,84% der bis zu diesem Zeitpunkt infundierten Menge. Der Anstieg der HES-Wiederfindung über die Folgetage 1-3 lag ebenfalls in einem statistisch signifikanten Bereich. Am Ende des Beobachtungszeitraumes, am Folgetag 3, lag die HES-Wiederfindung bei 37,35% der insgesamt infundierten Menge.

3.1.6 Prozentuale HES-Wiederfindung innerhalb eines Tages

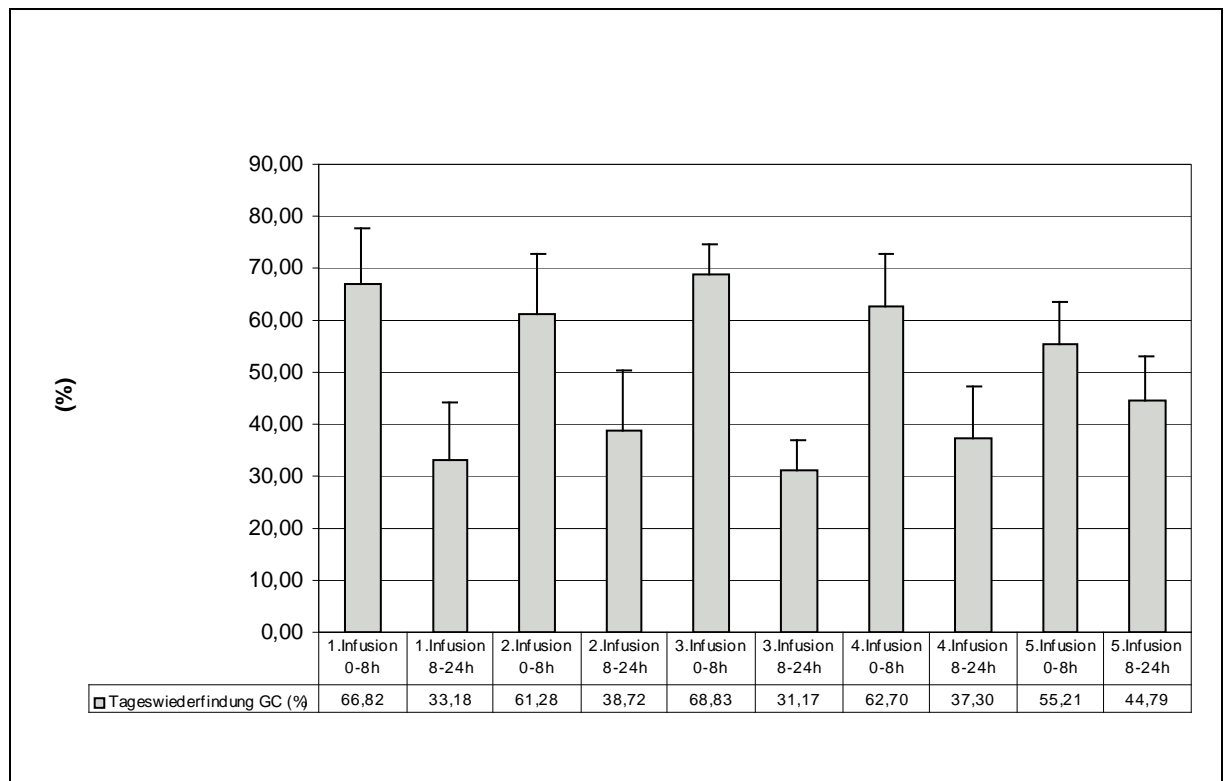


Abbildung 3.6: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Prozentuale Verteilung der HES-Ausscheidung im Urin auf die unterschiedlichen Sammelperioden innerhalb eines Tages nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Die Gesamtausscheidung der HES im Urin betrug 52,28g. Dies entsprach einer Wiederfindung von 37,35% der infundierten Menge. Zur Berechnung der prozentualen Wiederfindung von HES innerhalb der beiden unterschiedlichen Sammelperioden wurde die tägliche Gesamtausscheidung von HES in Gramm (Summe der ausgeschiedenen HES-Menge in Gramm der beiden Sammelperioden 0-8h und 8-24h, s.a. Abb. 3.4) als 100 Prozent eingesetzt und hierzu die ausgeschiedene HES-Menge in der jeweiligen Sammelperiode in Relation gesetzt.

Die Wiederfindung von HES im Urin innerhalb eines Tages verteilte sich wie oben abgebildet etwa im Verhältnis von 2/3 für die erste Sammelperiode (0-8h) zu 1/3 für die zweite Sammelperiode (8-24h).

3.1.7 HES, quantitativ (g), enzymatische Methode

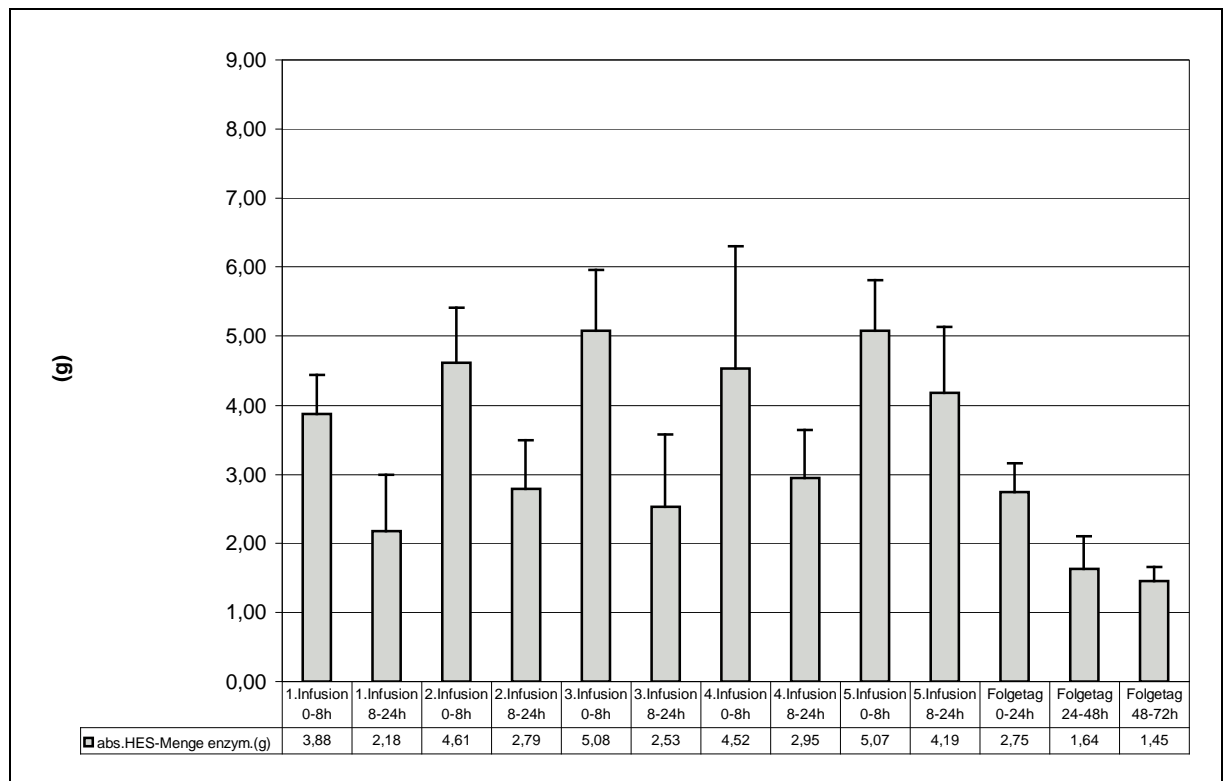


Abbildung 3.7: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3

HES-Ausscheidung in Gramm im Urin nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7 unter Berücksichtigung der beiden Sammelperioden 0-8h und 8-24h, enzymatische Methode

Mit der enzymatischen Methode nach Fällung und saurer Hydrolyse konnten 43,64g HES im Urin nachgewiesen werden; dies ergibt eine Wiederfindung von 31,17% der insgesamt infundierten HES-Menge von 140g. Die Ausscheidung von HES für die erste Sammelperiode (0-8h) lag zwischen 3,88 und 5,08g. In der zweiten Sammelphase lagen die Werte für die ausgeschiedenen HES-Menge, bestimmt mit der enzymatischen Methode, zwischen 2,18 und 4,19g. Signifikante Veränderungen der ausgeschiedenen HES-Mengen ließen sich nur für die Differenzen innerhalb der beiden Sammelperioden am ersten und am dritten Infusionstag sowie den Abfall vom Folgetag 1 (0-24h) belegen. Alle anderen Veränderungen der Werte, sowohl im Vergleich der einzelnen Sammelperioden miteinander, als auch innerhalb einer Sammelperiode, lagen außerhalb des tolerablen Signifikanzniveaus.

3.1.8 Wiederfindung HES im Urin: GC-Methode und enzymatische Methode im Vergleich

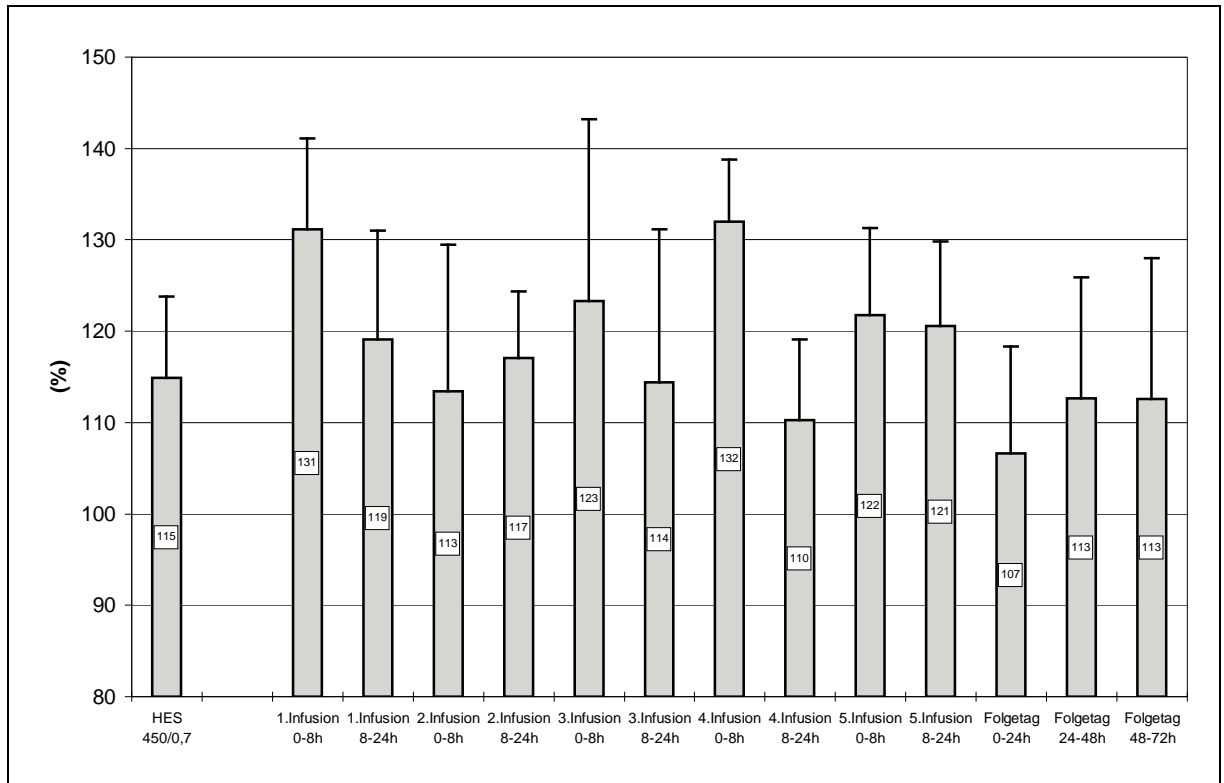


Abbildung 3.8: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3
Unterschiede der HES-Wiederfindung im Urin in Prozent im Vergleich der beiden analytischen Methoden (GC-Methodik v.s. enzymatische Methode) nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Die Wiederfindung von HES im Urin war bei der gaschromatographischen Methode immer etwas höher als bei der enzymatischen Methodik. Sie lag dabei zwischen 107 und 132%.

3.1.9 Harnstoffausscheidung (g) im 24h Sammelurin

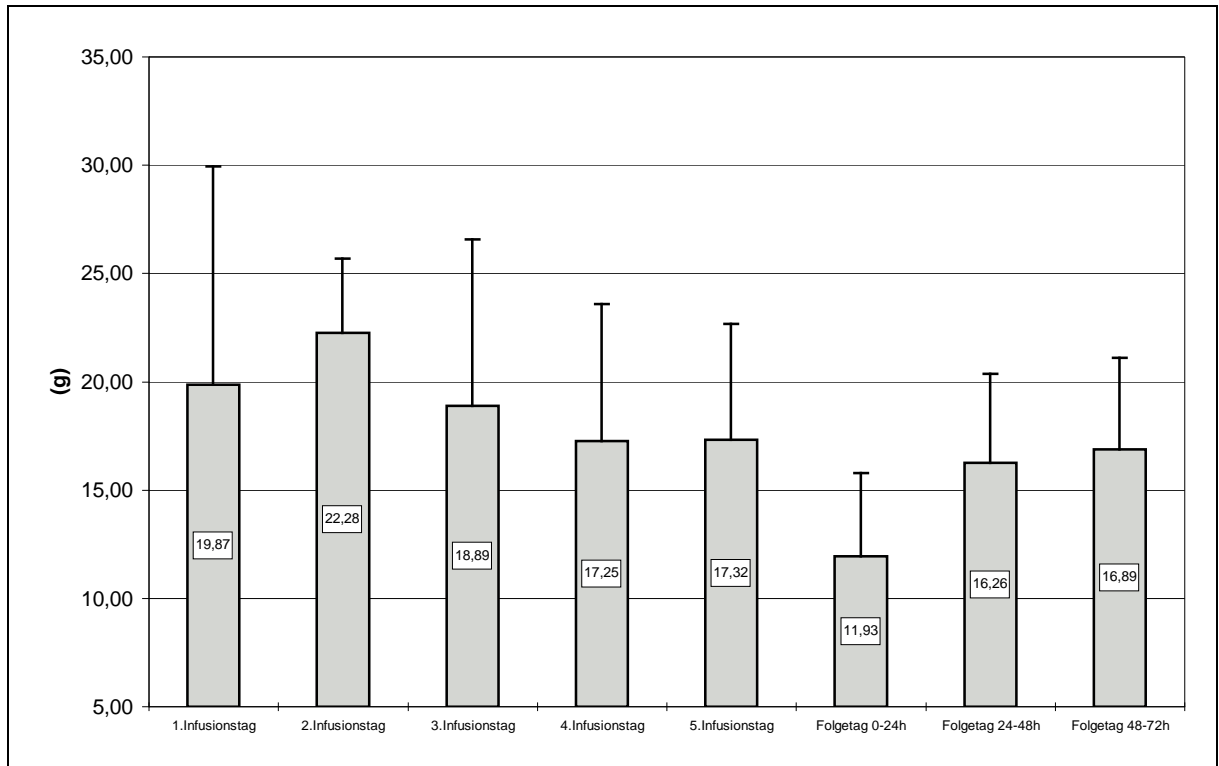


Abbildung 3.9: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3
Ausgeschiedene Harnstoffmenge in Gramm im 24h Urin nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Die absolut ausgeschiedene Harnstoffmenge im 24h-Urin lag stets im Normbereich. Signifikante Unterschiede konnten nur vom 5. Infusionstag zu Folgetag 1 (0-24h) und vom Folgetag 1 zum Folgetag 2 (24-48h) gemessen werden. Alle anderen Werte lagen außerhalb des definierten Signifikanzniveaus.

3.2 Serum

3.2.1 HES-Konzentration (mg/ml), enzymatische Methode, Infusionstage

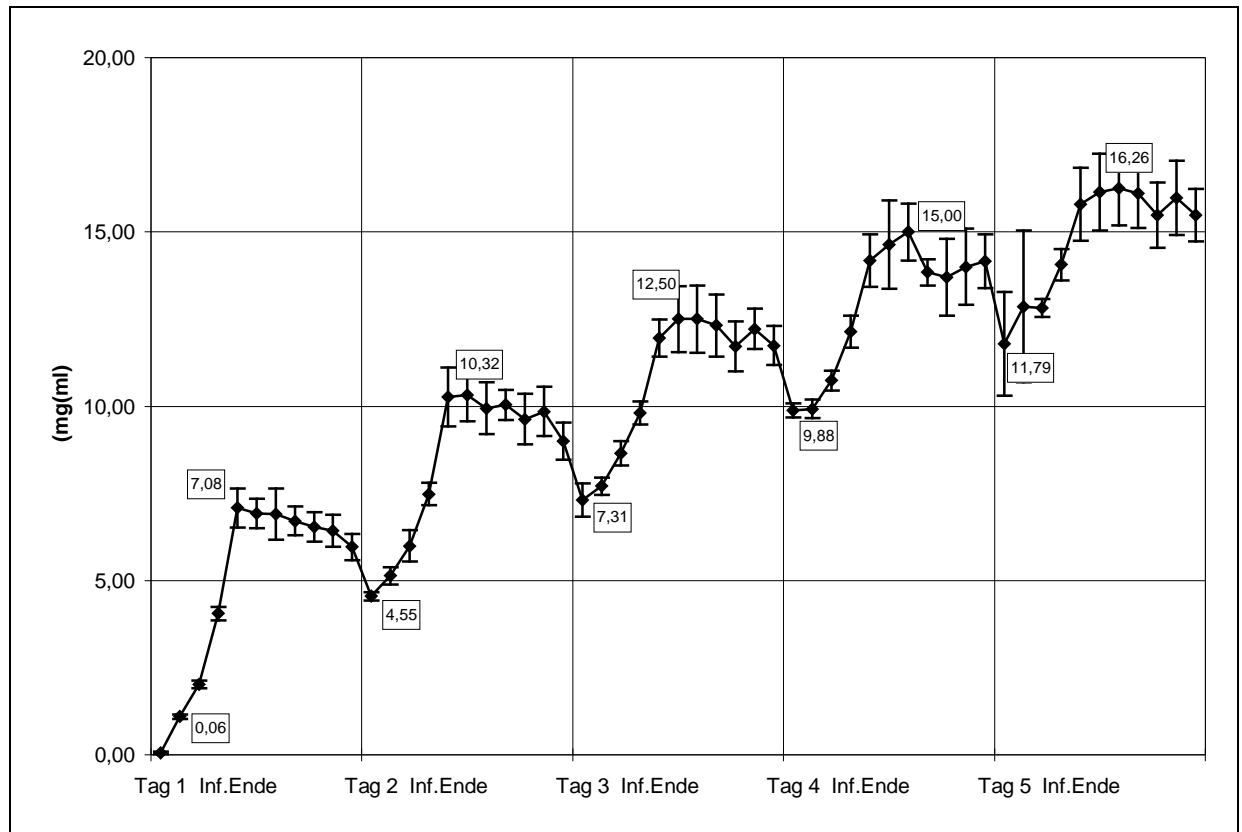


Abbildung 3.10: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Verlauf der mit der enzymatischen Methode gemessenen HES-Konzentration im Serum (mg/ml) nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

	Vor Infus.	30 min	60 min	120 min	Infus.- Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag 1	0,06	1,10	2,02	4,05	7,08	6,92	6,91	6,71	6,54	6,43	5,96
Tag 2	4,55	5,13	6,00	7,48	10,26	10,32	9,94	10,04	9,63	9,85	9,00
Tag 3	7,31	7,71	8,65	9,81	11,96	12,5	12,5	12,32	11,72	12,22	11,74
Tag 4	9,88	9,92	10,74	12,14	14,18	14,64	15,00	13,84	13,70	14,00	14,16
Tag 5	11,79	12,86	12,82	14,06	15,80	16,14	16,26	16,10	15,48	15,98	15,48

Tabelle 3.2: Infusionstage 1-5

Verlauf der mit der enzymatischen Methode gemessenen HES-Konzentration im Serum (mg/ml) zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Die HES-Konzentration im Serum stieg bei mehrtägig wiederholter Infusion im Verlauf der einzelnen Infusionstage von 7,08mg/ml nach der ersten Infusion bis auf Werte von 16,26mg/ml an. Der signifikante Anstieg der Konzentrationen ließ sich sowohl für die mor-

gendlichen Werte vor Infusion, als auch für die Werte am Infusionsende nachweisen. Einzige Ausnahme stellte der Vergleich zwischen Tag 5 vor Infusion und dem Folgetag 1 dar (s.a.Wert für PD1 im folgenden Diagramm), bei dem ein tendenzieller Anstieg der HES-Serumkonzentration sichtbar wurde, dieser sich allerdings statistisch nicht als signifikant bestätigen ließ. Die tägliche Zunahme der Basiskonzentration stabilisierte sich bei etwa 2,3mg/ml.

3.2.2 HES-Konzentration (mg/ml), enzymatische Methode, Folgetage 1-31

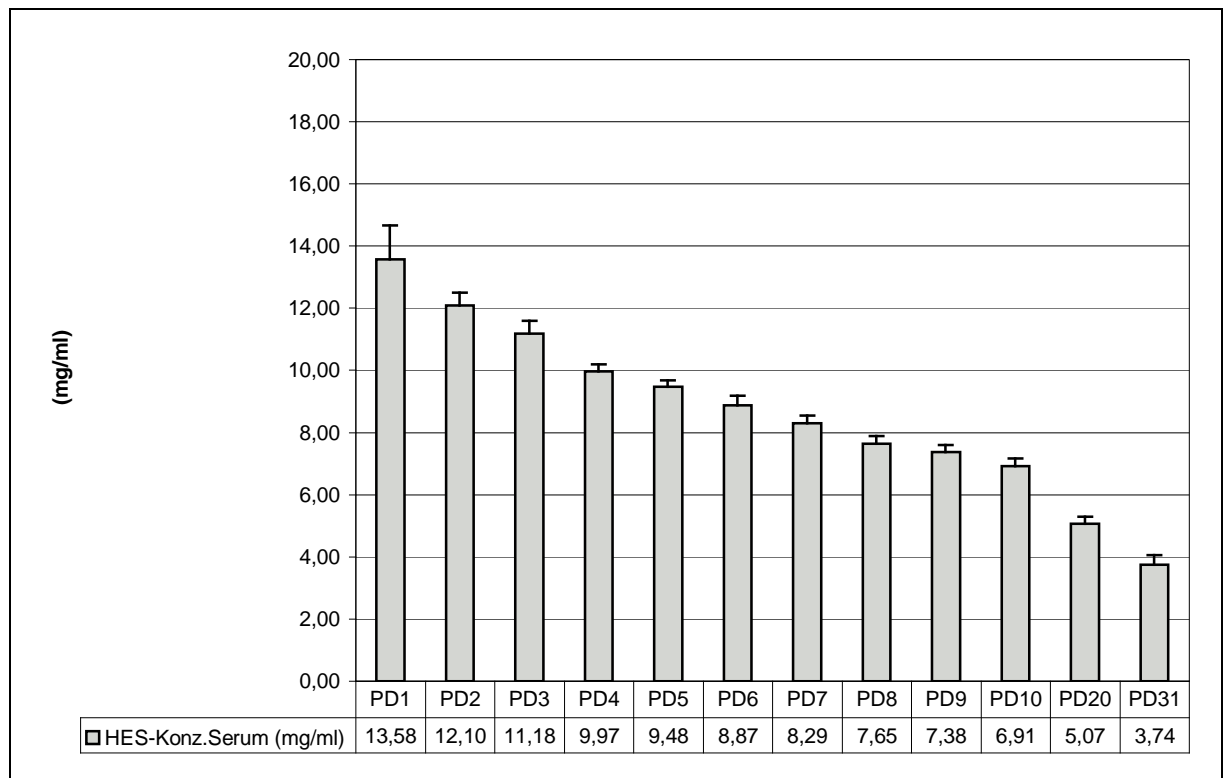


Abbildung 3.11: HES Infusion bei Probanden, Folgetage 1-31

Verlauf der HES-Konzentration im Serum (mg/ml) nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7, ermittelt über die enzymatische Methode

Die HES-Konzentration im Serum fiel im Nachbeobachtungszeitraum der Folgetage (PD1-PD31) von ursprünglich 13,58mg/ml auf 3,74mg/ml am letzten Folgetag. Der Abfall der Serumkonzentration von HES war dabei von Tag zu Tag statistisch signifikant. Auch am Ende des Beobachtungszeitraumes am Tag 31 wurden mit 3,74mg/ml HES im Serum noch Werte gemessen, die fast in dem Bereich lagen, der vor der 2. Infusion gemessen wurden.

3.2.3 HES-Halbwertszeit (h) im Serum, Infusions- und Folgetage

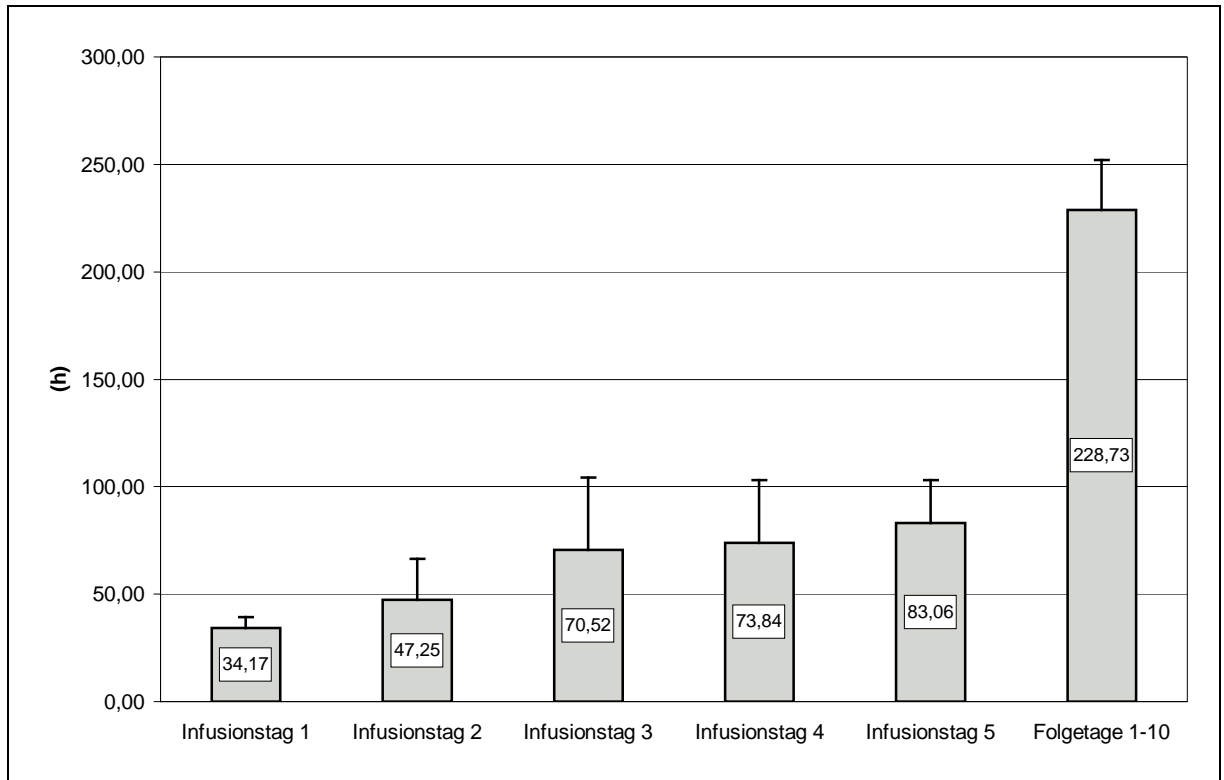


Abbildung 3.12: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-10
Halbwertszeiten von HES im Serum (h) nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Die im Serum gemessenen Halbwertszeiten verlängerten sich von Tag zu Tag kontinuierlich, obwohl sich eine statistisch relevante Signifikanz von einem auf den nächsten Tag nicht nachweisen ließ. Signifikant stellte sich jedoch die Verlängerung der HWZ der Infusionstage 2-5 und der Folgetage 1-10 im Bezug zum Infusionstag 1 dar.

Eine deutliche, statistisch auch signifikante Verlängerung, der Halbwertszeit konnte zudem von Infusionstag 5 im Vergleich zu denen der Folgetage 1 bis 10 gezeigt werden. In diesem Zeitraum verlängerte sich die Halbwertszeit deutlich auf 228,73h.

3.2.4 HES, mittleres Molekulargewicht, Mw (Da), Infusionstage

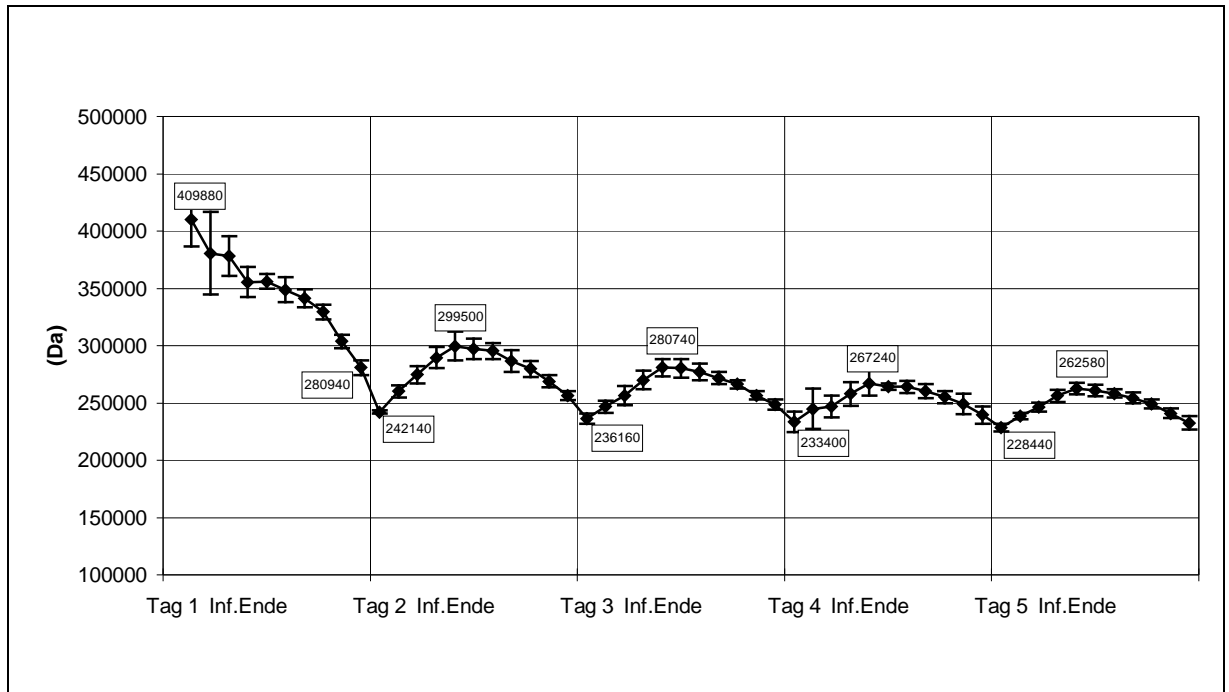


Abbildung 3.13: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Verlauf der Veränderungen des mittleres Molekulargewicht Mw (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

	vor Inf.	30 min	60 min	120 min	Inf. Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag1		409880	380720	378040	355460	356080	348680	341540	329440	303760	280940
Tag2	242140	260160	274740	289520	299500	297100	295380	286620	279720	268900	256280
Tag3	236160	246700	256360	270000	280740	280180	277040	271580	266240	256580	248725
Tag4	233400	244760	246860	257880	267240	264375	264100	260540	255080	249140	239600
Tag5	228440	238560	246360	256200	262580	260680	258300	254460	249180	240980	232580

Tabelle 3.3: Infusionstage 1-5

Veränderungen des Mw (Da) von HES im Serum während der verschiedenen Abnahmezeitpunkte nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Das mittlere Molekulargewicht der Infusionslösung HES 450/0,7 lag bei 620.760 Da.

Das mittlere Molekulargewicht der im Serum gefundenen HES betrug zum ersten Abnahmezeitpunkt 409.880 Dalton (Da). Es fiel dann kontinuierlich bis zum nächsten Morgen auf einen Wert von 242.140 Da. Sowohl der Abfall des Mw von 1.Inf 30min nach Ende 1.Infusion, als auch die täglichen Anstiege des Mw vom Infusionsbeginn zum Infusionsende, die etwa jeweils 35.000 Da betragen waren allesamt signifikant. Nach Infusionsende fiel dieser Wert bis zum nächsten Morgen jeweils täglich um zwischen 40.000 und 60.000 Da. Zusätzlich fiel das scheinbar kontinuierliche Absinken des Mw sowohl vor Infusionsbeginn der einzelnen Tage, als auch am jeweiligen Infusionsende von Tag zu Tag auf. Ein Vergleich dieser Ab-

nahmezeitpunkte vor Infusion und Infusionsende von Tag zu Tag ergab jedoch nur einen Trend, der allerdings nicht als statistisch signifikant zu bestätigen war.

3.2.5 HES, mittleres Molekulargewicht, Mw (Da), Nachfolgetage

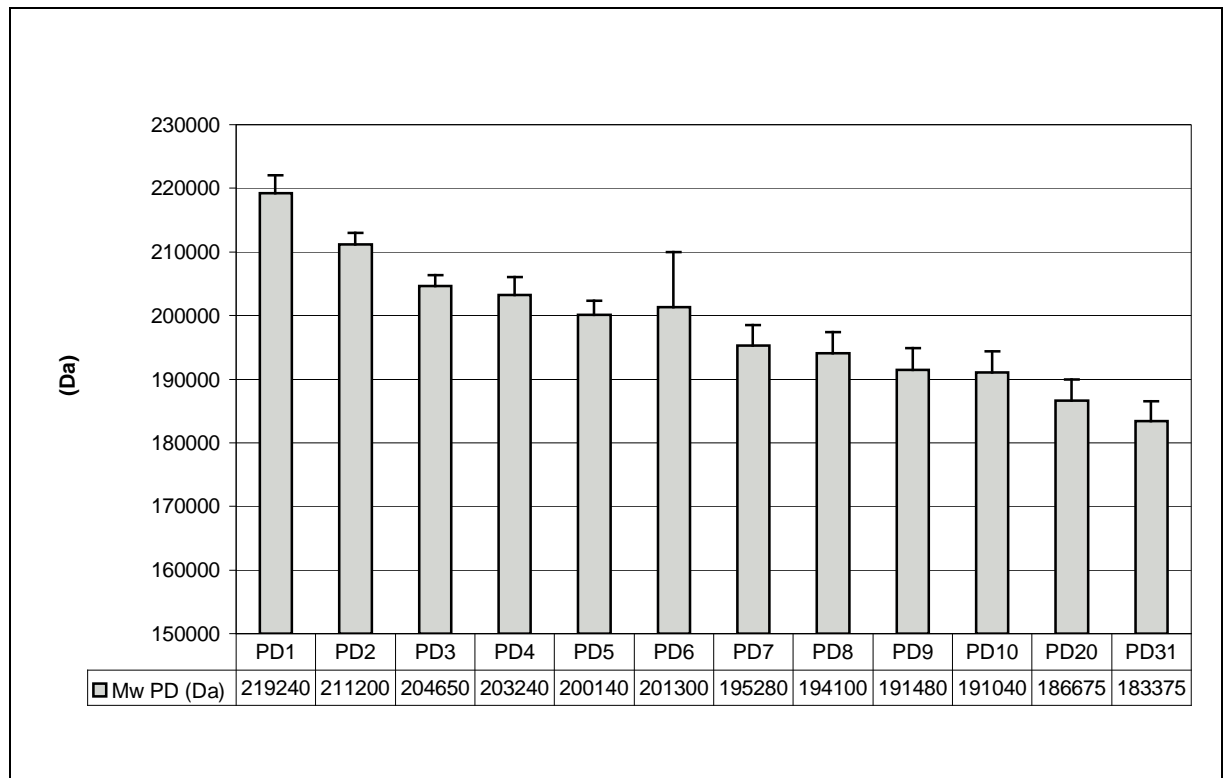


Abbildung 3.14: HES Infusion bei Probanden, Folgetage 1-31

Verlauf der Veränderungen des Mw (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Wie aus Abb.3.14 ersichtlich, kam es am Ende der fünf Infusionstage zu einem stetigen Abfall des Mw bis auf einen Wert von 183.375 Da am Ende des Nachbeobachtungszeitraumes. Die scheinbar deutliche kontinuierliche Abnahme des mittleren Molekulargewichts der HES im Verlauf der Folgetage, PD1-PD31 ließ sich statistisch nur für wenige Zeitpunkte als signifikant belegen. Diese Signifikanz ergab sich für die Veränderungen von PD1 nach PD2, von PD2 nach PD3, von PD4 nach PD5, PD8 nach PD9 und PD10 nach PD20. Alle anderen Veränderungen zwischen den Folgetagen lagen außerhalb des statistisch signifikanten Bereiches, wengleich auch die tendenzielle Abnahme des Mw sichtbar wird. Der Abfall des Mw über die Nachfolgetage PD2-PD31 im Verhältnis zu Nachfolgetag 1 (PD1) lag immer im statistisch signifikanten Bereich.

3.2.6 HES, Median Mn (Da), Infusionstage

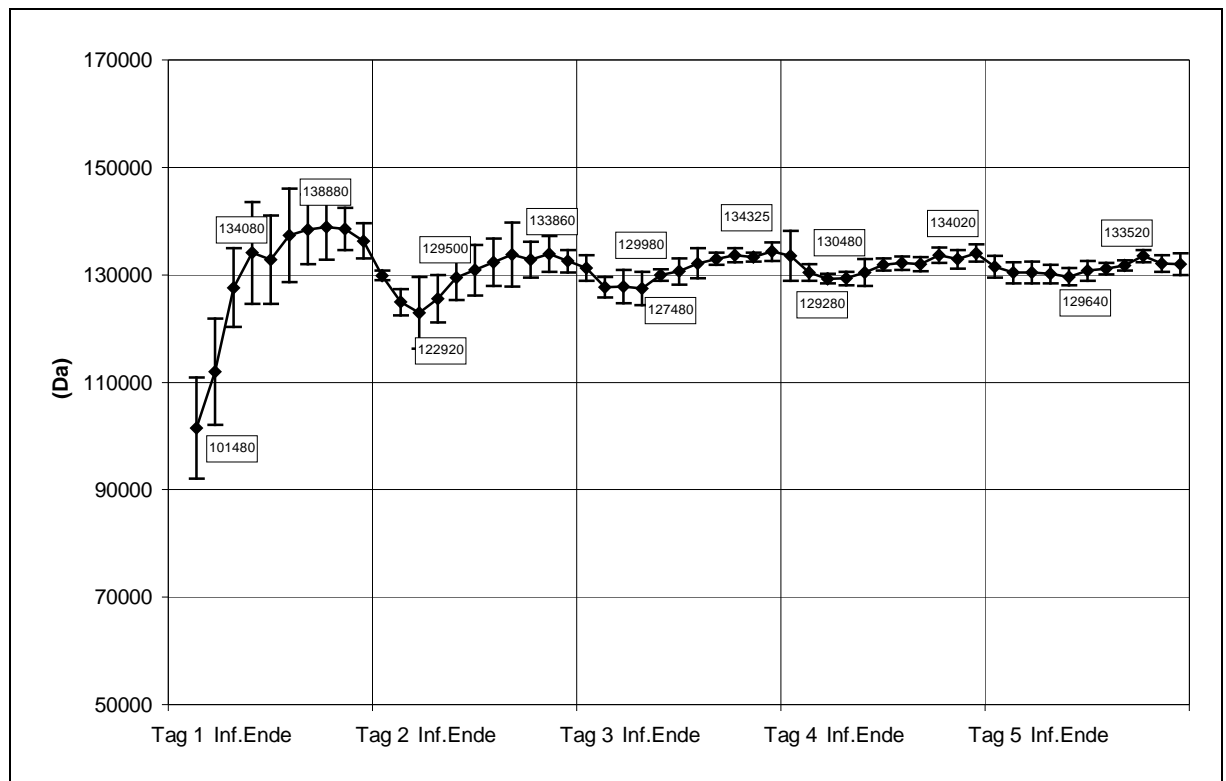


Abbildung 3.15: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Verlauf der Veränderungen des Mn (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

	vor Inf.	30 min	60 min	120 min	Inf. Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag1		101480	11952	127600	134080	132800	137320	138480	138880	138520	136320
Tag2	129900	124900	122920	125580	129500	130880	132320	133720	132820	133860	132540
Tag3	131240	127680	127820	127480	129980	130620	132160	132980	133660	133300	134325
Tag4	133560	130460	129280	129320	130480	131900	132180	131980	133640	132880	134020
Tag5	131560	130400	130480	130140	129640	130740	131180	131800	133520	132120	132020

Tabelle 3.4: Infusionstage 1-5

Veränderungen des Mn (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Das Zahlenmittel, der Median (Mn), der Infusionslösung HES 450/0,7 lag bei 130.846 Da.

Signifikante Veränderungen des Mn konnten nur zwischen den Abnahmezeitpunkten 1. Infusion 30min und Infusionsende 1. Infusion sowie zwischen 1. Infusion 30min und vor 2. Infusion festgestellt werden. Alle anderen Veränderungen lagen außerhalb des definierten Signifikanzniveaus. Auffällig ist der, wenn auch statistisch nicht signifikante, Abfall des Mn nach Infusionsbeginn und seine Annäherung an den Ausgangswert vor Infusion am Infusionsende an allen Infusionstagen bis auf Infusionstag 1. An diesem ersten Infusionstag fiel der massive Anstieg des Mn im Infusionsverlauf auf, der nach Infusionsende zwar noch weiter stieg, dann allerdings nicht mehr im gleichen Maß wie vorher.

3.2.7 HES, Spitzenfraktion Sf 90% (Da), Infusionstage

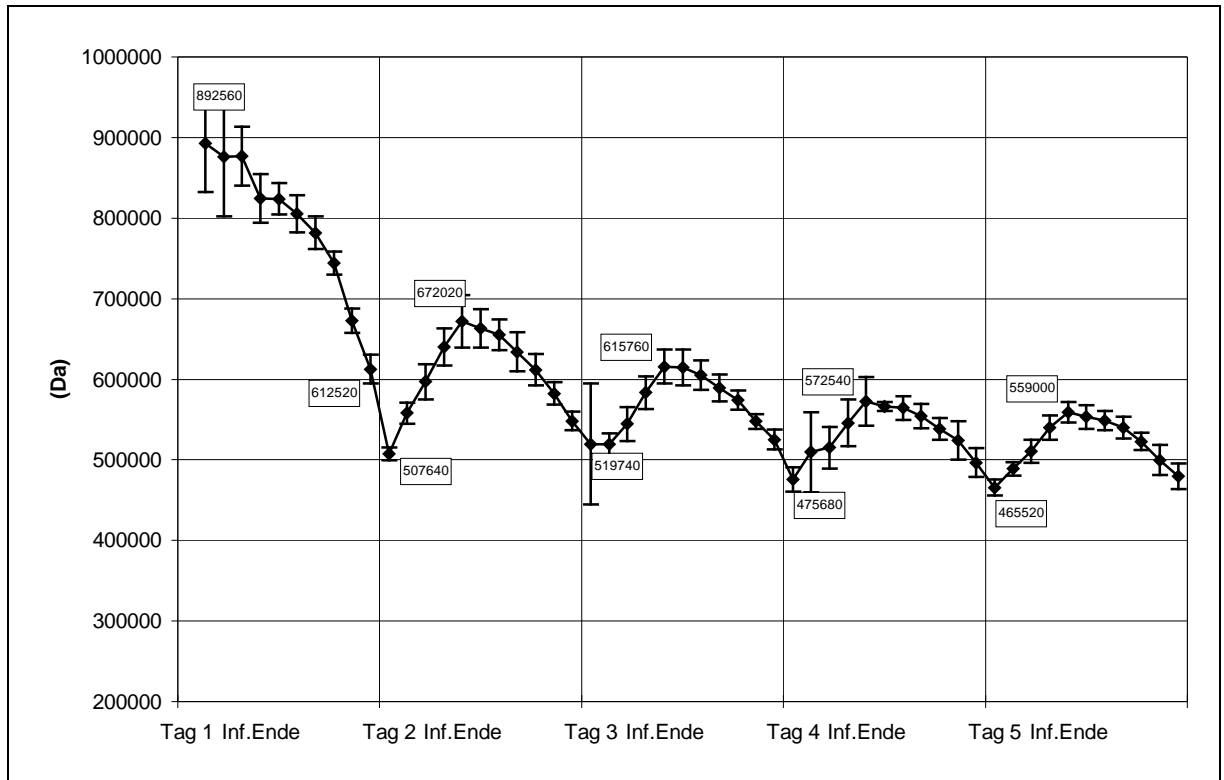


Abbildung 3.16: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Verlauf der Veränderungen der Spitzenfraktion Sf 90% (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

	vor Inf.	30 min	60 min	120 min	Inf. Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag1		892560	876080	876780	824700	823900	805620	781880	744060	672920	612520
Tag2	507640	558060	596840	639960	672020	663100	655220	634160	611780	582320	548360
Tag3	519740	519100	544500	593380	615760	614600	604980	589480	573840	547640	525275
Tag4	475680	509700	515160	545800	572540	566150	564440	554320	538600	523840	496400
Tag5	465520	488860	510660	540020	559000	553220	549060	539840	522760	499800	479380

Tabelle 3.5: Infusionstage 1-5

Veränderungen der Spitzenfraktion Sf 90% (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Die Spitzenfraktion Sf 90% der Infusionslösung HES 450/0,7 betrug 1.534.000 Da.

Auffallend war der starke, signifikante Abfall im Verlauf der 1. Infusion von einem Molekulargewicht von 892.560 Da bei Abnahme 1. Infusion 30min auf 612.520 Da am Infusionsende +420min. Ebenfalls sehr deutlich erschien der Anstieg der Sf vom Infusionsbeginn des jeweiligen Tages zum Infusionsende des gleichen Tages. Auch für diese Werte konnte eine Signifikanz ermittelt werden. Dem offensichtlich kontinuierlichen Abfall der Tageshöchst- und -tiefstwerte für die Sf über die verschiedenen Tage konnte jedoch keinerlei statistische Signifikanz nachgewiesen werden.

3.2.8 HES, Bodenfraktion Bf 10% (Da), Infusionstage

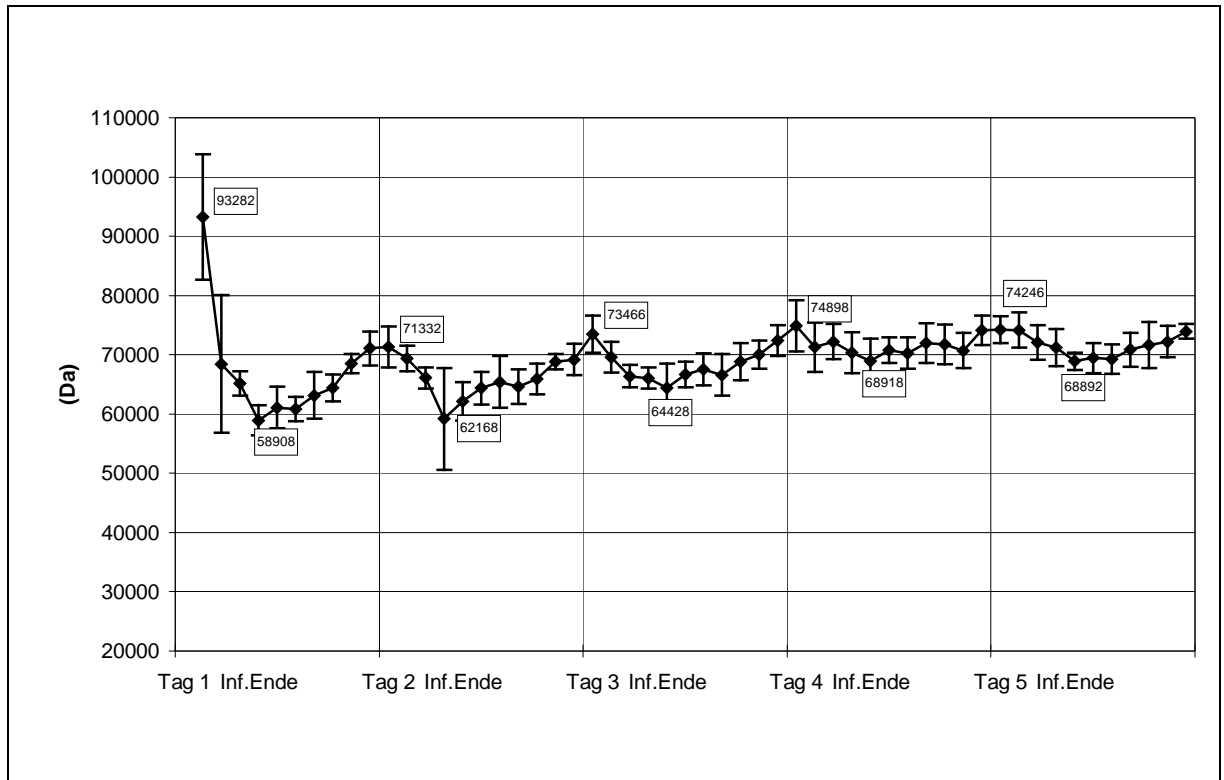


Abbildung 3.17: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Verlauf der Veränderungen der Bodenfraktion Bf 10% (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

	vor Inf.	30 min	60 min	120 min	Inf. Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag1		93282	68448	65128	58908	61104	60838	63138	64422	68502	71062
Tag2	71332	69408	66088	59166	62168	64366	65398	64584	65896	68830	69178
Tag3	73466	69592	66404	66078	64428	66670	67526	66614	68866	69982	72405
Tag4	74898	71286	72236	70314	68918	70808	70290	71968	71750	70710	74142
Tag5	74246	74144	72094	71232	68892	69464	69304	70846	71608	72208	73960

Tabelle 3.6: Infusionstage 1-5

Veränderungen der Bodenfraktion Bf 10% (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Die Bf 10% der Infusionslösung HES 450/0,7 lag bei 56.726 Da.

Der initiale Abfall der Bf von 1. Infusion 30min nach Infusionsende 1. Infusion war signifikant. Ebenso war der Abfall der Bf von Infusionsbeginn der übrigen Tage bis zum Ende der Infusionen der jeweiligen Tage signifikant. Der im Diagramm sichtbare Anstieg der Bf-Tagestiefstwerte über die Infusionstage war nicht signifikant gesichert, im Gegensatz zum Anstieg der Bf vom Tagesinfusionsende zur ersten Abnahme am folgenden Tag vor Infusion.

3.2.9 HES, Polydispersitätsquotient (Mw/Mn), Infusionstage

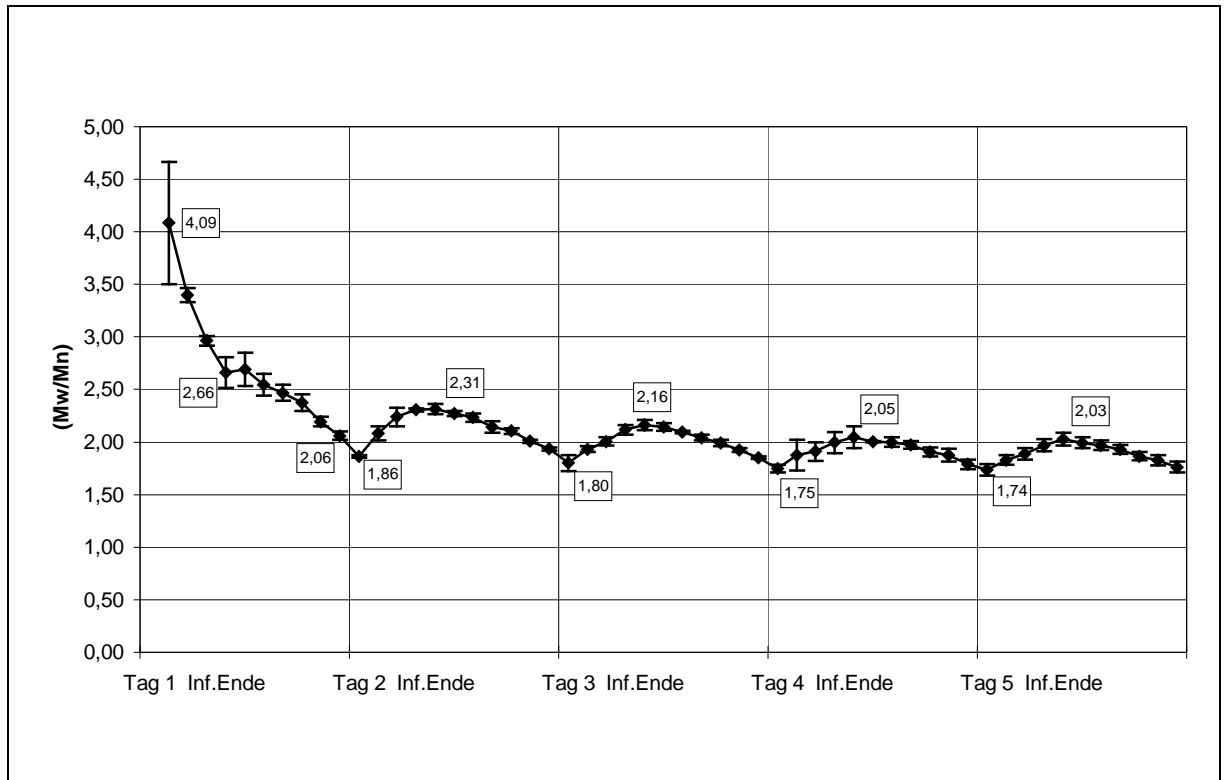


Abbildung 3.18: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Verlauf des Polydispersitätsquotienten von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

	vor Inf.	30 min	60 min	120 min	Inf. Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag 1		4,09	3,40	2,96	2,66	2,69	2,54	2,47	2,37	2,19	2,06
Tag 2	1,86	2,08	2,24	2,31	2,31	2,27	2,23	2,14	2,11	2,01	1,93
Tag 3	1,80	1,93	2,01	2,12	2,16	2,14	2,10	2,04	1,99	1,92	1,85
Tag 4	1,75	1,88	1,91	1,99	2,05	2,00	2,00	1,97	1,91	1,87	1,79
Tag 5	1,74	1,83	1,89	1,97	2,03	1,99	1,97	1,93	1,78	1,82	1,76

Tabelle 3.7: Infusionstage 1-5

Veränderungen des Polydispersitätsquotienten von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Der Polydispersitätsquotient der Infusionslösung HES 450/0,7 lag bei 4,37.

Insgesamt konnte ein kontinuierlicher Abfall des Polydispersitätsquotienten über die Infusionstage, einschließlich des Nachbeobachtungszeitraumes (graphisch nicht dargestellt) gesehen werden. Er betrug am Ende des Beobachtungszeitraumes, am Folgetag 31 1,38. Der initiale Abfall des Quotienten von 1. Infusion 30min zum Infusionsende war signifikant. Auch konnte der im Diagramm sichtbare Anstieg des Polydispersitätsquotienten von Infusionsbeginn zum Infusionsende über die Tage als signifikant dargestellt werden. Die Veränderung der Tagestiefstwerte über die Infusionstage, jeweils vor Infusion, lagen außerhalb des Signifikanzniveaus. Gleiches galt für die Tageshöchstwerte am Infusionsende über die Tage.

3.2.10 α -Amylase Serum (U/l), Infusionstage

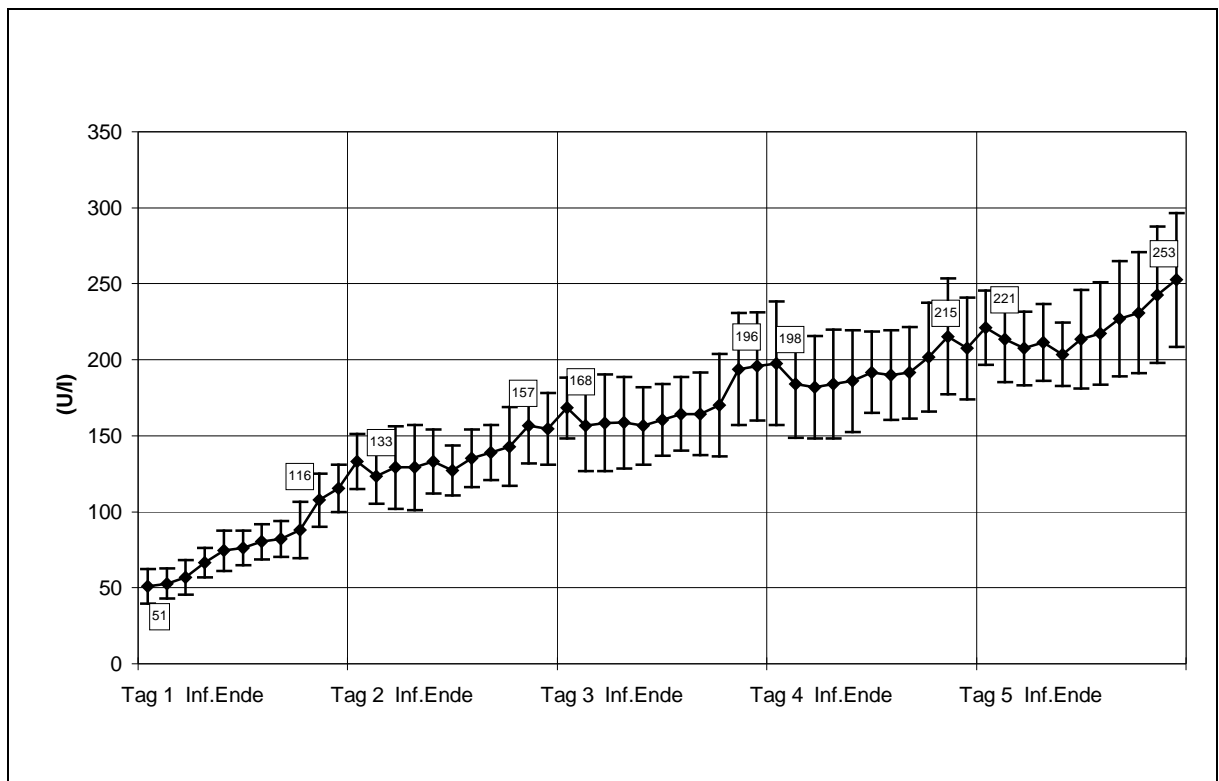


Abbildung 3.19: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Verlauf der α -Amylaseaktivität (U/l) im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

	vor Inf.	30 min	60 min	120 min	Inf. Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag 1	51	53	57	67	74	76	80	82	88	108	116
Tag 2	133	123	129	129	133	127	135	139	143	157	155
Tag 3	168	157	159	159	157	161	164	164	170	194	196
Tag 4	198	184	182	184	186	192	190	191	202	215	208
Tag 5	221	213	208	211	204	213	217	227	231	243	253

Tabelle 3.8: Infusionstage 1-5

Veränderung der α -Amylaseaktivität (U/l) im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Den kontinuierlichen Anstieg der Amylaseaktivität im Serum konnte anhand des Diagramms deutlich gesehen werden. Auffällig war die erhebliche Steigerung der Amylaseaktivität innerhalb des ersten Infusionstages. Sie betrug am Ende des ersten Tages das 2,27fache des Ausgangswertes vor 1. Infusion und am Ende des 5. Infusionstages das 5fache. Statistisch signifikant war dieser Anstieg ebenso wie der von vor 2. Infusion nach vor 3. Infusion. Alle anderen Veränderungen waren zwar sichtbar, jedoch nicht signifikant.

3.2.11 α -Amylase Serum (U/l), Folgetage

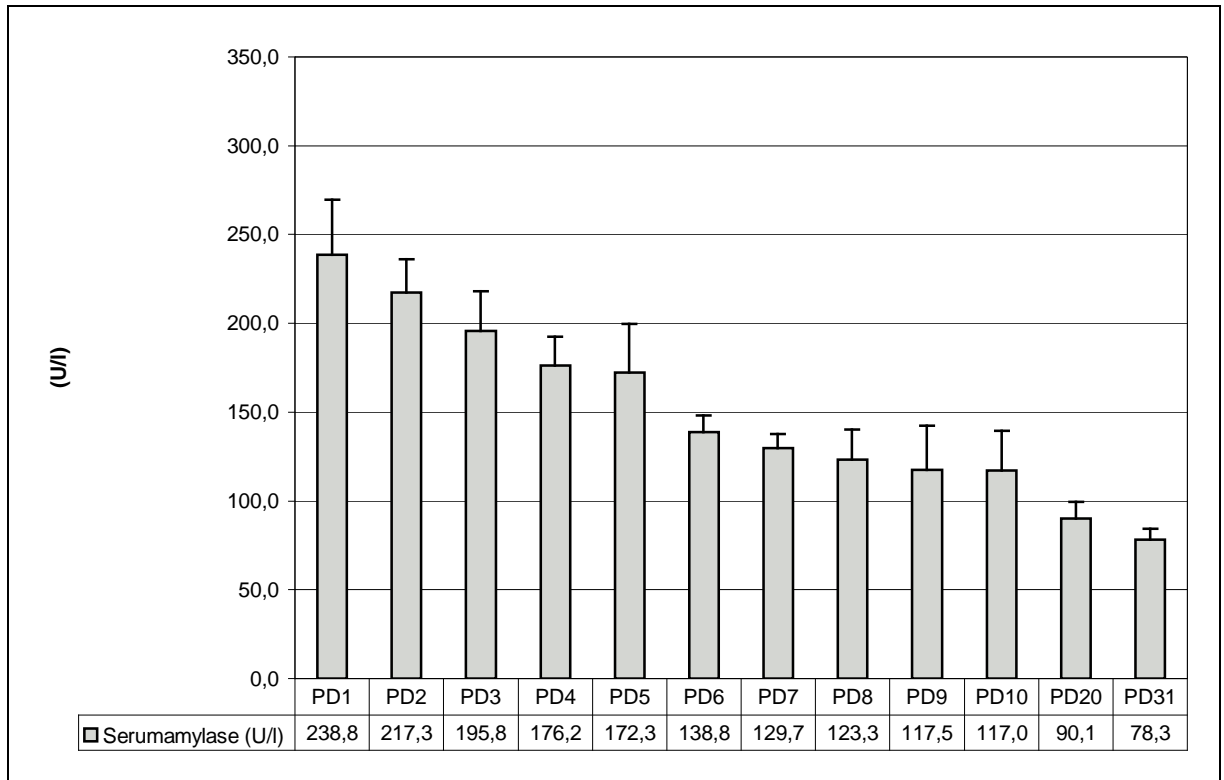


Abbildung 3.20: HES Infusion bei Probanden, Folgetage 1-31

Verlauf der α -Amylaseaktivität (U/l) im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Der Abfall der Aktivität der Serumamylase im Verlauf der Folgetage PD1-31 läßt sich anhand des obigen Diagramms gut veranschaulichen. Der kontinuierliche Abfall war allerdings nicht überall signifikant. Lediglich die Veränderungen von PD2 nach PD3, von PD3 nach PD4, von PD5 nach PD6, PD10 nach PD20 und PD20 nach PD31 lagen innerhalb des Signifikanzniveaus.

Der Ausgangswert der Amylaseaktivität im Serum konnte selbst am Ende des Beobachtungszeitraumes, am PD31, nicht erreicht werden und so lag auch zu diesem Zeitpunkt die Aktivität signifikant über der vor 1. Infusion.

3.2.12 Hämoglobin im Blut (g/dl), Infusionstage

Um den Verlauf des Dilutionseffektes besser darstellen zu können, wurden die Hb-Werte als Veränderungen in Prozent des Ausgangswertes vor 1. Infusion dargestellt.

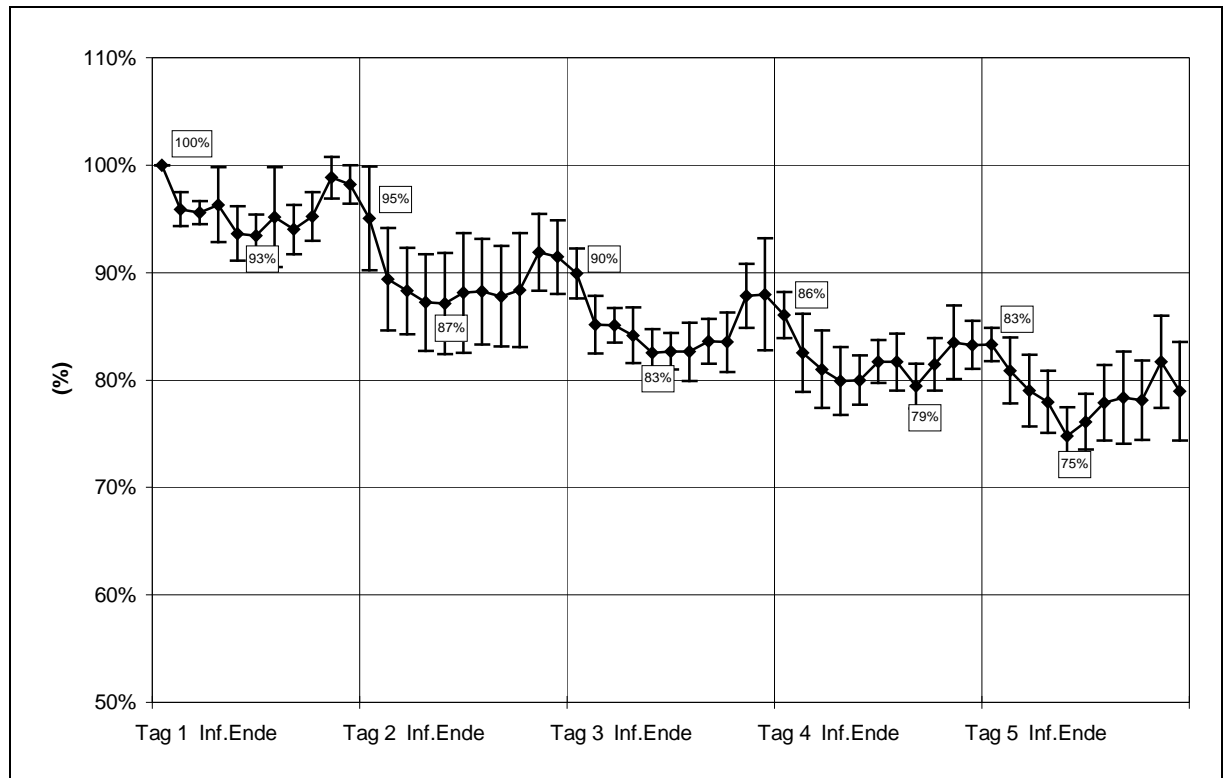


Abbildung 3.21: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Veränderungen des Hämoglobin in Prozent vom Wert vor 1. Infusion nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Hb (g/dl)	vor Inf.	30 min	60 min	120 min	Inf. Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag1	15,0±0,7	14,4±0,6	14,3±0,7	14,4±0,7	14,1±1	14,0±0,9	14,3±1	14,1±0,7	14,3±0,7	14,8±0,6	14,7±0,4
Tag2	14,2±0,7	13,4±0,4	13,2±0,3	13,1±0,5	13,1±0,8	13,2±0,8	13,2±0,8	13,2±0,8	13,3±0,7	13,8±0,7	13,7±0,5
Tag3	13,5±0,6	12,8±0,5	12,8±0,5	12,6±0,6	12,4±0,7	12,4±0,6	12,4±0,8	12,5±0,6	12,5±0,5	13,2±0,4	13,2±0,8
Tag4	12,9±0,6	12,4±0,4	12,1±0,6	12,0±0,7	12,0±0,7	12,3±0,7	12,3±0,8	11,9±0,7	12,2±0,7	12,5±0,6	12,5±0,5
Tag5	12,5±0,6	12,1±0,5	11,8±0,5	11,7±0,4	11,2±0,6	11,4±0,7	11,7±0,7	11,8±0,9	11,7±0,4	12,2±0,7	11,8±0,5

Tabelle 3.9: Infusionstage 1-5

Veränderungen der Hämoglobinkonzentration (g/dl) zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Über die fünf Infusionstage konnte eine kontinuierliche Abnahme des Hämoglobins beobachtet werden. Die prozentualen Veränderungen im Bezug zum Ausgangswert vor 1. Infusion waren allerdings nur im Vergleich der Abnahmezeitpunkte vor 3. Infusion bis vor 4. Infusion und vor 4. Infusion bis vor 5. Infusion signifikant. Die anderen prozentualen Veränderungen ließen zwar eine Tendenz in Richtung des Dilutionseffektes erkennen, jedoch waren diese nicht signifikant zu belegen. Eine statistisch signifikante prozentuale Veränderung des Hb konnte noch für die Zeitpunkte Infusionsende der Tage 3-5 zu den nächsten Tage jeweils vor Infusion beobachtet werden, während diese an den Tagen 1 und 2 nicht signifikant war.

3.2.13 Hämoglobin im Blut (g/dl), Folgetage

Auch hier wurden die Veränderungen zur besseren Darstellung des Dilutionseffektes in Prozent zum Wert vor 1. Infusion ins Verhältnis gesetzt.

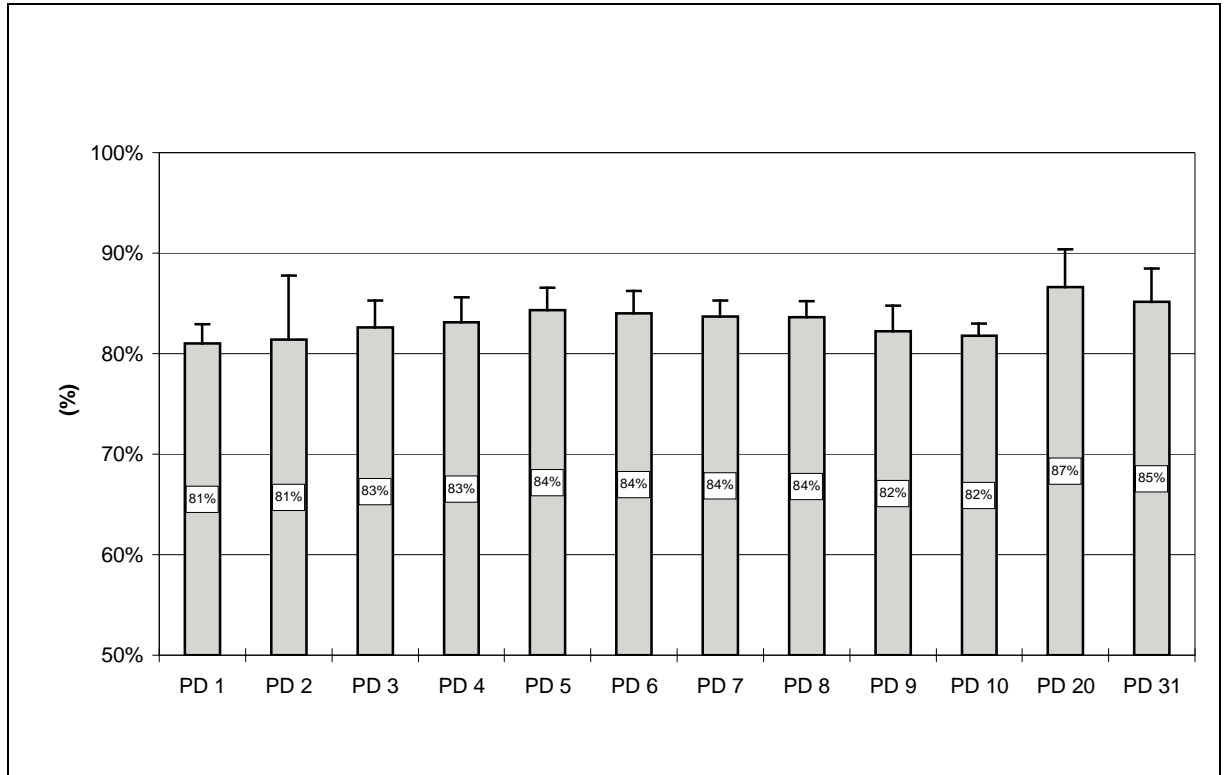


Abbildung 3.22: HES Infusion bei Probanden, Folgetage 1-31

Veränderung des Hämoglobin in Prozent vom Wert vor 1. Infusion nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Folgetag	PD 1	PD 2	PD 3	PD 4	PD 5	PD 6	PD 7	PD 8	PD 9	PD 10	PD 20	PD 31
Hb (g/dl)	12,2±0,8	12,2±1,4	12,4±0,3	12,5±0,6	12,6±0,4	12,6±0,6	12,5±0,4	12,5±0,6	12,3±0,7	12,3±0,5	13,0±1	12,8±0,5

Tabelle 3.10: Folgetage 1-31

Veränderung der Hämoglobinkonzentration (g/dl) nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Die Veränderungen des Hämoglobin über die Folgetage 1-10, 20 und 31 ließen einen leichten Anstieg im Verlauf erkennen. Signifikant waren die Steigerungen von Folgetag zu Folgetag allerdings nicht.

Am Ende des Beobachtungszeitraumes, an den Folgetagen 20 und 31, lagen die Werte des Hb noch deutlich, statistisch auch signifikant, unter dem vor 1. Infusion. Der Ausgangswert wurde somit innerhalb der Folgetage nicht wieder erreicht.

3.2.14 Hämatokrit des Blutes (%), Infusionstage

Die Werte des Hämatokrit wurden der Übersicht und Vergleichbarkeit wegen ebenfalls in prozentualen Veränderungen vom Wert vor 1. Infusion dargestellt.

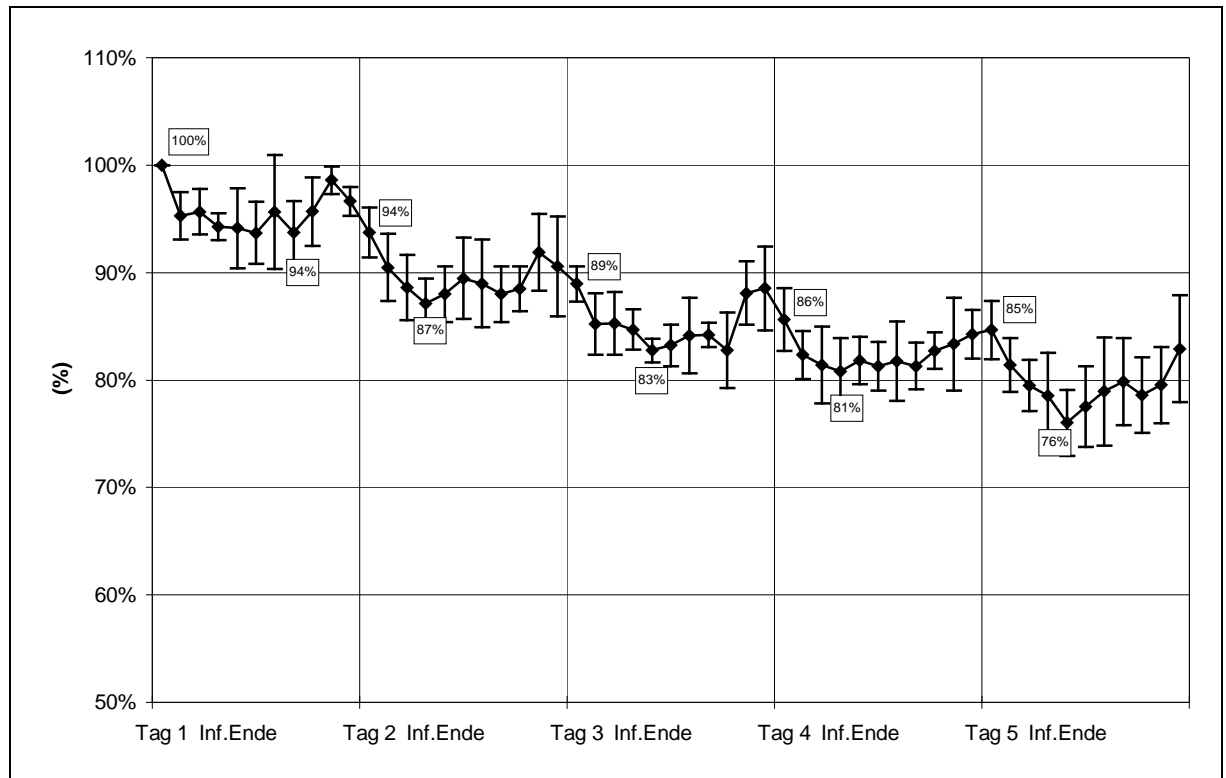


Abbildung 3.23: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Veränderungen des Hämatokrit in Prozent vom Wert vor 1. Infusion nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

HKT (%)	vor Inf.	30 min	60 min	120 min	Inf. Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag 1	42±2	40±1	40±2	39±2	39±3	39±3	40±3	39±2	40±2	41±2	40±2
Tag 2	39±2	38±2	37±1	36±1	37±2	37±2	37±2	37±2	37±2	38±2	38±1
Tag 3	37±2	36±2	36±1	35±2	35±2	35±2	35±3	35±2	35±2	37±1	37±2
Tag 4	36±2	34±1	34±2	34±2	34±2	34±2	34±2	34±2	35±2	35±1	35±1
Tag 5	35±1	35±2	34±1	33±1	33±2	32±2	32±2	33±2	33±1	33±1	35±1

Tabelle 3.11: Infusionstage 1-5

Hämatokritwerte (%) zu den jeweiligen Abnahmezeitpunkten nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Im Verlauf der ersten drei Infusionstage fiel der Hämatokrit deutlich stärker als in den folgenden beiden Infusionstagen 4 und 5. Die prozentualen Veränderungen des HKT von Tag zu Tag vor Infusion waren signifikant. Für den nur leichten Abfall von Tag 4 zu Tag 5 konnte keine Signifikanz festgestellt werden.

Der Anstieg der prozentualen Veränderung des HKT vom Infusionsende des einen Tages zum nächsten Tag vor Infusion war an den Tagen 3-5 signifikant. An den Tagen 1 und 2 lagen die Veränderungen außerhalb des Signifikanzniveaus.

3.2.15 Plasmaviskosität (mPa*s), Infusionstage

Auch zur Darstellung der Plasmaviskosität wurde die graphische Darstellung nach Veränderungen in Prozent vom Ausgangswert vor 1. Infusion gewählt, um eine Vergleichbarkeit mit den anderen Daten zu gewährleisten.

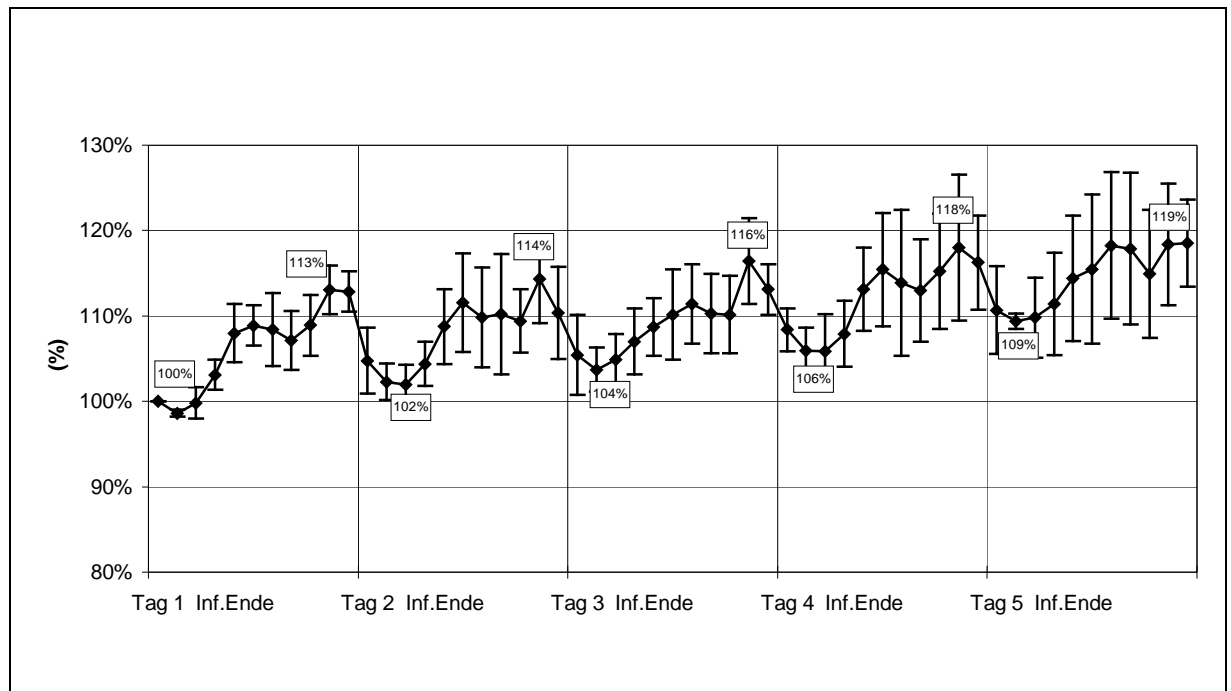


Abbildung 3.24: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Veränderungen der Plasmaviskosität in Prozent vom Wert vor 1. Infusion nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

PV (mPa*s)	vor Inf.	30 min	60 min	120 min	Inf. Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag 1	1,15±0,03	1,13±0,03	1,15±0,04	1,19±0,04	1,24±0,05	1,25±0,03	1,25±0,04	1,23±0,04	1,25±0,03	1,30±0,04	1,30±0,05
Tag 2	1,20±0,03	1,18±0,02	1,17±0,03	1,20±0,02	1,25±0,04	1,28±0,05	1,26±0,05	1,27±0,07	1,26±0,04	1,31±0,05	1,27±0,04
Tag 3	1,21±0,05	1,19±0,02	1,21±0,03	1,23±0,03	1,25±0,03	1,27±0,05	1,28±0,04	1,27±0,05	1,27±0,03	1,34±0,04	1,30±0,02
Tag 4	1,25±0,02	1,22±0,01	1,22±0,03	1,24±0,02	1,30±0,04	1,33±0,05	1,31±0,08	1,30±0,05	1,32±0,06	1,36±0,08	1,34±0,05
Tag 5	1,27±0,04	1,26±0,03	1,26±0,04	1,28±0,05	1,31±0,06	1,33±0,08	1,36±0,07	1,35±0,0	1,32±0,06	1,36±0,06	1,32±0,06

Tabelle 3.12: Infusionstage 1-5

*Veränderungen der Plasmaviskosität (mPa*s) zu den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7*

Im Verlauf eines Infusionstages stiegen die prozentualen Veränderungen der Plasmaviskosität im Schnitt um 10% des Wertes vor Infusionsbeginn. Es kam dabei über alle Tage zu einem signifikanten Anstieg im Vergleich der Werte vor Infusion und der Spitzenwerte 4h nach Infusionsende.

Ein Vergleich der Tagestiefst- und Höchstwerte erbrachte zwar einen tendenziellen Anstieg, doch war dieser Trend nicht als statistisch signifikant zu sichern.

3.2.16 KOD des Blutes (mmHg), Infusionstage

Wie schon bei den vorangegangenen Parametern wird der KOD ebenfalls als prozentuale Veränderung vom Wert vor 1. Infusion dargestellt.

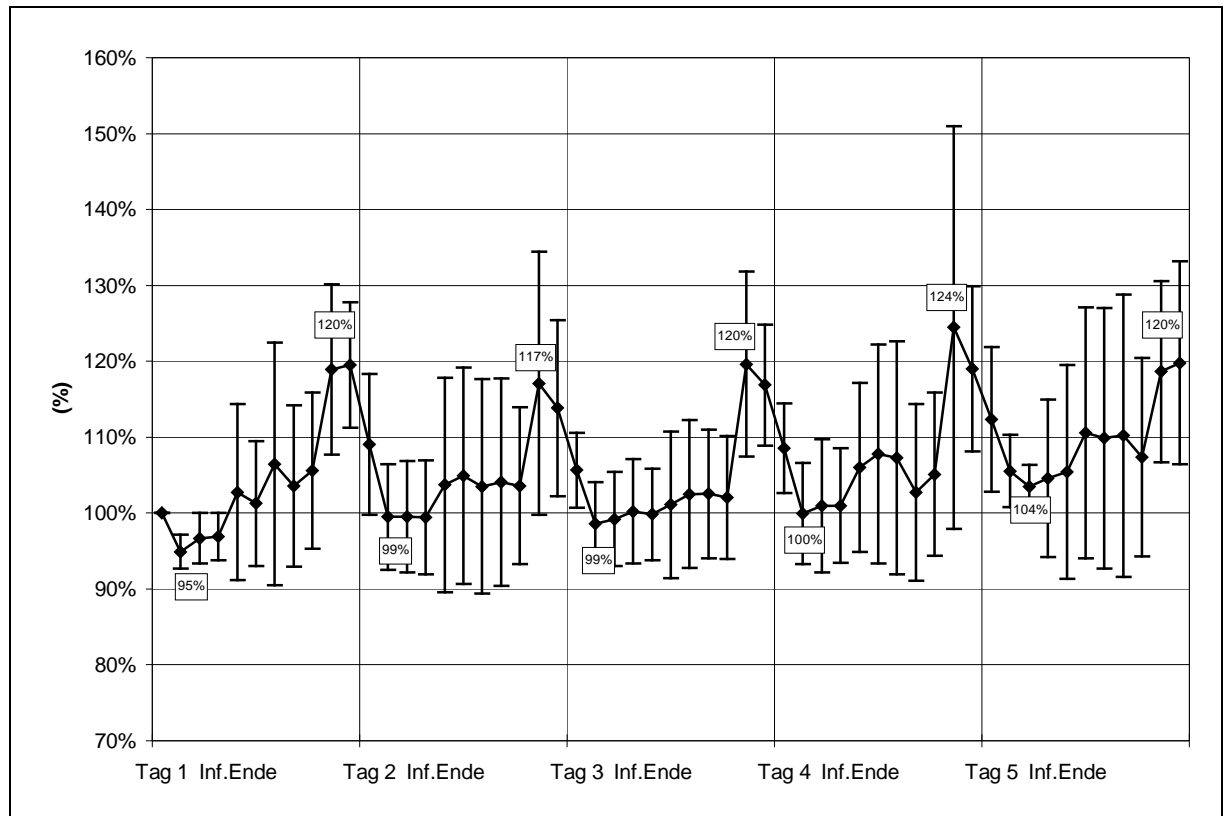


Abbildung 3.25: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5

Veränderungen des KOD in Prozent vom Wert vor 1. Infusion nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

KOD (mmHg)	vor Inf.	30 min	60 min	120 min	Inf. Ende	+15 min	+30 min	+60 min	+120 min	+240 min	+420 min
Tag 1	23,0±1,9	21,8±1,7	22,2±1,8	22,2±1,8	23,4±0,9	23,1±0,8	24,2±1,9	23,6±1,2	24,1±1,3	27,1±1,5	27,3±1,1
Tag 2	24,9±0,4	22,7±0,8	22,7±0,9	22,7±1,0	23,5±1,2	23,8±1,4	23,5±1,3	23,6±1,2	23,6±1,5	26,6±3,0	26,0±2,3
Tag 3	24,2±1,2	22,6±1,4	22,7±1,4	22,9±1,4	22,8±1,1	23,0±0,7	23,4±0,8	23,4±1,8	23,3±1,6	27,3±2,5	26,8±2,2
Tag 4	24,8±1,2	22,9±1,7	23,1±1,7	23,1±1,0	24,2±1,8	24,5±1,3	24,3±1,4	23,4±1,0	24,0±1,4	28,1±3,8	27,1±1,2
Tag 5	25,6±0,7	24,2±2,0	23,7±1,5	23,8±0,6	23,9±1,1	25,1±1,7	24,9±1,9	25,0±2,1	24,4±1,8	27,0±0,9	27,3±1,1

Tabelle 3.13: Infusionstage 1-5

Veränderungen des KOD (mmHg) zu den jeweiligen Abnahmezeitpunkten nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7

Im Verlauf der fünf Infusionstage fiel der KOD vom letzten, bzw. vorletzten Abnahmezeitpunkt des Infusionstages bis zum 2. Abnahmezeitpunkt (Infusion 30min) des folgenden Tages, während über den Rest des Tages, vor allem im infusionsfreien Intervall ein kontinuierlicher, wenn auch nicht überall statistisch signifikanter, Anstieg messbar war. Der im Diagramm sichtbare Anstieg der prozentualen Veränderung des KOD konnte nur für Infusionstag 1 vor Infusion bis Ende Infusion +240min als signifikant bestätigt werden. An den übrigen Tagen lag der Vergleich dieser beiden Zeitpunkte außerhalb des Signifikanzniveaus.

4 Diskussion

Im Zuge einer relativ breit geführten Diskussion bezüglich des Einsatzes von Hydroxyethylstärke als kolloidales Infusionsmittel fällt bei genauerer Betrachtung der bisher veröffentlichten Literatur auf, dass gerade zu hochmolekularen, hochsubstituierten HES-Lösungen, wie die hier untersuchte HES 450/0,7, sehr wenig fundierte Untersuchungen erfolgt sind. Dies ist insoweit sehr bedauerlich, da dieses Präparat in Europa, vor allem in der angelsächsischen Region, noch immer verbreitet ist. In den USA ist die hochmolekulare, hochsubstituierte Hestarch, u.a. vertrieben unter dem Handelsnamen Hespan®, sogar die einzige zugelassene Hydroxyethylstärke (*Treib et al., 1999*). Anders sieht die Situation in den deutschsprachigen Ländern Europas aus. Hier gilt nach wie vor die HES 200/0,5 als Goldstandard (*Treib et al., 1999*). Dementsprechend gibt es auch sehr viele Studien, die sich mit den physikochemischen Eigenschaften dieser mittelmolekularen, mittelsubstituierten HES beschäftigen. Nachteilig erscheint dieses noch vorliegende Informationsdefizit hinsichtlich einiger Berichte über Blutungskomplikationen nach Anwendung von größeren Mengen HES 450/0,7 (*Lockwood et al., 1988; Knutson et al., 2000*) sowie Studien, die über auftretende Speicherphänomene und deren daraus eventuell entstehenden Nebenwirkungen berichten (*Ginz et al., 1998; Steen, 1985; Sirtl et al., 1999*). Diese Nebenwirkungen von hochsubstituierter HES werden auch in der einschlägigen Literatur häufig verallgemeinert und auf mittelsubstituierte HES übertragen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, die komplexe Pharmakokinetik von HES 450/0,7 bei wiederholter Infusion anhand einiger für dieses Polymergemisch charakteristischer Merkmale, wie der molaren Substitution (MS) und des C2/C6-Verhältnis im Urin sowie der Konzentration von HES und der Molmassenverteilung im Serum, zu veranschaulichen. Der Schwerpunkt lag dabei auf der gaschromatographischen Analytik der im Urin ausgeschiedenen HES-Moleküle, wobei Veränderungen anderer klinisch relevanter Parameter parallel mituntersucht wurden. Auf gesundheitliche Risiken, bedingt durch die pharmakologischen Eigenschaften der HES 450/0,7, soll ebenfalls eingegangen werden.

4.1 HES im Serum

4.1.1 HES-Konzentration im Serum und Halbwertszeit

Wie aus den Abb.3.10 und 3.11 sowie Tab.3.2 ersichtlich ist, stieg die HES-Konzentration im Serum über die Infusionstage kontinuierlich bis auf einen Spitzenwert von 16,26mg/ml an, während sie im darauffolgenden Beobachtungszeitraum bis zum Nachfolgetag 31 laufend

abfiel, ohne jedoch den Ausgangswert (d.h. den Leerwert von 0,06mg/ml) vor 1. Infusion zu erreichen. Eine komplette Elimination der infundierten HES war somit bis dahin nicht erfolgt. Für eine nur näherungsweise zu bestimmende absolute HES-Menge im Serum wurde ein Plasmavolumen von 42ml/kg KG angenommen (*Pschyrembel*). Der hieraus errechnete Wert für die absolute HES-Menge im Serum am Folgetag 3 lag bei 34,80g. Wie aus Abb.3.12 ersichtlich verlängerte sich die Halbwertszeit der HES im Serum über die Infusionstage zunehmend und erreichte einen Spitzenwert von 228,73h im Verlauf der Nachfolgetage 1-10.

Eine frühere, im Design vergleichbare Studie mit niedersubstituierter und hochsubstituierter HES wie die hier durchgeführte, erbrachte ähnliche Ergebnisse hinsichtlich der Serumkonzentrationen der infundierten HES (*Asskali und Förster, 1999*). Dort wurde das pharmakokinetische Verhalten von zwei HES-Lösungen gleichen Molekulargewichts mit unterschiedlicher molarer Substitution miteinander verglichen (10%ige HES 200/0,5 und 6%ige HES 200/0,62). Es fiel auf, dass die Serumkonzentrationen während der Infusionstage und auch in der Nachbeobachtungsphase bis Tag 30 nach Infusion bei der hochsubstituierten HES 200/0,62 deutlich höher waren als bei der niedriger substituierten HES 200/0,5. Dabei ist besonders zu betonen, dass die täglich infundierte HES-Menge bei der niedriger substituierten HES sogar deutlich größer war (50 vs. 30g). Zurückzuführen ist dies auf eine positive Korrelation der Elimination mit der höheren molaren Substitution. Durch diese höhere Substitution soll eine Aufspaltung der HES-Moleküle im Serum erschwert und die anschließende renale Elimination verzögert werden, was letztendlich zu einer erhöhten Serumkonzentration von HES und einer deutlich verlängerten Halbwertszeit führt (*Asskali und Förster, 1999; Asskali 1988*).

Präparat	1.Infusion	2.Infusion	3.Infusion	4.Infusion	5.Infusion
HES 70/0,5-0,55 (5*50g)	5,95	7,07	7,95	8,92	10,06
HES 200/0,5 (5*50g)	5,62	6,47	6,64	8,32	8,07
HES 200/0,62 (5*30g)	8,58	12,14	14,92	20,42	28,48
HES 450/0,7 (5*28g)	34,17	47,25	70,52	73,84	83,06

Tabelle 4.1: Halbwertszeiten (h) verschiedener HES-Lösungen nach Mehrfachinfusion an 5 aufeinanderfolgenden Tagen
HES 200/0,5 und 200/0,62 aus Asskali und Förster (1999); HES 70/0,5 aus Lehmann (2001), HES 450/0,7 aus eigenen Untersuchungen

Anhand der voranstehenden Tabelle kann abgeleitet werden, dass die Halbwertszeiten eng mit der molaren Substitution verknüpft sind. Gleiche Substitution führt zu annähernd identischen Halbwertszeiten (s.a. HES 70/0,5 und HES 200/0,5), während das Molekulargewicht als physikalisch-chemisches Merkmal eine untergeordnete Rolle bei der Elimination zu spielen scheint. Aufgrund des polydispersen Charakters der HES-Lösungen werden Moleküle mit einem Molekulargewicht unterhalb der Nierenschwelle von 40.000 Dalton (Da) relativ schnell renal eliminiert, während die größeren Moleküle vorerst im Serum verbleiben (*Förster et al., 2001*). Die im Serum verbliebenen HES-Moleküle werden dann in Abhängigkeit der Verteilung und Anzahl ihrer Hydroxyethylgruppen entweder intravasal oder auch intrazellulär im RES zu kleineren nierengängigen Bruchstücken abgebaut. Über die Zeit gesehen findet man im Serum HES-Moleküle, die höher substituiert sind als die initial infundierte HES (*Fömmel, 1994; Förster und Asskali, 1998*). Dies führt wiederum dazu, dass die Elimination der HES aus dem Serum umso langsamer verläuft, je weiter die Messpunkte von der Applikation entfernt sind. Ein Indiz dafür ist zum einen die kontinuierliche Zunahme der minimalen und der maximalen HES-Serumkonzentration während der einzelnen Infusionstage. Zum anderen spricht auch die schon angedeutete zunehmende Verlängerung der Halbwertszeit während dieses Zeitraumes dafür.

Der kumulative Anstieg der HES-Serumkonzentration sowie die zunehmende Verlängerung der Halbwertszeiten, wie in der vorliegenden Studie beobachtet, ist nicht überraschend. Sogar nach Einfachapplikation von lediglich 30g HES 450/0,7 konnten 10 Tage nach Infusion noch immer etwa 5% der infundierten Menge nachgewiesen werden (*Förster et al., 1981*). Diese als „persistierende“ Fraktion bezeichnete HES ist somit insbesondere charakteristisch für hochsubstituierte HES-Präparate (*Förster und Asskali, 1998*). Offensichtlich erfolgt vorrangig die Elimination der geringer substituierten HES. Die Kumulation von hochsubstituierter HES nach wiederholter Applikation ist klinisch relevant, da es akut durch „Volumenüberexpansion“ zu Kreislaufbelastungen und vor allem aber auch zu Blutungen kommen kann (*Förster und Asskali, 1998*). Des Weiteren erscheint auch das vielfach beschriebene Auftreten von therapieresistentem Pruritus nach mehrfacher Applikation von HES von pathophysiologischer Bedeutung für die klinische Anwendung zu sein, gerade wenn die Gabe von größeren Mengen HES erforderlich ist (*Sirtl et al., 1999; Metze et al., 1997*).

Es konnte nachgewiesen werden, dass es zu einer Speicherung von HES nicht nur in Zellen des RES kommt. Auch in Endothelzellen, Keratinozyten, Schweißdrüsenepithel und Hautnerven soll eine Ablagerung von HES-Molekülen erfolgen (*Ständer et al., 2001*). Dabei wird eine direkte Abhängigkeit des Juckreizes mit der Speicherung in neuronalen Schwann-Zellen,

Zellen des Endo- und des Perineuriums vermutet, ohne dass es hierbei zu einer Entzündung, Degranulation von Mastzellen oder Aufnahme der HES in Gewebsmakrophagen kommen soll (*Ständer et al., 2001*). Dies spräche für eine direkte negative Wirkung von gespeicherter HES, vermutlich mechanisch bedingt, auf die peripheren Nerven. Ein weiteres Indiz hierfür ist das Verschwinden des Pruritus, sobald die neuronalen Speicherungen nicht mehr nachgewiesen werden konnten (*Metze et al., 1997*).

In einer weiteren Studie von Sirtl et al. (*1999*), bei der zwei Patientengruppen miteinander verglichen wurden, die jeweils unterschiedliche Mengen HES erhalten hatten, konnten deutliche Parallelen zu den vorher beschriebenen Ergebnissen festgestellt werden. Das eine Patientenkollektiv erhielt insgesamt maximal lediglich 2g HES/kg KG, während die andere Gruppe zwischen 3 und 15g HES/kg KG innerhalb mehrerer Tage erhalten hatte. Bei den eingesetzten HES-Präparaten handelte es sich in der ersten Patientengruppe mit der niedrigeren HES-Dosis um HES 200/0,5 (eingesetzte Mengen von 0,52 - 1,86g HES/kg KG) sowie HES 450/0,7 (0,34-0,56g HES/kg KG). In der Gruppe mit der wesentlich höheren HES-Dosis wurde HES 200/0,5 (3,22-15g HES/kg KG) und HES 200/0,6 (3,10g HES/kg KG) eingesetzt. Im Gegensatz zur ersten Gruppe, die absolut beschwerdefrei blieb, kam es in der zweiten Gruppe in 90 % der Fälle zum Auftreten von schwerem Pruritus. Interessant erscheint hierbei, gerade im Vergleich mit den übrigen vorgestellten Ergebnissen, die Dosis der verabreichten HES, die in etwa nötig ist um einen Juckreiz auszulösen. Diese kumulative Dosis soll insgesamt etwa bei 210g HES liegen. Unterhalb dieser Menge sind keine Berichte über auftretenden Pruritus bekannt geworden (*Ständer et al., 2001; Metze et al., 1997*). Bedauerlicherweise wurde in diesen beiden Studien dem einzelnen Patienten verschiedene HES-Lösungen infundiert, so dass eine genaue Zuordnung für die Mengenangabe von 210g HES, unterhalb derer kein Pruritus beobachtet wurde, zu einer bestimmten HES nicht möglich war. Geht man dennoch davon aus, dass die Speicherung von HES eine substanzspezifische Eigenschaft ist und legt man ein durchschnittliches Patientengewicht von 75kg zugrunde, so liegt die geringste applizierte kumulative Dosis von HES insgesamt bei 2,8g/kg KG, bei der erste Berichte über einen Juckreiz vorliegen. Demzufolge kam es in der zweiten Gruppe, der von Sirtl et al. (*1999*) vorgestellten Studie, zu einer massiven Überdosierung von HES, gerade im Hinblick auf die Applikation von 15g/kg KG, was einer kumulativen Dosis von 1,125kg HES (bei 75kg schweren Patienten) entspricht.

Die Problematik der HES-Dosierung liegt sowohl in der im Serum auftretenden Kumulation sowie in der intrazellulären Speicherung, die beide umso stärker ausgeprägt sind, je höher das Präparat substituiert ist. Die Untersuchungsergebnisse entsprechen nicht der allgemeinverbrei-

teten Vorstellung, dass einige Tage nach Infusion von HES wieder Serumkonzentrationen erreicht werden, die gegen Null gehen, vielmehr findet man bei Verwendung von hochsubstituierter HES noch Wochen später einen nicht unerheblichen Teil der infundierten Menge im Serum, der als persistierende Fraktion bezeichnet wird. Dementsprechend kommt es, wie bei der vorliegenden Studie auch schon beobachtet, bei wiederholten Infusionen zu einem allmählichen Anstieg der HES-Serumkonzentration auf Werte, die als pathologisch überhöht angesehen werden müssen.

Vor dem Hintergrund der Kumulation von HES im Serum bei Verwendung von hochsubstituierter HES müssen auch die in der Roten Liste aufgeführten Dosierungsrichtlinien für HES 450/0,7 (und ebenso für HES 200/0,6) kritisch hinterfragt werden. Folgt man diesen Richtlinien, so wäre eine tägliche Applikation von 1,2g/kg KG, bzw. eine Gesamtmenge von 90g/d HES 450/0,7 im Bereich der empfohlenen Applikationsmenge. Diese Dosierung muss durch Kumulation bei Mehrfachapplikation allerdings über eine Volumenexpansion zwangsläufig zu den oben schon beschriebenen Blutungskomplikationen sowie dem Auftreten von Pruritus führen. Es ist demzufolge dringend erforderlich die zulässigen Höchstdosierungen insbesondere für die verschiedenen hochsubstituierten HES-Präparate (HES 200/0,62 und HES 450/0,7) zu überarbeiten und ihren jeweiligen unterschiedlichen pharmakokinetischen und -dynamischen Eigenschaften anzupassen. Erst dann können dem klinischen Anwender auch sinnvolle Dosierungsrichtlinien an die Hand gegeben werden, damit eine Überdosierung gerade mit den höher substituierten HES-Präparaten unterbleibt.

4.1.2 Molmassenverteilung von HES 450/0,7 im Serum

Nachdem das pharmakokinetische Verhalten mittelmolekularer, mittelsubstituierter HES-Lösungen schon in verschiedenen Studien (*Asskali und Förster, 1999; Jung et al., 1993*) untersucht worden war, konnte in der vorliegenden Arbeit erstmals auch die intravaskulären Veränderungen des Molekulargewichts bei einer hochsubstituierten, hochmolekularen HES 450/0,7 beschrieben werden. Eine genauere Betrachtung der Veränderungen, welche die HES-Moleküle im Serum erfahren und deren Ursachen erscheint für das Verständnis der HES-Metabolisierung gerade für die hochsubstituierten, hochmolekularen HES-Varianten von großer Bedeutung. So können Rückschlüsse auf entstehende Serumkonzentrationen, eventuelle Speicherphänomene und andere Nebenwirkungen wie beispielsweise Blutungskomplikationen gezogen werden. Wichtige Parameter für die Pharmakodynamik und -kinetik der infundierten HES sind das mittlere Molekulargewicht (M_w), das Zahlenmittel, der Median (M_n), die Spitzenfraktion (S_f), die Bodenfraktion (B_f) und der Polydispersitätsquotient (M_w/M_n).

Im Gegensatz zu Albumin, das sich durch ein einheitliches Molekulargewicht auszeichnet, sind Gelatine-, Dextran- und HES-Präparate polydisperse Lösungen, die eine Vielzahl unterschiedlich großer Moleküle enthalten. Während für Gelatine- und Dextranpräparate ausschließlich das Molekulargewicht für die pharmakokinetischen Eigenschaften verantwortlich gemacht werden kann, liegt der Schwerpunkt bei den HES-Präparaten vor allem auf der molaren Substitution, die Einfluß auf den Abbau der infundierten HES hat und somit wiederum auf die Molekülgröße einwirkt und damit das intravaskuläre Molekulargewicht beeinflusst (*Förster und Asskali, 1999; Förster et al., 2001*). Wichtigste Kenngrößen der Molekulargewichtsverteilung sind das mittlere Molekulargewicht (M_w) und das Zahlenmittel, der Median (M_n). Das M_w kann erheblich vom M_n abweichen. Ein im Verhältnis zum M_w sehr niedriger Median zeigt an, dass sich in der HES-Lösung ein größerer niedermolekularer Anteil befindet. Dies führt zu einer sehr breiten Streuung der Molekulargewichtsverteilung. Vergleiche polydisperser Lösungen ausschließlich nach dem M_w sind somit ungenau und unzulässig. Es kann durchaus sein, dass eine Lösung, die viele große und viele kleine Moleküle enthält, den gleichen M_w hat wie eine sehr eng geschnittene Lösung, in der überwiegend gleichgroße Moleküle vorliegen.

Als Gütezeichen für eine „enge“ Verteilung wurde deshalb der Polydispersitätsquotient (M_w/M_n) eingeführt (*Förster und Asskali, 1998*). Ein niedriger Quotient, als Charakteristikum einer eng geschnittenen HES, zeichnet eine in einem aufwendigeren Verfahren hergestellte höherwertige HES aus, bei welcher der nierengängige, niedermolekulare Anteil gering gehalten wird. Für eine statistische Normalverteilung weicht der Polydispersitätsquotient weniger von 1 ab, je mehr M_n und Mittelwert sich annähern. Beispielsweise gilt für ein Protein wie Albumin der Quotient 1, da alle Albuminproteine das identische Molekulargewicht haben. Je größer dieser Quotient ist, desto stärker ist auch die Abweichung der verschiedenen Molekülgrößen von einer Normalverteilung. Die vorliegenden Ergebnisse sind unter den vorgenannten Kriterien zu interpretieren und Folgerungen für die klinische Anwendung zu ziehen.

Aus den Abb.3.13 und 3.14 ist ersichtlich, dass während der Infusion M_w an allen Infusionstagen um etwa 35.000 Da ansteigt, dieser Wert bis zum nächsten Morgen erneut um 40.000-60.000 Da abfällt. Lediglich Infusionstag 1 zeigte einen etwas anderen Verlauf. Hier kam es zu einem sprunghaften Anstieg des M_w 30min nach Beginn der ersten Infusion. Im weiteren Verlauf des Tages fiel dieser Wert kontinuierlich bis auf einen Wert von 242.140 Da. Erklärt wird dieser Verlauf dadurch, dass vor der ersten Infusion noch kein HES im Serum vorhanden sein konnte. Mit der ersten Infusion wurde dann sofort sehr hochmolekulare HES, die noch

breit geschnitten war (erkennbar am höheren Polydispersitätsquotienten) und dementsprechend auch einen größeren Anteil an niedermolekularer, nierengängiger HES enthielt infundiert. Es kam somit zu einer schnellen renalen Elimination der niedermolekularen Fraktion und einer Aufspaltung der großen HES-Moleküle. Diese Aufspaltung gelang bis auf eine Molekülgröße der HES von 242.140 Da. Im Nachbeobachtungszeitraum kam es zu einem stetigen Abfall bis auf einen Wert von 183.375 Da. Ein ähnlicher Verlauf während der Infusionstage konnte, wie in Abb.3.16 ersichtlich, auch für die Spitzenfraktion (Sf) mit einem Abfall von ursprünglich 892.560 Da auf einen Wert von 479.380 Da am Ende der fünf Infusionstage aufgezeigt werden. Die Bodenfraktion (Bf) fiel, wie aus Abb.3.17 ersichtlich, von 93.282 Da zu Infusionsbeginn ab und stieg nach Ende der täglichen Infusionen immer wieder an. Über alle Infusionstage hin gesehen konnte ein kontinuierlicher Anstieg der Bf bis auf einen Wert von 73.960 Da beobachtet werden. Das Zahlenmittel der HES-Moleküle, der Median, veränderte sich gemäß Abb.3.15 während der Infusionstage nur minimal. Er fiel zu Beginn der Infusion leicht ab und näherte sich am Infusionsende wieder den morgendlichen Ausgangswerten an. Interessant erscheint auch die Veränderung des Polydispersitätsquotienten (M_w/M_n) in Abb.3.18. Dieser stieg zu Infusionsbeginn immer leicht an und fiel dann bis zum nächsten Morgen wieder ab. Insgesamt konnte ein kontinuierlicher Abfall des M_w/M_n beobachtet werden. Dies bedeutet, dass sowohl die niedermolekulare Fraktion (mutmaßlich über die Niere), wie auch die höhermolekulare Fraktion, wahrscheinlich über Phagozyten, eliminiert wurden.

In einer Infusionsstudie von HES 70/0,5 nach Mehrfachapplikation, die vom Versuchsablauf der hier vorliegenden Studie ähnelte, lag das mittlere Molekulargewicht im Serum am Infusionsende ebenfalls niedriger als der M_w der Infusionslösung (Förster *et al.*, 2001). Auch wenn das mittlere Molekulargewicht nach Infusionsende wieder anstieg, so stehen diese Ergebnisse doch im Widerspruch zu den hier beschriebenen Resultaten, die einen genau entgegengesetzten Verlauf zeigen. Erklärt wurde der Anstieg des M_w im weiteren Verlauf nach Infusionsende mit der renalen Elimination von niedermolekularen Anteilen aus dem Serum (Förster *et al.*, 2001). Der Abfall des Serum- M_w während der Infusion erscheint bei Betrachtung des M_w der Ausgangslösung, der lediglich 66.000 Da betrug, nur erklärbar durch eine schnelle Aufspaltung der infundierten HES-Moleküle in kleinere, nierengängige Moleküle. Dafür sprechen 2 Beobachtungen. Zum einen wurde mengenmäßig der Großteil von HES 70/0,5, d.h. etwa 75%, renal eliminiertes HES in der ersten Sammelperiode (0-8h) gefunden, wobei die im Urin aufgefundenen HES-Moleküle ein niedrigeres M_w von etwa 17.000 Da aufwiesen. Zum anderen stieg der Serum- M_w nach Infusionsende an, was für einen Verbleib höhermolekularer Anteile spricht. Demzufolge handelte es sich bei der zuerst ausgeschiedenen HES um sehr

niedermolekulare Anteile, die schon aus der Ausgangslösung stammen, weiterhin auch durch die schnelle Aufspaltung aus größeren Molekülen erst entstanden sind. Einen zusätzlichen Hinweis hierfür liefert der Wert für die Spitzenfraktion im Urin zu diesem Zeitpunkt, der bei 27.000 Da lag. Dies bedeutet, dass 90% der bis dahin im Urin wiedergefundenen HES-Moleküle kleiner als 27.000 Da waren. Es handelte sich also um den niedermolekularen Anteil der HES, der zuerst mit dem Urin ausgeschieden wurde. Bei einem ausgangs gemessenen Mw für die Infusionslösung von 66.000 Da, einem in vivo Wert von 64.000 Da direkt nach Infusionsbeginn und von etwa 58.000 Da am Infusionsende, ist somit davon auszugehen, dass sich sowohl in der Ausgangslösung, als auch anfangs im Serum ein größerer Anteil dieser niedermolekularen HES befand. Es lag trotz eines Mw von 58.000 Da im Serum eine anfangs sehr breite Verteilung von HES-Molekülen vor, die sich nur durch genauere Betrachtung der HES-Moleküle im Urin verifizieren ließ. Beweisend für diese Annahme, vor allem die Molekularverteilung in der Ausgangslösung betreffend, hätte neben Angabe der obigen Werte die Ermittlung des Polydispersitätsquotienten sein können. Dieser gibt wie oben schon erwähnt einen Hinweis auf die Verteilung der verschiedenen Moleküle innerhalb eines Polymergemisches. Zu erwarten wäre bei dieser HES 70/0,5 ein Wert, der deutlich über 1 liegen müsste.

In einer weiteren Mehrfachinfusionsstudie, allerdings mit etwas anderem Studiendesign, kamen Treib et al. (1996a) zu der Hypothese, dass, das nach Infusion angepasste „in vivo“ Mw die physikochemischen Eigenschaften einer HES bestimmt und nicht die in vitro ermittelte Molekulargewichtsverteilung der Ausgangslösung. Begründet wurde diese Aussage auf die Ergebnisse eines Vergleiches zwischen zwei mittelmolekularen, aber unterschiedlich substituierten HES-Präparaten (HES 200/0,5 vs. HES 200/0,62). Vom Ergebnis ist dem zwar zuzustimmen, jedoch muß die Betonung auf der molaren Substitution der eingesetzten HES liegen, durch die, die Molekulargewichtsverteilung im Serum durch eine eventuelle Behinderung der Aufspaltung von HES beeinflusst wird.

Eine andere Studie, die sich vor allem eingehend mit möglichen Blutungskomplikationen, auftretend nach HES-Infusion, befassen sollte, wurde ebenfalls über mehrere Tage und mit täglichen Infusionen durchgeführt (Treib et al., 1997). Anhand der hier dargestellten Blutparameter konnte ein genauerer Verlauf der intravasalen Veränderung der infundierten HES 200/0,62 gezeigt werden. So wurde ein Abfall des Mw, der Spitzenfraktion und des Polydispersitätsquotienten im Serum im Verlauf der zehntägigen Behandlungsdauer beschrieben, bei gleichzeitig leichtem Anstieg der Bodenfraktion. Der Abfall des Mw betrug dabei 55%, der Abfall der Spitzenfraktion 72% und der Abfall des Polydispersitätsquotienten betrug 64% des jeweils gemessenen Ausgangswertes. Der Anstieg der Bodenfraktion lag bei 68% vom

Ausgangswert. Die gemessenen Absolutwerte lagen bei etwa 121.000 Da für den Mw, 307.000 Da für die Spitzenfraktion, 29.000 Da für die Bodenfraktion und 1,45 für den Polydispersitätsquotienten. Der Polydispersitätsquotient zeigt auch bei diesen Untersuchungen ein Engerwerden der Molekulargewichtsverteilung an, wie es bei allen infundierten HES-Präparaten beobachtet werden kann.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Ferber et al. (1985) nach Einfachinfusion von jeweils 500ml verschiedenster HES-Präparate mit unterschiedlicher molarer Substitution und mittlerem Molekulargewicht. Auch hier bestand eine deutliche Korrelation der intravasalen Molekulargewichtsverteilung der infundierten HES mit der molaren Substitution. So konnten nahezu identische Werte für Mw, Sf, Bf, Polydispersitätsquotient und dem Moleküldurchmesser bei den Präparaten HES 450/0,7 und HES 200/0,7 gemessen werden.

Die vorgenannten Erläuterungen zeigen sehr deutlich die Auswirkung der molaren Substitution auf die intravasale Molekulargewichtsverteilung der infundierten HES. Dementsprechend sind die in der vorliegenden Studie erhaltenen Werte für den Mw, Bf, Sf und den Polydispersitätsquotienten vergleichbar mit den Daten früherer Studien. Der initiale Anstieg des Mw jeweils zu Infusionsbeginn ist durch die Zufuhr einer anfangs noch sehr breit geschnittenen HES 450/0,7 (sichtbar am Polydispersitätsquotienten von 4,37) zu erklären. In der eingesetzten Infusionslösung befinden sich viele sehr hochmolekulare und viele sehr niedermolekulare Anteile. Die sehr kleinen Teile werden sofort renal eliminiert und daher teilweise im Serum nicht erfasst.

Nach Ende der Infusion kommt es aber dann doch zu einem Abbau oder zu einer Elimination der großen Moleküle, was wiederum zu einem Abfall des Mw führt. Bei höherer molarer Substitution dauert die Elimination der hochmolekularen Anteile sehr lange und so kann sogar am Ende der Nachbeobachtungsperiode, am Tag 31, noch ein Mw von 183.375 Da im Serum ermittelt werden. Die Molekulargewichtsverteilung ist jedoch nach Infusion enger geworden, das lässt sich am Wert für den Polydispersitätsquotienten, der bis auf 1,38 am Nachfolgetag 31 gesunken ist, sowie an der Annäherung der Werte für die Spitzen- und die Bodenfraktion erkennen.

Als Fazit der bisherigen Ausführungen ist festzustellen, dass es sich bei dem in vivo gemessene Molekulargewicht der HES um eine dynamische Größe handelt, die durch die Biotransformation, die wiederum vor allem von der molaren Substitution abhängt, beeinflusst wird (Förster et al., 2001). Insgesamt kann der Molekulargewichtsverteilung von HES im Serum lediglich eine Bedeutung für die Beurteilung der Güte einer eingesetzten HES zugesprochen werden.

4.2 Substitutionscharakteristika der HES im Urin

4.2.1 Molare Substitution (MS)

Die molare Substitution (MS) der im Urin ausgeschiedenen HES-Moleküle war zu keinem der Sammelzeitpunkte signifikant von der molaren Substitution der Ausgangslösung HES 450/0,7 (Plasmasteril®) zu unterscheiden. Auch Unterschiede der MS zwischen den beiden Sammelperioden (Infusionsbeginn bis 4h nach Infusion, 4h nach Infusion bis 20h nach Infusion) erwiesen sich als nicht signifikant. Auffällig war lediglich ein nach der angewandten Methode ermittelter geringerer Wert der molaren Substitution der Ausgangslösung (0,64), die nach Herstellerangaben mit einer Substitution von 0,7 deklariert war. Diese Beobachtung entsprach aber durchaus bereits bekannten Fakten. Auch bei den Untersuchungen von Fömmel (1994) lagen die Werte für die molare Substitution nach gaschromatographischer Analytik bis zu 15% niedriger als die Deklarationsdaten erwarten ließen. Dies wurde auf einen zu niedrig geschätzten Responsefaktor für die disubstituierten Glukosemoleküle zurückgeführt, was wiederum zu einer verminderten Bestimmung disubstituierter Monomere führte. Ursächlich für den zu niedrigen Responsefaktor war das Fehlen von Standardsubstanzen für die disubstituierten Monomere, weshalb der Responsefaktor von 2-Hydroxyethylglucose verwendet werden musste, da die am C-Atom 2 substituierten Glucosemoleküle den größten Anteil der Disubstituierten stellen (Fömmel, 1994). Als Folge der zu niedrigen Bestimmung der Disubstituierten kommt es somit zu einer Erniedrigung der molaren Substitution im Vergleich zu den Deklarationsdaten der Hersteller.

Im Folgenden ist näher zu klären auf welchen physiko-chemischen Eigenschaften der infundierten HES 450/0,7 die nahezu fehlende Veränderung der molaren Substitution im Urin beruht. Es gibt zahlreiche Studien, die den Einfluß der molaren Substitution auf die Pharmakokinetik verschiedenster HES-Präparate deutlich zeigen konnten, wobei die Korrelation zwischen der MS und der Verweildauer im Körper hervorgehoben werden soll (Asskali, 1988; Förster und Asskali, 1998; Fömmel, 1994; Sum et al., 1983; Treib, 1996a). Die Annahme, dass der molaren Substitution eine entscheidende Bedeutung bei der Charakterisierung des HES-Moleküls zukommt, ist somit unstrittig. Fömmel (1994) beobachtete, im Rahmen ihrer Studien zur Entwicklung einer verbesserten gaschromatographischen HES-Analytik, einen Anstieg der intravasalen molaren Substitution nach Infusion verschiedener HES-Präparate über die Zeit. Dabei war es unerheblich, ob es sich um Einfach- oder Mehrfachinfusionen handelte. Neben dem Anstieg der molaren Substitution im Serum konnte von Fömmel (1994) auch ein Anstieg der Substitution der im Urin ausgeschiedenen HES nachgewiesen werden, wengleich dieser deutlich geringer ausfiel. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Theorie

aufgestellt, dass die sich mit zunehmenden zeitlichem Abstand von der Infusion entwickelnde Verlängerung der Halbwertszeit auf einen Anstieg der molaren Substitution der intravasalen HES zurückzuführen sei. Ferber et al. (1985) hatten ähnliche Schlussfolgerungen gezogen und die Wichtigkeit der molaren Substitution im Vergleich zum Molekulargewicht des HES-Polymers herausgestellt. Yoshida et al. (1973) waren jedoch mit die Ersten, die mittels einer gaschromatographischen Methodik genauere Untersuchungen des HES-Polymers durchführten. Sie fanden heraus, dass mit zunehmender molarer Substitution die Hydrolyserate, gemessen an der Konzentration der freien Maltose nach Inkubation mit α -Amylase, absank. Im Umkehrschluß bedeutet dies nichts anderes, als dass der Abbau umso schneller voranschreitet, je mehr unsubstituierte Anhydroglucosereste in der untersuchten HES enthalten sind. In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass das HES-Molekül durch die Amylase nur bei „Angriff“ an der glykosidischen Bindung unsubstituierter Glukosemoleküle hydrolysiert werden kann (Yoshida, 1984a). Auf diese Weise könnte auch der Anstieg der molaren Substitution erklärt werden, der von Fömmel (1994) im zeitlichen Verlauf beobachtet werden konnte. Die nicht mit einer Hydroxyethylgruppe substituierten Glukosemoleküle können enzymatisch gespalten werden wodurch vermehrt solche übrigbleiben, die substituiert sind. Die so veränderten HES-Moleküle weisen einen höheren MS und einen ebenfalls höheren Substitutionsgrad (DS) auf, auch wenn der Anstieg des DS etwas geringer als der des MS ist, da ein kleiner Teil von einfachsubstituierten Molekülen ebenfalls abgespalten wird (Fömmel, 1994).

Anders verhält es sich mit HES-Infusionslösungen, die bereits hoch substituiert appliziert werden. Bei hoher molarer Substitution ist die Mehrfachsubstitution deutlich erhöht. Der Grund hierfür liegt darin, dass die statistische Möglichkeit zur „Erstsubstitution“ durch das Vorhandensein von bereits einfach substituierten Glukosemolekülen zunehmend geringer wird (Förster und Asskali, 1998). Je höher die molare Substitution ist, desto mehr liegen MS und DS auseinander, da der Substitutionsgrad eine Mehrfachsubstitution nicht berücksichtigt. In der vorliegenden Studie handelt es sich bei der eingesetzten HES um Plasmasteril® (HES 450/0,7), eine hochsubstituierte Hydroxyethylstärke. Die fehlende Veränderung der molaren Substitution ist zwar, gemessen an den bisher vorgestellten Studien, überraschend, doch auch nachvollziehbar. Schon in früheren Studien konnte gezeigt werden, dass ab einer bestimmten molaren Substitution die Aufspaltung der HES-Moleküle durch körpereigene Enzyme extrem schwierig wird (Yoshida, 1984b; Sum et al., 1983). Nach bisherigen Erkenntnissen soll der Grenzwert für eine gerade noch mögliche intravasale enzymatische Aufspaltung der HES-Moleküle bei einem Wert von etwa 0,74 für die molare Substitution liegen (Fömmel, 1994). Auch wenn dieser Wert für die Infusionslösung und die im Urin gefundenen HES-Moleküle

in der vorliegenden Studie nicht erreicht wird, so ist dennoch davon auszugehen, dass die Höhe der molaren Substitution eine weitere Aufspaltung von HES massiv erschwert hat. Die erhaltenen gleichbleibenden Werte für die molare Substitution im Urin sind damit erklärbar.

Als Schlussfolgerung aus den Ergebnissen der angesprochenen Studien ist abzuleiten, dass je höher das HES-Molekül substituiert ist, desto schwerer kann es enzymatisch aufgespalten, verkleinert und ausgeschieden werden. Der molaren Substitution kommt somit eine überraschende Rolle, was den Verbleib der HES-Moleküle im Körper betrifft, zu, die auch durch eine bessere Deklaration der entsprechenden Präparate hervorgehoben werden sollte. Dieser Verbleib von HES im Organismus mag ursächlich für auftretende Nebenwirkungen, vermutlich bedingt durch Organspeicherungen auf die noch einzugehen ist, sein.

4.2.2 C2/C6-Verhältnis

Entsprechend Abb.3.2 ist zu beobachten, dass sich das C2/C6-Verhältnis der im Urin wiedergefundenen HES-Moleküle bei Verwendung hochsubstituierter HES nur unwesentlich verändert hat. Es ist somit deutlich geworden, dass die Veränderungen innerhalb der Sammelperioden während der Infusionstage vernachlässigbar gering sind, während über die Nachfolgetage ein tendenzieller Anstieg des C2/C6-Verhältnis zu beobachten war. Die Frage nach der Bedeutung eines hohen C2/C6-Verhältnis ist im Bezug auf den Abbau und die Elimination, sowie eventuell auftretender Speicherphänomene zu diskutieren.

Bei Betrachtung des HES-Moleküls fällt zunächst auf, dass nicht alle Kohlenstoffatome der Glukosemoleküle für die Substitution zur Verfügung stehen. Die C-Atome C1 und C4 fallen infolge der 1,4-glykosidischen Bindung für die Substitution aus. Aufgrund der Verzweigungsstellen an C6 sind ca. 5-10% der dortigen Hydroxylgruppen (Hydroxymethylgruppen) verschlossen, so dass nur noch 90-95% der C6-Atome für eine Substitution zur Verfügung stehen (*Förster et al., 2001*). Lediglich die Hydroxylgruppen der C-Atome 2 und 3 stehen der Substitution unbegrenzt zur Verfügung, wobei die C2 Position bei der konventionellen Hydroxyethylierung stark bevorzugt sein soll (*Förster et al., 2001*). Der Grund für die Bevorzugung des C2-Atoms wird in der Polarisierung durch die benachbarte Carbonylgruppe und die dadurch erhöhte Acidität der Hydroxylgruppe gesehen.

Grundlegenden Daten zum Einfluß des C2/C6-Verhältnisses wurden bereits frühzeitig von Yoshida et al. (1973) publiziert. Von den Autoren wurden insgesamt 18 verschiedene HES-Präparate mit unterschiedlichen MS, DS und C2/C6-Quotienten in vitro untersucht. Hierzu wurden die verschiedenen HES-Präparate für 10 Minuten in vitro mit α -Amylase inkubiert und der Anstieg an freier Maltose als Maß für die Abbaurate durch die Amylase ermittelt.

Neben dem schon beschriebenen Einfluß der molaren Substitution auf die Abbaurate bzw. auf die Abbaugeschwindigkeit, wurden bei diesen Untersuchungen Erkenntnisse über die Bedeutung des C2/C6-Verhältnisses in vitro gewonnen. So konnte gezeigt werden, dass die Abbaugeschwindigkeit der HES-Moleküle in vitro bei nahezu gleicher molarer Substitution vom C2/C6-Verhältnis beeinflusst werden kann. Hierfür wurden 6 verschiedene HES-Präparate mit einer ähnlichen molaren Substitution (zwischen 0,67 und 0,76) und mit verschiedenen C2/C6-Quotienten (0,49/ 0,98/ 2,42/ 5,52/ 8,35/ 9,50) bezüglich ihres Abbauverhaltens untersucht. Das Ergebnis war ein Anstieg des Abbaus der HES-Moleküle mit einem C2/C6-Verhältnis kleiner 2,42. Lagen die Werte darüber, so waren keinerlei Unterschiede der Hydrolyserate mehr feststellbar.

In einer weiteren Studie Yoshida et al. (1984) konnten die in vitro gewonnen Erkenntnisse auch in vivo nach Infusion verschiedener, unterschiedlich substituierter, HES-Lösungen an Ratten bestätigt werden. Auch hier zeigte sich, dass bei gleichem bzw. bei ähnlichem MS die Plasmakonzentrationen bei hohem C2/C6-Verhältnis (8,02-8,40) höher lagen als bei niedrigem (0,76-0,80), während die HES-Ausscheidung im Urin wesentlich darunter lag. Vergleichbare Werte bezüglich Plasmakonzentration und Urinausscheidung ergaben sich für die 6-O-HES mit einer molaren Substitution von 0,94 und die 2-O-HES mit einem MS von 0,70. Zurückgeführt wurde der Einfluß des C2/C6-Verhältnisses auf den Nachbargruppeneffekt, der den HES-Metabolismus beeinflussen soll (Yoshida et al., 1984). Diese Autoren beschreiben die Einwirkungen substituierter HES-Moleküle auf die Bindungen benachbarter, unsubstituierter Monomere. Es ist verständlich, dass die Substitution einer Hydroxyethylgruppe des C-Atom 6 des Glukoserings aufgrund ihrer räumlichen Entfernung zu 1,4-glykosidischen Bindung nur wenig zu deren Stabilität beitragen kann. Eine C2- Substitution dagegen liegt in unmittelbarer Nachbarschaft zur glykosidischen Bindung und kann diese dementsprechend auch stabilisieren, wodurch die Amylase gehemmt wird. Hingegen wird der Substitution am C3-Atom nur eine untergeordnete Bedeutung beigemessen (Förster und Asskali, 1998).

Den Ergebnissen der Untersuchungen von Yoshida et al. (1973, 1974) folgend, ist zu klären, ob sich die Hydrolyserate einer HES-Lösung nur bei Werten kleiner 3 für den C2/C6-Quotienten durch Modifikation dieses Verhältnisses verändern lässt. Die derzeit auf dem Markt befindlichen HES-Präparate haben ein C2/C6-Verhältnis, welches deutlich über dem in den genannten Studien festgestellten Grenzwert liegt. Der niedrigste Wert für die verschiedenen angebotenen HES-Präparate liegt bei 3,25, der höchste bei 10,75 (Weidhase, 1998). Aufgrund der Ergebnisse bisheriger Studien, die sich mit dem Einfluß des C2/C6-Verhältnis beschäftigt haben, wurde diskutiert, dass sich ein hoher Quotient auf die Elimination verzögernd

auswirken soll (Sommermeyer et al., 1987; Treib et al., 1995; Jung et al., 1993). Es sind allerdings Zweifel an der richtigen Interpretation der Ergebnisse angebracht.

Von Sommermeyer et al. (1987) wurden verschiedene klinisch verwendete Hydroxyethylstärken mit unterschiedlicher molarer Substitution anhand gaschromatographischer, viskosimetrischer und GPC-Untersuchungen miteinander verglichen. Folgende HES-Lösungen wurden untersucht: HES 200/0,5 – HES 200/0,62 – HES 40/0,5-0,55. Unterschiedliche C2/C6-Verhältnisse konnten zwischen den verschiedenen Gruppen gemessen werden, jedoch waren die ermittelten Werte innerhalb der einzelnen HES-Präparate annähernd gleich. Von den Autoren wurde gefolgert, dass in Analogie zu den von Yoshida (1984) veröffentlichten Daten, eine erheblich verlangsamte Elimination der Hydroxyethylstärke mit höherem C2/C6-Verhältnis zu erwarten wäre. Dies wurde mit dem von Yoshida diskutierten Nachbargruppeneffekt begründet. Der durch eigene Untersuchungen bestätigte Beweis dieser Theorie wurde nicht schlüssig erbracht. Weiterhin wurde nicht berücksichtigt, dass in der Studie von Yoshida (1973) ab einem C2/C6-Verhältnis $> 2,42$ keine nennenswerten Veränderungen in der Hydrolyse rate mehr beobachtet wurden. Die bei diesen Untersuchungen verwendeten HES-Präparate lagen alle mit ihrem C2/C6-Verhältnis weit darüber, so dass nach Yoshida (1973) keine Auswirkung auf die Abbaurate zu erwarten wäre.

In einer weiteren Untersuchung zum Substituentenverhältnis in Position 2 und 6 nach Infusion von 1x 500ml HAES-steril 10% (HES 200/0,5) innerhalb von 30min bei 6 Probanden sollte ein Anstieg der prozentualen Häufigkeit an Position 2 gezeigt werden (Weidler und Sommermeyer, 1989). Parallel wurde ein Rückgang der Substitution an Position 6 bis zum 2.Nachfolgetag beobachtet. Auch hier scheinen die Ergebnisse fragwürdig. Zum einen konnte ein Anstieg des C2/C6-Verhältnis nur bei 4 der 6 Probanden beobachtet werden, zum anderen differierten die erhaltenen Werte immens (von 5 bis 9). Über Veränderungen des Anteils an Glucose, 3-Hydroxyethylglucose und den disubstituierten Hydroxyethylglucosen wurden ebenso wenig Angaben gemacht, wie über das C2/C6-Verhältnis der HES in der Ausgangslösung gemacht.

In einer Studie mit Mehrfachinfusion von Treib et al. (1995) erhielten jeweils 10 Patienten mit cerebralen Durchblutungsstörungen zwei verschiedene mittelmolekulare, mittelsubstituierte 10%ige HES-Präparate (HES 200/0,5). Die beiden HES-Lösungen unterschieden sich lediglich in ihrem C2/C6-Verhältnis (5,7 vs. 13,4). Dabei sollten die Auswirkungen der unterschiedlichen Substitutionspositionen auf die rheologischen Parameter, die Blutgerinnung und die Eliminationskinetik untersucht werden. Es konnte zwar eine höhere Serumkonzentration von HES und eine geringere Abnahme des Molekulargewichtes der HES mit dem höheren

C2/C6-Verhältnis gezeigt werden, doch wurden eigene Untersuchungen des Substituentenverhältnisses nicht vorgenommen. Die Autoren verließen sich auf die Herstellerangaben und führten das vermeintlich geringere Molekulargewicht der „in vivo-HES“ mit dem niedrigeren C2/C6-Ausgangsverhältnis auf das höhere C2/C6-Verhältnis der anderen Lösung zurück. Prozentual gesehen fielen die Werte des Molekulargewichts für beide HES-Lösungen in gleichem Maße etwa um 33% am 1. Tag und 55% am 10. Tag. Der Unterschied war schon in den Ausgangslösungen zu suchen, bei denen die HES mit dem höheren C2/C6-Verhältnis schon in vitro ein etwas höhere Molekulargewicht (214.000 vs. 180.000 Da) hatte. Diese Ergebnisse sind ebenso kritisch zu betrachten wie die in der nur ein Jahr später veröffentlichten Studie von Treib et al. (1996a). Die Autoren kamen zwar zu dem Schluss, dass die molare Substitution vorrangig die Eigenschaften einer HES-Lösung bestimmt, jedoch sollte das C2/C6-Verhältnis eine ebenfalls wichtige Rolle bei der Hydrolyse und somit auch bei dem von ihnen als vorrangig eingestuften in vivo Molekulargewicht der HES spielen. Daher wurde von Treib et al. eine Aufnahme des C2/C6-Verhältnis in die Produktbeschreibung gefordert. Auch hier ist eine kritische Betrachtung der Ergebnisse notwendig, da zwei in ihren chemischen Eigenschaften sehr verschiedene HES-Lösungen zum Einsatz kamen. Es handelte sich um eine 10%ige HES 200/0,5 mit einem C2/C6-Verhältnis von 6 und eine 6%ige HES 200/0,62 mit einem C2/C6-Verhältnis von 10. Hinzu kam noch ein unterschiedlicher Mw der Infusionslösung (180.000 vs. 266.000 Da). Schon alleine aufgrund der erheblichen Unterschiede in den chemischen Eigenschaften ist ein Rückschluss auf die isolierte Wirkung des C2/C6-Verhältnis auf den HES-Metabolismus nicht zulässig, zumal die Bedeutung der molaren Substitution von den Autoren schon herausgestellt wurde. Um eine eindeutige Zuordnung zum C2/C6-Verhältnis herstellen zu können, hätte es eigene Untersuchungen der molaren Substitution, des Substitutionsmusters, welche die chemisch-physikalischen Eigenschaften einer HES bestimmen, geben müssen.

Einzig bei Jung et al. (1993), die zwei HES 200/0,5 gleicher Konzentration, mit gleichem in vitro gemessenen Molekulargewicht und unterschiedlichem C2/C6-Verhältnis (10,8 vs. 5,8) miteinander verglichen, können den experimentell gewonnen Daten Hinweise für das Vorhandensein einer Bedeutung dieses Quotienten entnommen werden. Auch hier bleibt jedoch zu bemerken, dass eigene Messungen des C2/C6-Verhältnis der Ausgangslösung unterblieben sind. Aufgrund der in der vorliegenden Arbeit ermittelten Werte für das C2/C6-Verhältnis im Urin, ist den Ausführungen von Förster und Asskali (1998, 1999) zu folgen, die einen besonderen Einfluss dieses Quotienten auf die Elimination von HES ablehnen. Dementsprechend ist das C2/C6-Verhältnis in der Bedeutung für die Elimination deutlich hinter der molaren Sub-

stitution einzuordnen. Lediglich bei gleicher molarer Substitution kann die Substituentenverteilung eine geringe Rolle spielen (*Asskali und Förster, 1999*) und ein hoher C2/C6-Quotient dann für eine vermehrte und verlängerte intrazelluläre Speicherung durch Blockade der Seru-
mamyrase und der intrazellulären lysosomalen Glykosidasen verantwortlich sein (*Förster und Asskali, 1999*).

Die Theorie einer weitgehend fehlenden Bedeutung des C2/C6-Verhältnis kann durch die vorliegenden Daten, besonders hinsichtlich der niedrigen Wiederfindungsrate, auf die später noch eingegangen wird, bestätigt werden. In der vorliegenden Studie wurde eine deutliche Kumulation der infundierten HES 450/0,7 nachgewiesen. Anhand von tierexperimentellen Studien konnte eine eindeutige Korrelation zwischen der Halbwertszeit und dem Substituentenverhältnis ausschließlich bei hochsubstituierten HES-Lösungen gezeigt werden (*Theisen, 2001*). Diese Ergebnisse müssen jedoch noch als vorläufig betrachtet werden, da eine zusätzliche Kontrolle des MS entfiel (*Förster und Asskali, 1999*). Zu bedenken ist zudem, dass die Veränderungen im Substitutionsmuster der im Urin ausgeschiedenen HES generell geringer ausfallen werden als im Serum, da der Urin in Intervallen von mehreren Stunden gesammelt wurde (*Fömmel, 1994*). Entsprechend befindet sich darin die gesamte während der Infusion, während des Infusionstages und in den infusionsfreien Intervallen ausgeschiedene HES. Das Substitutionsmuster kann daher im Sammelurin der Infusionstage nicht so stark verändert sein wie im Serum, da dort jeweils die Zusammensetzung der zu diesem Zeitpunkt vorhandenen HES gemessen wird. Damit kann derzeit lediglich als gesichert gelten, dass das Substituentenverhältnis, der C2/C6-Quotient, bei niedersubstituierten HES-Lösungen ohne größere Bedeutung für die Elimination aus dem Plasmaverteilungsraum ist, bei hochsubstituierter HES ist ein geringer Einfluss hingegen nicht auszuschließen.

Um eine weiterreichende Bedeutung dieses Quotienten zu beweisen, sind zusätzliche Studien erforderlich sowie die Anwendung verbesserter analytischer Methoden, um die Nachweisgrenze von HES im Serum und im Urin weiter zu senken. Empfehlenswert wären dabei Vergleiche von HES-Präparaten, die sowohl die gleiche molare Substitution, das gleiche Molekulargewicht und die gleiche Konzentration haben und sich lediglich im C2/C6-Verhältnis deutlich unterscheiden. Auch sollte die Untersuchung in Gruppen nach niedrig-, mittel- und hochsubstituierten HES-Lösungen durchgeführt werden, weiterhin nach Einfach- und Mehrfachinfusion. Für eine genaue Bestimmung der Bedeutung des C2/C6-Verhältnisses sind weiterhin die Bestimmung dieses Quotienten im Urin und im Serum von Bedeutung. Sollte sich in zukünftigen Studien, nach Ausschluss aller Fehler, die in der Versuchsdurchführung und der Präparateauswahl liegen könnten doch noch ein bedeutender Einfluss des C2/C6-Verhältnis

auf das biologische Verhalten von HES zeigen, so könnte ein Umdenken erforderlich werden, gerade was den längerfristigen Einsatz der entsprechenden HES-Präparate betrifft. Lediglich in dem Fall des eindeutigen Nachweises einer Beeinflussung der in vivo Parameter von HES durch das C2/C6-Verhältnis, müsste auch die Aufnahme des C2/C6-Quotienten in die Produktbeschreibung erfolgen, wie dies von einigen Autoren schon jetzt gefordert wird (*Treib et al., 1996*).

4.3 HES im Urin

4.3.1 Ausgeschiedene HES-Menge im Urin

In Bestätigung früherer Untersuchungen wurden deutlich weniger als 50% der applizierten hochsubstituierten HES im Harn wiedergefunden (*Förster und Asskali, 1998; Lenz et al., 2000*). Mit der gaschromatographischen Methodik wurden 52,28g der während der 5 Infusionstage insgesamt 140g infundierten HES erfaßt. Dies entspricht einer Wiederfindungsrate von 37,35%. Die Wiederfindung mittels der enzymatischen Methode lag bei 43,64g, entsprechend 31,17% der insgesamt infundierten HES-Menge. Die Gesamtwiederfindung von HES im Urin lag demnach bei der gaschromatographischen Methodik um 6% über der enzymatischen Methode. Während der einzelnen Infusionsabschnitte an den 5 Infusions- und den 3 Folgetagen lag die Wiederfindung mit der gaschromatographischen Methodik um 7 bis maximal 30% über der nach enzymatischer Analytik (s.a. Abb.3.8). In den Urinproben im Anschluss an die 3 Folgetage lagen die Konzentrationen der HES im Urin unterhalb der Nachweisgrenze.

Durch diese vorgelegten Daten werden die früheren Ergebnisse von *Fömmel (1994)* bestätigt, wobei ebenfalls eine erhöhte Wiederfindung von HES bei der gaschromatographischen Analyse festgestellt werden konnte. Die von *Fömmel* gaschromatographisch bestimmten Glucosekonzentrationen nach Hydrolyse von HES lagen, wie in der vorliegenden Arbeit, zwischen 18,8 und 36,5% über den enzymatisch bestimmten Konzentrationen. Bei Bestimmung der Wiederfindung konnten 90,1 bis 98,3% der angegebenen HES-Einwaage über die gaschromatographische Methode bestimmt werden. Die gaschromatographische Analytik ist somit genauer was die Wiederfindung infundierter HES angeht, zum anderen ist sie auch eine spezifische Nachweismethode für HES. Bei halbenzymatischer Methodik wird demgegenüber zur Berechnung der HES-Konzentration der Anteil der bei der Hydrolyse freigesetzten Glucose, unter Bezug auf die als Standard mitgeführte Infusionslösung (*Fömmel, 1994*), verwendet. Dieses Verfahren liefert dementsprechend nur einen HES-Nachweis ohne Berücksichtigung

nachträglicher Veränderungen. Liegt die Konzentration der HES in der zu untersuchenden Probe in einem niedrigeren Bereich, so erfolgt eine Verringerung des Abstandes der Messergebnisse zwischen beiden Methoden (*Fömmel, 1994*). Auch in der vorliegenden Studie konnten diese Beobachtungen bestätigt werden. Während der 3 Folgetage unterschieden sich die im Urin wiedergefundenen HES-Mengen nach GC-Analyse und enzymatischer Methode nur um 0,16g bzw. um 7-13%.

4.3.2 Prozentuale HES-Wiederfindung innerhalb eines Tages

Gemäß Abb.3.6 konnte an den verschiedenen Infusionstagen im Urin der jeweils ersten Sammelperiode (0-8h) etwa 2/3 der täglich renal ausgeschiedenen HES-Menge wiedergefunden werden, während in der zweiten Periode (8-24h) die Wiederfindung nur ca. 1/3 betrug. Diese Beobachtung ist genauer zu erläutern. Betrachtet man die Ergebnisse einer Studie mit HES 70/0,5 so fällt auf, dass bei dieser zu Infusionsbeginn das Serum-Mw abfiel und im Urin der ersten Sammelperiode mehr niedermolekulare HES nachgewiesen werden konnte als nach der zweiten Sammelperiode (*Förster et al., 2001*). Bei der in dieser Arbeit untersuchten HES 450/0,7 stieg initial das Serum-Mw an und fiel erst am Infusionsende ab, während trotzdem im Harn in der ersten Sammelperiode eine prozentual größere Menge HES nachgewiesen werden konnte, als in der zweiten Sammelperiode. Die Erklärung für diese scheinbar überraschende Erkenntnis liegt in der Infusionslösung selber. Nach Messung des Mw der Infusionslösung hinsichtlich der Molekulargewichtsverteilung weisen 6-8% der HES-Moleküle ein Molekulargewicht auf, welches unterhalb der definierten Nierenschwelle von 40.000 Da liegt (*Förster et al., 1999a*). Folglich wird dieser hochsubstituierte, niedermolekulare Anteil sehr schnell renal eliminiert, also schon während der Infusion. Die restlichen 10% der in der ersten Urinsammelperiode gefundenen HES könnten Bestandteile bereits während der Infusion enzymatisch gespaltener und renal eliminiertes HES-Moleküle sein, die eher niedersubstituiert sind. Insgesamt ergibt sich für die Substitution der in der ersten Sammelperiode im Urin wiedergefundenen HES eine nur leicht erhöhte molare Substitution gegenüber der in der 2. Periode im Urin gefundenen HES. Da jedoch die infundierte HES 450/0,7 aufgrund ihrer hohen Substitution und des hohen Molekulargewichtes im Serum langsamer gespalten und dementsprechend mengenmäßig auch weniger ausgeschieden werden kann, kommt es insgesamt während der Infusion zu einem Anstieg des Serum-Mw im Gegensatz zur niedermolekularen, mittelsubstituierten HES 70/0,5. Auch *Mishler et al. (1981)* kamen zu ähnlichen Ergebnissen bei einer HES 350/0,6. Hier kam es ebenfalls, wie in der vorliegenden Studie, zu einer schnellen renalen Eliminierung von niedermolekularen HES-Molekülen mit dem Urin und einer

späteren Ausscheidung von eher hochsubstituierten HES-Fraktionen. Von Mishler et al. wurde die schnelle Phase der renalen Elimination auf das vorwiegend unterhalb der Nierenschwelle liegende Molekulargewicht und die langsame Phase auf die höhere molare Substitution zurückgeführt. Somit erklären sich auch die typischen Verteilungsmuster der prozentualen Wiederfindung von HES 450/0,7 im Urin und des Verhaltens des Serum-Mw während der Infusionstage.

4.3.3 Nierenschwelle von HES

Die Niere ist der wichtigste Ausscheidungsweg für HES. Für Makromoleküle gilt eine Nierenschwelle, die von größeren Molekülen oberhalb dieser physiologischen Schwelle nicht überwunden werden kann. Durch die Analyse der im Harn nachgewiesenen HES-Moleküle konnten Hinweise auf die für die renale Elimination notwendigen strukturellen Eigenschaften der infundierten HES abgeleitet werden. Nach Daten früherer Untersuchungen sollte anhand des mittleren Molekulargewichts im Serum und der Spitzenfraktion im Urin die Nierenschwelle bei etwa 70.000 Da liegen (*Weidler et al., 1991*), d.h. in dem Bereich der Größenordnung von Albumin. Diesen Ergebnissen ist aber nach neueren Daten nicht mehr zu folgen. So wurden von Förster et al. (2001) nach Mehrfachinfusion einer mittelsubstituierten HES 70/0,5 Werte für die Spitzenfraktion der HES-Moleküle im Urin gefunden, die während der 2. Sammelperiode bei etwa 40.000 Da lagen, bei einem Mw im Harn von etwa 30.000 Da. Das mittlere Molekulargewicht im Serum lag in dieser Zeit bei etwa 64.000 Da. Der mengenmäßig größere Anteil der Ausscheidung erfolgte in der ersten Sammelperiode bis 4h nach Infusionseende. In diesem Zeitraum betrug die Spitzenfraktion der Moleküle im Urin 27.000 Da, d.h. nur 10% der im Harn aufgetauchten Moleküle waren größer als dieser Wert. Würde man den Ausführungen von Weidler et al. (1991) folgen und eine Nierenschwelle annehmen, die bei etwa 70.000 Da liegt, so müsste bei Verwendung von HES 70/0,5 bereits während der ersten Nierenpassagen ein Großteil der infundierten HES-Menge in den Urin übergetreten sein. Durch die Daten von Förster et al. konnte dies, wie oben beschrieben, eindeutig widerlegt werden. Anhand dieser Untersuchungen wurde die Nierenschwelle bei 40.000 Da angenommen. Weder das mittlere Molekulargewicht im Serum noch das in vivo-Mw sind isoliert zur Definition der Nierenschwelle heranzuziehen, noch ist damit eine Charakterisierung der HES-Präparate zulässig (*Förster et al., 2001*). Anhand der vorgelegten Daten konnte diese Annahme bestätigt werden. So wurden jeweils etwa 66% der im Harn wiedergefundenen HES-Moleküle schon in der ersten Urinsammelperiode (0-8h) nachgewiesen, obwohl die Bodenfraction im Serum deutlich über der Nierenschwelle von 40.000 Da lag. Abschließend bleibt

somit lediglich festzustellen, dass für die Bestimmung der Nierenschwelle nur die gemeinsame Beurteilung der Molmassenveränderung im Serum und Harn von Bedeutung ist.

4.3.4 Erfassungsdefizit von HES

Eine noch zu klärende Frage betrifft die insgesamt gesehen verhältnismäßig geringe Wiederfindung der infundierten HES. Wie bereits näher erläutert und aus Abb.3.5 ersichtlich, beträgt die maximale Wiederfindungsrate bei HES 450/0,7 im Urin lediglich 37,35% der infundierten Menge nach gaschromatographischer Analyse am Folgetag 3. Bei Addition dieser Mengen mit den im Serum erhaltenen absoluten HES-Mengen zum gleichen Zeitpunkt erhält man eine Wiederfindung von 52,28g (HES-Menge im Urin) + 34,80g (HES-Menge im Serum), also insgesamt 87,08g HES. Dies entspricht am 3. Folgetag bei einer infundierten HES-Menge von 140g einer Gesamtwiederfindung von etwa 62%. Bisher konnten noch nie 100% einer infundierten HES im Urin wiedergefunden werden, bisherige Wiederfindungsraten lagen jedoch bei etwa 50 bis 60% der infundierten Menge (*Förster und Asskali, 1999; Förster und Asskali, 1998; Lenz et al., 2000*), bei niedersubstituierter HES auch etwas darüber. Von Förster (1988) wurde die Differenz zwischen der im Harn und im Serum wiedergefundenen HES-Menge und der zu Beginn eingesetzten HES-Menge als „Erfassungsdefizit“ bezeichnet.

Eine Möglichkeit dieses Defizit teilweise zu erklären wäre eine eher unwahrscheinliche Ausscheidung von HES mit den Faeces. Es konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden, dass über diesen Weg nur minimalste Mengen ausgeschieden werden (*Lenz et al., 2000; Kalhorn et al., 1984*). Der Nachweis von HES im Faeces erbrachte nur Mengen zwischen 0,21 und 1% der infundierten HES-Menge. Von Lenz et al. (2000) wurde die Bedeutung der fäkalen HES-Elimination treffend als „background noise“ bezeichnet. Von einer Ausscheidung über den Faeces in nennenswerten Mengen kann beim Menschen somit nicht ausgegangen werden.

Die nichterfasste, infundierte HES muss damit nach Elimination aus dem Plasmaverteilungsraum auf andere Weise innerhalb des Organismus dem Nachweis entzogen worden sein.

Von Förster (1988) wurde dies zum einen auf die nachweisbare Aufnahme ins retikuloendotheliale System (RES), zum anderen auf eine intrazellulär stattfindende Metabolisierung der infundierten HES zurückgeführt. Demnach erfolgt eine reversible Ablagerung von HES-Molekülen in Zellen des RES. Es konnten Speicherungen in Lunge, Milz, Leber, Niere und Lymphknoten und weiteren Organen mit Zellen des RES nachgewiesen werden (*Förster, 1999b*). Eine negative Beeinflussung bis hin zu einer vollständigen Blockade dieses unспе-

fischen Abwehrsystems durch die Speicherung von HES-Molekülen konnte bisher jedoch nicht eindeutig belegt werden (*Förster, 1999b*).

In einer von Ginz et al. (1998) vorgestellten Kasuistik ist die massive Speicherung von HES 450/0,7 in Zellen der Lunge, Leber und Niere sowohl auf eine Überdosierung von HES 450/0,7, als auch auf die erhöhte Kapillarpermeabilität bei Sepsis mit konsekutivem Ausstrom und vermehrter Speicherung des infundierten Kolloids zurückzuführen. Eine negative Beeinflussung der Funktion der Zellen des RES, die für den tödlichen Ausgang verantwortlich sein könnte, wurde nicht eindeutig nachgewiesen, auch wenn eine Verschlechterung des gesundheitlichen Zustandes des Patienten durch die Überinfusion mit Kolloiden wahrscheinlich erscheint.

Unter physiologischen Bedingungen wird die infundierte HES-Lösung in die Zellen des RES aufgenommen und intrazellulär durch lysosomale Glykosidasen hydrolysiert (*Förster, 1997b*). Dem intrazellulären Abbau soll demnach eine wichtige Bedeutung zukommen. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung mit Fluorescein-markierter HES haben ergeben, dass ein Teil der infundierten, markierten HES von Monozyten bereits peripher aufgenommen wurde, während zudem ortständige Makrophagen Speicherungen aufwiesen (*Förster et al., 1999b*).

Die beschriebenen Ergebnisse beweisen erneut das mehrfach zu beobachtende Phänomen des Erfassungsdefizits. Die innerhalb der verschiedenen Organe des menschlichen Körpers abgelagerte HES ist mit den gängigen Nachweismethoden nicht zu erfassen. Der Einsatz physiologischer Dosen von HES kann als relativ unbedenklich eingeordnet werden, jedoch sollte eine vermehrte Speicherung durch Überinfusion vermieden werden. Hierzu sind dem Anwender eingehende Dosierungsrichtlinien aufgrund von entsprechenden Untersuchungen an die Hand zu geben.

4.4 Serum α -Amylase (U/l)

Der Anstieg der Aktivität der Serumamylase nach HES-Applikation ist ein mehrfach beschriebenes Phänomen, das frühzeitig durch Bildung eines Komplexes von HES mit Amylasen (Makroamylasen) erklärt wurde (*Köhler et al., 1977b*).

Im Verlauf der fünf Infusionstage mit Infusion von insgesamt 140g Hydroxyethylstärke (HES), stieg die Aktivität der Serumamylase um das Fünffache des Ausgangswertes vor 1. Infusion, von 51 U/l auf 253 U/l. Eine Normalisierung der Werte auf die des Ausgangswertes konnte selbst am Ende des Beobachtungszeitraumes, bei nachweisbar hoher HES-Konzentration, nicht beobachtet werden.

Der Anstieg der Serumamylase ist ein durch zahlreiche Studien bestätigter Befund nach HES-Infusionen, wobei es keine Rolle spielt, ob es sich um eine einmalige Infusion oder um Mehrfachinfusionen handelt, lediglich die Höhe und die Dauer des Anstieges können unterschiedlich ausfallen (*Messmer und Jesch, 1978; Köhler et al., 1977b*). Schon Köhler et al. (*1977a*) fanden bei Patienten nach Infusion von 500ml Plasmasteril® (HES 450/0,7) Werte für die Aktivität der Serumamylase, die um das Doppelte höher waren als die vor Infusionsbeginn. Körperliche Beschwerden oder andere klinische Symptome konnten dabei ebensowenig beobachtet werden wie Veränderungen der Serumlipase. Eine Beeinträchtigung der Pankreasfunktion konnte damit ausgeschlossen werden.

In einer weiteren Studie (*Köhler, 1977b*), bei der u.a. hochmolekulare HES 450/0,7 infundiert wurde, konnte ein Anstieg der Enzymaktivität, verknüpft mit einem Anstieg des Molekulargewichts des Enzym-Substrat-Komplexes, gezeigt werden. Es ist davon auszugehen, dass sich das Substrat HES mit dem entsprechenden Enzym α -Amylase zu einem stabilen HES-Amylasekomplex verbindet, der die Bezeichnung „Makroamylase“ erhielt (*Köhler, 1977b*). Die Komplexbildung zwischen der Amylase und dem Substrat HES kann als klassisches Beispiel für kompetitive Enzymhemmung angeführt werden (*Förster und Asskali, 1998*). Demnach geht die Amylase mit HES zwar eine Bindung ein, das Enzym hat jedoch keine oder nur geringe Möglichkeiten, die durch die Substitution veränderte HES anzugreifen. Dafür spricht die Tatsache, dass sich zum Zeitpunkt der höchsten Amylaseaktivität im Serum am Ende des 5. Infusionstages keine starken Veränderungen des Molekulargewichtes zeigten. Ein gesteigerter Abbau der infundierten HES-Moleküle durch die erhöhte Amylaseaktivität ist somit unwahrscheinlich. Die Steigerung der Aktivität der α -Amylase wird auf die erschwerte renale Elimination des hochmolekularen Amylase-HES-Komplexes zurückgeführt (*Köhler, 1977a*). Zu den gleichen Folgerungen kam Mishler (*1980*), der ebenfalls einen Anstieg der Amylase nach Infusion von HES 350/0,6 auf eine verminderte renale Elimination der Amylase zurückführte.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind ebenfalls so zu interpretieren, dass der kontinuierliche Anstieg der α -Amylaseaktivität im Serum auf die Bildung hochmolekularer HES-Amylase-Komplexe zurückzuführen ist, die erschwert renal eliminiert werden können. Ein bedeutender Einfluss der gesteigerten Amylaseaktivität auf die Elimination der Hydroxyethylstärke aus dem Serum kann aufgrund der vorliegenden Zahlen für die Molekulargewichtsverteilung der HES-Moleküle im Serum, die zum Zeitpunkt der höchsten Amylaseaktivität nur sehr kleine Veränderungen zeigte, ausgeschlossen werden. Da nach 31 Tagen der Nach-

beobachtung noch HES im Serum nachweisbar war, ist der fehlende Rückgang der Amylaseaktivität auf den Wert vor der ersten Infusion nachvollziehbar.

4.5 Hämoglobin (g/dl) und Hämatokrit (%), Serum

Die Blutverdünnung (Hämodilution) durch Infusion von HES wurde durch die Parameter Hämoglobin (g/dl) und Hämatokrit (%) im Serum dokumentiert. Die niedrigsten Werte für beide Parameter wurden jeweils zu den Abnahmezeitpunkten Infusion 120min und am Infusionsende gemessen (s.a. Abb.3.22 und 3.23). Dieser Trend war an allen Infusionstagen zu beobachten und es wurde deutlich, dass der größte Dilutionseffekt immer erst in der zweiten Hälfte der Infusionsperioden erzielt wurde. Insgesamt konnte ein kontinuierlicher Abfall des Hämoglobins und des Hämatokrits über die Infusionstage und bis zum Ende der Nachbeobachtungsphase beobachtet werden.

Um die erhaltenen Werte für beide Parameter bezüglich des Hämodilutionseffektes richtig zu interpretieren, muss zwischen zwei Dilutionsformen unterschieden werden. Bei isovolämischer Hämodilution wird dem Körper sowohl Infusionslösung zugeführt, als auch Blutvolumen entzogen, das kleiner oder gleich dem Infusionsvolumen ist. (Bormann, 1988). Auf diese Weise wird zwar das Blutvolumen konstant gehalten, die zellulären Bestandteile und Proteine des Blutes werden jedoch verdünnt. Von einer hypervolämischen Hämodilution wird gesprochen, wenn eine zugeführte Infusionslösung ohne Blutentzug lediglich die vorhandenen zellulären Bestandteile und Proteine intravasal verdünnt, wobei eine gleichzeitige Vermehrung des Blutvolumens erfolgt (Mielke et al., 1997; Singbartl, 1999).

Da in der von uns durchgeführten Studie pro Tag während der 11 Blutentnahmen ca.150-160ml Vollblut entnommen wurden, aber täglich ca. 466ml HES 450/0,7 infundiert wurden, kann eine weitgehende hypervolämische Hämodilution angenommen werden. Die klinische Bedeutung der Wahl des Dilutionsverfahrens wird bei Betrachtung des gewünschten Effektes sichtbar. Für die hypervolämische Hämodilution spricht ihr geringerer apparativer und zeitlicher Aufwand, die geringeren Kosten (\$63.60 für die isovolämische Hämodilution vs. \$32.75 für die hypervolämische Hämodilution) (Mielke et al., 1997), das verminderte Risiko transfusionsbedingter Infektionen und die Gleichwertigkeit beider Systeme bezüglich des postoperativen Effektes, bei einem Blutverlust <40% des Gesamtblutvolumens. Ein totaler Ersatz von Blutverlusten bei isovolämischer Hämodilution ist allerdings bei größeren Blutverlusten nicht möglich, da hierfür O₂-transportierende Erythrozyten benötigt werden (Mielke et al., 1997; Singbartl, 1999). Sind aber der Ausgangshämatokrit und das Hämoglobin eines Patienten sehr

hoch, so wird sicher ein Verlust O₂ tragender Erythrozyten toleriert. Im Gegenteil, Patienten mit einer hohen Erythrozytenzahl, einem hohen Hb und einem hohen HKT könnte deren Absenkung durch Blutverlust, bei gleichzeitigem Ersatz des Volumens durch eine Infusionslösung, zum Vorteil gereichen. Auf diese Weise werden die Fließeigenschaften des Vollblutes im Bereich des Makrostromgebietes verbessert (*Kiesewetter et al., 1991*).

Dieses Prinzip wird auch heute klinisch als sogenannter Aderlass zur Behandlung der Polyglobulie vor allem bei der Polycythaemia vera angewandt. (*Niederle und Weidmann, 1999*). Der Zielwert des Hämatokrit liegt bei etwa 40%. Ein Vergleich zwischen der isovolämischen und der hypervolämischen Hämodilution von Jung et al. (1990) erbrachte bei beiden eine Reduktion des systemischen Hämatokrits, der aber bei der isovolämischen Hämodilution um ca. 3% größer war (8,5 vs. 5,4%) und den kapillären Hämatokrit auch noch um 1,3 Prozentpunkte senken konnte, während dies bei der hypervolämischen Dilutionsmethode nicht der Fall war. Dies würde dafür sprechen, dass die Fließfähigkeit des Vollblutes sehr stark vom Hämatokrit abhängig ist. Es darf aber durchaus bezweifelt werden, dass sich diese marginalen Änderungen des HKT in einem Benefit für den Patienten manifestieren, zumal sich der Hämatokrit im Mikrostromgebiet ohnehin auf nur 10% des systemischen HKT-Wertes beläuft (*Jung et al., 1993; Weidhase, 1998*).

4.6 KOD (mmHg), Serum

Der kolloidosmotische Druck (KOD) des Plasma ist Ausdruck der hochmolekularen Anteile (Kolloide). Unter physiologischen Bedingungen beruht der KOD vorwiegend auf dem Anteil an Albumin. Die künstlich zugeführten Kolloide haben in Abhängigkeit von der Molekülgröße ebenfalls eine entsprechende Wirkung, wobei der onkotische Druck der kolloidalen Lösungen in erster Linie von der Anzahl der onkotisch wirksamen Teilchen abhängen soll und weniger von ihrer Größe (*Langeron et al., 2001*).

In Abb.3.25 ist zu erkennen, dass es am Anfang eines jeden Infusionstages ein Abfall des KOD erfolgte, während im infusionsfreien Intervall ein kontinuierlicher Anstieg messbar war. Unter physiologischen Bedingungen sind die Plasmaproteine, insbesondere Albumin, wie vorstehend erwähnt, die Hauptträger des kolloidosmotischen Druckes (*Gaethgens, 1996*). Der KOD ist dafür verantwortlich, dass es am Ende der postkapillären Venolen zu einem Rückstrom von Wasser in den intravasalen Raum kommt. Als Gegenspieler zu diesem Mechanismus wirkt der hydrostatische Druck der Blutsäule im Gefäßsystem. Sobald der hydrostatische Druck den KOD übersteigt erfolgt eine Filtration, bzw. ein Abpressen von Plasmawasser aus

dem Gefäßsystem ins Interstitium. Da die Probanden der vorliegenden Studie morgens zur ersten Blutentnahme vor Infusionsbeginn von einem längeren Zeitraum des Stehens, bzw. Laufens, überwechselten in die Horizontale (zur Infusion und Blutentnahme), ist davon auszugehen, dass sich der Körper innerhalb der ersten halben Stunde an die neue Körperlage angepasst hat. Es ist zu vermuten, dass der KOD während der „Steh- und Laufphase“ aufgrund des durch die aufrechte Lagerung erhöhten hydrostatischen Druckes mit konsekutivem Abpressen von Plasmawasser eher etwas erhöht war. Der initiale Abfall des KOD könnte somit durch einen Adaptionsprozess (Rückstrom von Plasmawasser bei im Liegen erniedrigten hydrostatischen Druck mit folgender Proteinverdünnung) entstanden sein, und müsste nicht eine unmittelbare HES-Wirkung sein. Dafür sprach sowohl die Reproduzierbarkeit dieser Ergebnisse von Tag zu Tag, als auch die über alle Tage zu beobachtende gegenläufige Entwicklung des KOD innerhalb des jeweiligen Infusionstages.

Ein Anstieg des KOD nach Infusion von HES 450/0,7 konnte sowohl bei völlig gesunden Versuchspersonen, als auch bei hypovolämen Patienten im Rahmen eines septischen Geschehens beobachtet werden (*Köhler et al., 1978; Rackow et al., 1983*). Anstiege des KOD wurden auch bei anderen HES-Präparaten (HES 200/0,5; HES 200/0,62) beobachtet, die sich in ihren physiko-chemischen Eigenschaften erheblich von der hier untersuchten hochsubstituierten HES 450/0,7 unterschieden. Dies galt sowohl für Patienten, als auch für gesunde Probanden (*Mbaba, 2000; Asskali und Förster, 1999*).

Diesen vorliegenden Daten folgend, sind die in der vorliegenden Arbeit vorgestellten Ergebnisse des verzögerten KOD-Anstieges bei Verwendung hochsubstituierter HES nicht überraschend. Die langsame Aufspaltung der anfangs sehr großen HES-Moleküle führte zur Bildung mehrerer kleinerer Moleküle, die dann eigenständig onkotisch wirksam werden konnten. Zwei Ergebnisse sprechen für diese Theorie. Einerseits fiel der KOD erst am Tag 31 nach Beginn der fünf Infusionstage, als sich auch die im Serum gemessene HES-Konzentration wieder dem Ausgangswert annäherte, auf Werte, wie vor Studienbeginn. Weiterhin ist auch die Zeitversetzung des KOD-Anstieges innerhalb der Infusionstage ein Hinweis darauf. Die infundierten HES-Moleküle werden erst nach einer gewissen Zeit in vivo in mehrere kleine Moleküle aufgespalten und nicht sofort nach Infusionsbeginn. Ein paralleler Verlauf konnte schon beim Verhalten des Mw und der Sf beobachtet werden. Auch hier kam es erst nach Beendigung der Infusion zu einem Abfall der Molekülgröße der einzelnen Fraktionen. Moleküle, die aufgrund ihrer geringen Größe sofort oder zumindest sehr schnell renal eliminiert werden, können dementsprechende keine klinisch relevante onkotische Wirkung entfalten und somit auch keine Veränderungen des KOD bewirken.

4.7 Plasmaviskosität (mPa*s), Serum

Die Plasmaviskosität (PV) wird vorwiegend durch hochmolekulare Plasmaproteine bestimmt (Weidhase, 1998). Neben der Molekülgröße spielt für die PV auch die Anzahl der Moleküle und insbesondere der hydrophile Charakter eine wichtige Rolle (Jung et al., 1993). Der Plasmaviskosität soll bei der Applikation von HES-Lösungen eine nicht zu unterschätzende Bedeutung zukommen, da sie die Fließeigenschaften des Plasmas und damit auch der zellulären Bestandteile, beeinflussen soll. Dabei wird jedoch von einer fehlerhaften Gleichsetzung von Plasmaviskosität und Blutviskosität ausgegangen. Eine „Blutverdünnung“ kann auch bei marginaler Erhöhung der Plasmaviskosität zu einer deutlichen Verringerung der Blutviskosität führen. Allerdings soll in den Gefäßen der Mikrozirkulation die Plasmaviskosität neben dem Gefäßdurchmesser die entscheidende Rolle spielen, da der Hämatokrit in diesen Gebieten so gering ist (ca.10% des gemessenen HKT), dass sich die Vollblutviskosität der Plasmaviskosität annähert (Jung et al., 1993; Weidhase, 1998). Diese Erkenntnis soll unter anderem für die Behandlung der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK), bei der eine Verbesserung der Durchblutung im Mikrostromgebiet angestrebt wird, von besonderer Bedeutung sein. Eine deutliche Steigerung der Plasmaviskosität wäre daher nicht wünschenswert.

Wichtig ist bei Beurteilung der Plasmaviskosität deren Ausgangswert. Ist dieser schon erhöht, wie es bei exsikkierten Patienten der Fall ist, kommt es bei Applikation von HES fast immer, je nach Ausgangswert, zu einem Abfall der PV. Dieses Patientenkollektiv profitiert bereits von der Volumengabe mit konsekutiver Hämodilution. In diesem Fall ist allerdings der Abfall der Plasmaviskosität nicht unbedingt auf die verwendete HES-Lösung zurückzuführen, vielmehr auf die allgemeine Dilution.

In der vorliegenden Studie konnte bei der Plasmaviskosität anfangs, vor Infusionsbeginn und bis zum ersten Abnahmezeitpunkt, 30min, ein geringer Abfall beobachtet werden, während über den Rest der jeweiligen Infusionstage ein geringfügiger, jedoch signifikanter, Anstieg deutlich wurde, der erst am Folgetag 31 wieder den Ausgangswert annahm (s.a. Abb.3.24). Trotz dieser geringfügigen prozentualen Veränderungen lagen alle absoluten Werte für die PV noch im Normbereich. Es ist davon auszugehen, dass es sich, ähnlich wie schon beim KOD, auch bei den Veränderungen der PV um Phänomene der Volumenverteilung handelt. Auch hier führte die liegende Haltung zu einem verbesserten Rückfluss des Plasmawassers mit konsekutiver Absenkung der Plasmaviskosität. Gemäß der durch die Infusion zugeführten Flüssigkeit würde man im weiteren Verlauf der Infusion auch weiterhin einen Abfall der Plasmaviskosität aufgrund des Hämodilutionseffektes erwarten. Da es jedoch zu einem Anstieg kam,

muss die zugeführte verhältnismäßig visköse, hochsubstituierte, hochmolekulare HES einen geringfügigen eigenen, die Plasmaviskosität steigernden, Effekt haben.

Neben der Molekülgröße wird auch der Molekülzahl eine große Bedeutung bei der PV zuge-messen. Somit spielen Spaltungs- bzw. Abbauprozesse eine wichtige Rolle, da durch sie die Anzahl der Moleküle vergrößert wird. Dies geschieht durch Spaltung der initial hochmoleku-laren HES-Moleküle. Eine Akkumulation von großen Molekülen sollte zu einem Anstieg der Plasmaviskosität führen (*Treib et al., 1997*). Der frühzeitige Anstieg der PV unmittelbar im Anschluß an die Infusion ist durch die neu infundierten, noch hochmolekularen, HES-Moleküle erklärbar, während die zweite Anstiegsphase, nach Infusionsende, durch beginnen-de Spaltungsprozesse, mit konsekutiver Erhöhung der Molekülzahl, bedingt sein könnte. Auf-grund der besonderen physikochemischen Eigenschaften der untersuchten HES 450/0,7 er-folgte ein verzögerten Abbau durch die erschwerte Spaltung der Moleküle. Dies erklärt auch den lange anhaltenden Effekt der Plasmaviskositätserhöhung, der in etwa parallel zur Nach-weisbarkeit von HES-Molekülen im Serum verlief. Zu den selben Ergebnissen kamen auch die Autoren anderer Studien (*Koscielny et al., 1994; Boldt et al, 1994*), von denen der Effekt von HES-Lösungen auf die Plasmaviskosität untersucht wurde. Abschließend ist zu erwäh-nen, dass die Erhöhung oder der Abfall der Plasmaviskosität bei mittel- und hochsubstituierter HES vor allem von der molaren Substitution beeinflusst wird, da je höher diese ist, eine Ver-kleinerung der Moleküle nur sehr verzögert geschieht und so relativ große Moleküle im Blut verbleiben, die die Plasmaviskosität erhöhen. Liegt das mittlere Molekulargewicht (M_w) der Infusionslösung in vivo relativ niedrig, d.h. im Bereich oder wenig oberhalb der Nieren-schwelle von 40.000 Da, dann spielt die molare Substitution eine eher untergeordnete Rolle, da die Moleküle sehr schnell renal eliminiert werden und die Plasmaviskosität rasch abnimmt (*Treib et al., 1996; Ehrly, 1985*), auch wenn diese Absenkung dann nur von kurzer Dauer ist.

4.8. Ausblick

Den vorliegenden Ausführungen folgend stellen sich erneut Fragen, die vor allem für den klinischen Anwender Bedeutung haben könnten.

- Ist eine Einteilung von HES ausschließlich nach dem Molekulargewicht überhaupt zu-lässig, oder muß nicht der molaren Substitution die vorrangige Rolle bei der Produkt-deklaration eingeräumt werden ?

-
- Würde die Aufnahme des C2/C6-Verhältnis in die Produktbeschreibung klinisch relevante Vorteile für die klinischen Anwender bringen oder trüge dieser analytisch kaum erfassbare Parameter lediglich zu deren weiteren Verunsicherung bei ?
 - Inwieweit sind vorwiegend nach Substitution definierte Dosierungsrichtlinien erforderlich, die für jedes Präparat, durch ausführliche klinische Studien, festzulegen sind ?
 - Sind weiterführende, umfassende Studien notwendig, durch die mögliche präparatspezifische (d.h. substitutionsspezifische) Nebenwirkungen erfasst werden könnten ?
 - In welchem Maße sind erhebliche Unterschiede innerhalb der einzelnen Chargen noch vertretbar und müssen dem Hersteller nicht Grenzwerte gesetzt werden ?
 - Sollten die für die jeweiligen HES-Präparate gestellten Indikationen anhand klinischer Studien erneut überprüft werden und evtl. in Abhängigkeit von der Substitution neu gestellt werden ?

5. Zusammenfassung/ Summary

5.1 Zusammenfassung

Die bei verschiedenen klinischen Indikationen, wie beispielsweise als Volumenersatz oder zur Hämodilution, eingesetzte Hydroxyethylstärke wird vorwiegend über das Molekulargewicht und, sachlich richtiger, über die molare Substitution charakterisiert. In neueren Publikationen wurde die Beachtung der Substituentenverteilung, das C2/C6- Verhältnis, als zusätzliches Merkmal gefordert. Ferner sollten nicht die Parameter der Ausgangslösung, sondern die „in vivo- Merkmale“ als maßgeblich für die Charakterisierung von HES herangezogen werden. Obwohl die hochsubstituierte HES in den siebziger Jahren eingeführt wurde, fehlen bisher noch immer Untersuchungen dieser HES. Die überwiegende klinische Anwendung der nachträglich eingeführten mittelsubstituierten HES hat hierzu entscheidend beigetragen.

Ziel dieser Arbeit war es, an freiwilligen Versuchspersonen die in vivo- Veränderungen einer hochsubstituierten, hochmolekularen, HES (HES 450/0,7) nach Mehrfachinfusionen mit längerer Nachbeobachtung zu untersuchen. Dabei sollten die chemischen Veränderungen der HES im Serum und im Sammelurin mittels High Performance Liquid Chromatographie (HPLC) und Gaschromatographie (GC) bestimmt werden.

Wie bereits in früheren Untersuchungen nachgewiesen wurde, konnte erneut festgestellt werden, dass auch langfristig weniger als 50 Prozent der am Probanden infundierten HES im Harn wiedergefunden werden (lediglich 37,35% der infundierten Menge). Aufgrund einer langsamen Elimination der verwendeten hochsubstituierten HES aus dem Plasmaverteilungsraum führen die täglich wiederholten Infusionen zu einem raschen Anstieg der Serumkonzentration von HES. Andererseits ist festzustellen, dass die Serumkonzentration von HES 30 Tage nach der letzten Infusion noch immer mehr als 50 Prozent der HES- Konzentration nach Abschluß der ersten Infusion beträgt. Das mittlere Molekulargewicht (M_w) der HES im Serum nimmt zunächst rasch auf Werte knapp über 200.000 Dalton (Da) ab; auch 30 Tage nach der letzten Infusion werden noch Werte knapp unter 200.000 Da gemessen. Das Zahlenmittel (M_n) steigt hingegen rasch an und bleibt dann relativ konstant um etwa 130.000 Da. Dies bedeutet, dass die HES in vivo einheitlicher wird. Eliminiert werden zunächst die hochmolekularen Anteile durch Aufspaltung und die niedermolekularen durch renale Elimination. Der Polydispersitätsquotient nimmt dementsprechend erheblich ab.

Die gaschromatographische Bestimmung der molaren Substitution und des C2/C6- Verhältnis beschränkte sich auf die im Harn wiedergefundene HES. Hierbei konnte festgestellt werden,

dass sich die molare Substitution kaum veränderte. Andererseits erfolgte ein deutlicher Anstieg des C2/C6- Verhältnis im Versuchsverlauf. Dies bedeutet eine Verminderung der Substitution an C6.

Erwartungsgemäß erfolgte durch die Applikation von HES eine Hämodilution, die im weiteren Verlauf der mehrtätig wiederholten Infusionen durch versuchsbedingte Blutverluste überlagert und verstärkt wurde. Der kolloidosmotische Druck (KOD) nahm während der Infusion geringfügig zu, ebenso die Plasmaviskosität, die im Gegensatz zum KOD auch langfristig erhöht blieb. Die Amylaseaktivität im Serum nahm erwartungsgemäß zu und war auch 30 Tage nach der letzten Infusion als Ausdruck der Komplexbildung mit HES noch um 150 Prozent gegenüber dem Ausgangswert erhöht.

Als wesentliches Ergebnis der vorgelegten Untersuchungen ist das Ausmaß der Kumulation von HES im Serum nach Mehrfachinfusionen anzusehen, die auch durch den dauerhaften Anstieg der Serumamylaseaktivität untermauert wird. Die verwendete Dosierung von HES lag noch im Bereich der Herstellerempfehlungen, wobei dieser keinerlei Hinweise auf eine mögliche Kumulation gibt. Der Nachweis hoher HES- Konzentrationen auch Wochen nach Infusion von hochsubstituierter HES scheint bedeutsam für die Dosierung bei Mehrfachinfusionen zu sein. Das Gewichtsmittel der Molmassen von hochmolekularer HES nimmt innerhalb des Organismus von 409.880 Da auf 232.580 Da nach der letzten Infusion ab, während das Zahlenmittel von 101.480 Da auf 132.020 Da zunimmt. Dies führt zu einer Abnahme des Polydispersitätsquotienten, d.h. zu einem engeren Schnitt der Molekülverteilung. Interessanterweise liegen die mittleren Molmassen von hochsubstituierter HES (0,7) im Serum deutlich oberhalb der Werte für mittelsubstituierte HES (0,5) und damit auch deutlich oberhalb der für diese HES ermittelten Nierenschwelle von 40.000 Da. Auch diese Daten, die erheblich von den Daten für mittelsubstituierte HES abweichen, können als Argument gegen die Charakterisierung von HES nach der in-vivo- Molmassenverteilung angeführt werden. Grundsätzlich kann aus den Daten abgeleitet werden, dass nicht kontrollierte Mehrfachinfusionen hochsubstituierter HES bei nachweislicher Kumulation zu Nebenwirkungen in Folge von überhöhter Volumenwirkung führen können. Dem entspricht, dass klinisch relevante Nebenwirkungen in der Regel nur bei Verwendung hochsubstituierter HES beobachtet wurden. Die vorgelegten Daten sollten Anlaß sein, die Dosierungsrichtlinien für Mehrfachinfusion hochsubstituierter HES zu modifizieren.

5.2 Summary

Hydroxyethyl-starch (HES) which is used for hemodilution or as volume substitute is characterized by its molecular weight and by its molar substitution *in vitro*. More recent publications focus on the C2/C6 ratio as an additional characteristic. Further it is suggested to typify HES by its *in vivo* characteristics. Even if high- substituted HES has been introduced in the seventies until now there are no investigations on this kind of HES in the scientific literature. This lack of data may be due to the predominant use of middle- substituted HES in clinical routine.

The purpose of this study was to investigate the longterm *in vivo* changes of high- substituted HES (HES 450/0,7) after repetitive infusion in healthy volunteers. We investigated the chemical changes of HES by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and gas chromatography (GC) in serum and collected urine specimens.

Similar to former publications we observed that less than 50% of the HES which was infused could be found in the collected urine (only 37,35%). Due to its slow elimination repetitive infusions of high- substituted HES lead to a rapid increase of serum levels. On the other hand we found, that the serum levels of HES after 30 days still were above 50% of the levels we found after the first infusion. The mean molecular weight (Mw) of HES initially decreases to approximately 200.000 Dalton (Da). After 30 days the mean molecular weight still was just less than 200.000 Da. The mean number average weight of the mol masses (Mn) increased quickly and remained at about 130.000 Da. This means that HES becomes more homogeneous by the time *in vivo*. Initially the high molecular fraction is eliminated by fission and the low molecular part by renal elimination. Therefore the quotient of polydispersity decreases considerably.

Molar substitution and C2/C6 ratio were measured by gas chromatography only in urine. We found that there were no significant changes in molar substitution but a distinct increase of the C2/C6 ratio. This may be caused by a decrease of the C6 substitution.

As expected there was a hemodilution due to the repetitive application of HES which was intensified by the loss of blood according to the study protocol. The colloid osmotic pressure (COP) and the plasma viscosity initially increased slightly during the infusions. However there was a longterm elevation of the viscosity only and not of the colloid osmotic pressure. As expected the activity of serum amylase increased and remained on elevated levels (150% of starting level) until 30 days after the final infusion.

One of the major results of this study is the degree of the accumulation of HES after repeated infusions which is supported by the long lasting elevation of serum amylase activity. We used

doses of HES according to the producer's instructions. However the producer's instructions do not content any information on a potential accumulation. The proof of high serum levels of HES even weeks after the final infusion of high molecular HES seems to be important for dose findings when repetitive administration is necessary. The mean molecular weight of high molecular HES in vivo decreases from 409.880 Da to 232.580 Da after the final infusion, while the mean number average weight of the mol masses increases from 101.480 Da to 132.020 Da. This leads to a decrease of the quotient of polydispersity and indicates a smaller width of the molecular distribution.

The mean molecular weight of high substituted HES (0,7) exceeds the values of medium substituted HES (0,5) in the serum and it is consequently above the renal threshold of medium substituted HES which was determined at 40.000 Da.

These data, which differ significantly from those on mean substituted HES, suggest not to use the in vivo distribution of molecular weight for characterization of HES. We furthermore conclude from our data that uncontrolled repetitive administration of high substituted HES leads to accumulation and consecutive side effects due to volume overload. Accordingly clinically relevant side effects are usually only seen after the use of high substituted HES. With reference to our results we recommend to modify the producer's dose instructions for repetitive administration.

6. Literaturverzeichnis

- Asskali F (1988):** Einfluß von Substitution und Molekulargewicht auf die Pharmakokinetik von Hydroxyethylstärke – Untersuchung bei Versuchspersonen.
Beitr Anaesth Intensivmed 26: 43-53
- Asskali F, Förster H (1997):** Hydroxyethylstärke aus Rohstoffen unterschiedlicher Herkunft: Vergleich von Pharmakokinetik und Pharmakodynamik.
J Anaesth Intensivbeh 4: 70-76
- Asskali F, Förster H (1999):** Zur Kumulation unterschiedlich substituierter Hydroxyethylstärke (HES) nach repetitiver Infusion bei gesunden Versuchspersonen.
Anaesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 34: 537-541
- Boldt J, Knothe C, Zickmann B, Andres P, Dapper F, Hempelmann G (1993):** Influence of different intravascular volume therapies on platelet function in patients undergoing cardiopulmonary bypass.
Anesth Analg 76: 1185-1190
- Boldt J, Zickmann B, Rapin J, Hammermann H, Dapper F, Hempelmann G (1994):** Influence of volume replacement with different HES-solutions on microcirculatory blood flow in cardiac surgery.
Acta Anaesthesiol Scand 38: 432-438
- v.Bormann B (1986):** Die akute normovolämische Hämodilution bei großen operativen Eingriffen.
Chirurg 57: 457-464
- v.Bormann B (1988):** Akzeptanz einer normovolämischen Anämie zur Einsparung von Fremdbluttransfusionen
Perfusion 2: 83-90
- v.Bormann B (1989):** Blutsparende Verfahren- anästhesiologische Aspekte.
Unfallchirurgie 15: 194-200
- v.Bormann B (1993):** Volumentherapie in der operativen Medizin.
Krankenhausarzt 66: 1-7
- Chang JC, Gross HM, Jang NS (1990):** Disseminated intravascular coagulation due to intravenous administration of hetastarch.
Am J Med Sci 300: 301-303
- Cohn EJ (1941):** The properties and functions of the plasma proteins with a consideration of the methods for their separation and purification.
Chem.Rev. 28: 395-417
- Desloovere C, Meyer-Breiting E, von Ilberg C (1988):** Randomisierte Doppelblindstudie zur Hörsturztherapie.
HNO 36: 417-422

Dieterich HJ, Kraft D, Sirtl C, Laubenthal H, Schimetta W, Pölz W, Gerlach E, Peter K (1998):

Hydroxyethyl Starch Antibodies in Humans: Incidence and Clinical Relevance.

Anesth Analg 86: 1123-1126

Ehrly AM, Landgraf H (1985): Influence of intravenous infusions of hydroxyethylstarch (HES) (Mw 40000 and 450000) on the blood flow properties of healthy volunteers.

Angiology 36: 41-44

Felfernig M, Franz A, Bräunlich P, Fohringer C, Kozek-Langenecker SA (2003):

The effects of hydroxyethyl starch solutions on thromboelastography in preoperative male patients.

Acta Anaesthesiol Scand 47: 70-73

Ferber HP, Nitsch E, Förster H (1985): Part II: Changes of the molecular weight distribution for hydroxyethyl starch types 450/0.7, 450/0.5, 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 35: 615-622

Fömmel D (1994): Veränderungen von Substitutionsgrad und Substitutionsmuster von HES nach parenteraler Applikation an freiwilligen Versuchspersonen, gemessen mit einer neuentwickelten GC-Methode.

Dissertation, Johann-Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

Förster H, Wicarkzyk C, Dudziak R (1981): Bestimmung der Plasmaelimination von Hydroxyethylstärke und von Dextran mittels verbesserter analytischer Methodik.

Infusionsther Klin Ernähr 8:88-94

Förster H (1988): Physikalisch-chemische und physiologische Bedeutung von Substitution und Molekulargewicht bei Hydroxyethylstärke.

In: Heilmann L, Ehrly M (Hrsg.) Hämorheologie und operative Medizin. MWP-Verlag, München, S 118-134

Förster H (1994): Künstlicher Blutersatz.

Chirurg 65: 1085-1094

Förster H (1997a): Hydroxyethylstärke als Plasmaersatz.

Krankenpfl J 35: 497-506

Förster H (1997b): Speicherung von HES als mögliche Ursache von Nebenwirkungen.

J Anaesth Intensivbeh 3:24-33

Förster H, Asskali F (1998): Grundlagen der Anwendung von Hydroxyethylstärke, was ist gesichert, was ist Spekulation ?

J Anaesth Intensivbeh 5: 2-11

Förster H, Asskali F (1999): Wirkungen, Nebenwirkungen und Pseudowirkungen kolloidaler Volumenersatzmittel- eine kritische Analyse.

J Anaesth Intensivbeh 4: 2-12

-
- Förster H, Krech I, Asskali F (1999a):** Nierenschwelle für Hydroxyethylstärke
Einfluss der Molekülgröße auf die Verweildauer im Gefäßsystem.
Krankenhauspharmazie 11:476-484
- Förster H, Meier B, Asskali F (1999b):** Aufnahme von Fluorescein-markierter Hydroxyethylstärke durch organgebundene und zirkulierende Zellen des retikuloendothelialen Systems.
Infusionsther Transfusionsmed 26: 45-52
- Förster H, Lehmann G, Asskali F (2001):** Das in vivo mittlere Molekulargewicht und die Nierenschwelle von Hydroxyethylstärke am Beispiel mittelsubstituierter HES (HES 70/0,5).
Anaesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 36: 31-37
- Franz A, Bräunlich P, Gamsjäger T, Felfernig T, Gustorff B, Kozek SA (2001):**
The effects of hydroxyethyl starches of varying molecular weights on platelet function.
Anesth Analg 92: 1402-1407
- Gaethgens P (1996):** Das Kreislaufsystem.
In: Klinker R, Silbernagl S (Hrsg) Lehrbuch der Physiologie. Thieme, Stuttgart New York, S 141-185
- Ginz HF, Gottschall V, Schwarzkopf G, Walter K (1998):** Exzessive Gewebespeicherung von Kolloiden im retikuloendothelialen System.
Anaesthesist 47: 330-334
- Goodnough LT, Despotis GJ, Merkel K, Monk TG (2000):** A randomised trial comparing acute normovolemic hemodilution and preoperative autologous blood donation in total hip arthroplasty.
Transfusion 40: 1054-1057
- Gottwald W (1995):** GC für Anwender.
In: Gottwald W (Hrsg) GC für Anwender. VCH-Verlag, Weinheim New York Basel, S 75-77
- Haaß A (1989):** Therapie des akuten ischämischen Insultes.
Nervenheilkunde 8: 35-45
- Halmágy M (1984):** Zur Bewertung des kolloidalen Volumenersatzmittels 6% HÄS 40/0,5
Anaesthesist 33: 73-81
- Hecht G, Weese H (1943):** Periston, ein neuer Blutflüssigkeitsersatz.
München. Med. Wchnschr. 90, 11
- Hedin H, Richter W, Ring J (1976):** Dextran-induced anaphylactoid reactions in man. Role of dextran-reactive antibodies.
Int Arch Allergy Appl Immunol 52: 145-159
- Heilmann L, Hojnacki B, Spanuth E (1991):** Hämostase und Präeklampsie.
Geburtshilfe Frauenheilkd 51: 223-227
- Heinlein H, Hübner G (1958):** Nachweis des Peristons im Blut, Harn und Gewebe.
Beit. Path. Anat. 119(2): 301-315

-
- Jung F, Waldhausen P, Mrowietz C, Spitzer S, Kiewewetter H, Wenzel E. (1989):** Hemorheologic, micro- and macrocirculatory effects of an infusion of 500ml of 6% medium molecular weight hydroxyethyl starch (HES 200/0,5).
Infusionstherapie 16: 148-154
- Jung F, Koscielny J, Mrowietz C, Wolf S, Kiewewetter H, Wenzel E (1990):** Effect of hemodilution on systemic and capillary hematocrit.
Infusionstherapie 17: 268-275
- Jung F, Koscielny J, Mrowietz C, Förster H, Schimetta W, Kiewewetter H, Wenzel E (1993):** Einfluß der Molekülstruktur von Hydroxyethylstärke auf die Eliminationskinetik und Fließfähigkeit des Blutes bei Probanden
Arzneimittelforschung 43: 99-105
- Kalhorn T, Yacobi A, Sum CY (1984):** Biliary excretion of hydroxyethyl starch in man.
Biomed Mass Spectrom 11: 164-166
- Kiewewetter H, Jung F, Blume J, Gerhards M (1987):** Hämodilution bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit im Stadium IIB: Prospektiver, randomisierter Doppelblind- Vergleich von niedermolekularer Hydroxyethylstärke und kleinemolekularer Dextranlösung.
Klin Wochenschr 65:324-330
- Kiewewetter H, Jung F, Blume J, Spitzer S, Birk A (1991):** Hyper- or isovolemic hemodilution in patients with stage II peripheral arterial occlusive disease.
Acta Med Austriaca 18 Suppl 1: 23-27
- Kimme P, Jannsen B, Ledin T, Gupta A, Vegfors M (2001):** High incidence of pruritus after large doses of hydroxyethyl starch (HES) infusions.
Acta Anaesthesiol Scand 2001; 45: 686-689
- Knutson JE, Deering JA, Hall FW, Nuttall GA, Schroeder DR, White RD, Mullany CJ (2000):** Does intraoperative hetastarch administration increase blood loss and transfusion requirements after cardiac surgery?
Anesth Analg 90: 801-807
- Köhler H, Kirch W, Weihrauch TR, Prellwitz W, Horstmann HJ (1977a):** Macroamylasaemia after treatment with hydroxyethyl starch
Eur J Clin Invest 7: 205-211
- Köhler H, Kirch W, Horstmann HJ (1977b):** Die Bildung hochmolekularer Komplexe aus Serumamylase und kolloidalen Plasmaersatzmitteln.
Anaesthesist 26: 623-627
- Köhler H, Kirch W, Klein H, Distler A (1978):** Die Volumenwirkung von 6% Hydroxyethylstärke, Dextran 40 und 3,5% isozyanatvernetzter Gelatine bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz.
Anaesthesist 27: 421-426

-
- Koscielny J, Jung F, Mrowietz C, Pindur G, Förster H, Schimetta W, Kiesewetter H, Wenzel E (1994):** Comparison of two 6% middle-molecular hydroxyethyl starch solutions on elimination kinetics and flow characteristics of blood in volunteers.
Infusionsther Transfusionsmed 21: 251-259
- Kreimeier U, Peter K, Meßmer K (2001):** Small volume-large benefit ?
Anaesthesist 50: 442-449
- Kröll W, Pölz W, Schimetta, W (1994):** „Small volume resuscitation“ Eröffnen sich damit neue Möglichkeiten in der Behandlung des hypovolämischen Schocks?
Wien Klin Wochenschr 106: 8-14
- Langeron O, Doelberg M, Ang ET, Bonnet F, Capdevila X, Coriat P (2001):** Voluven®, a lower substituted novel Hydroxyethyl Starch (HES 130/0,4), causes fewer effects on coagulation in major orthopedic surgery than HES 200/0,5.
Anesth Analg 92: 855-862
- Laxenaire M, Charpentier C, Feldman L (1994):** Réactions anaphylactoides aux substitues colloïdaux du plasma : incidence, facteurs de risque, mécanisme.
Ann Fr Anesth Reanim 13: 301-310
- Le Gal YM (1975):** A review of the History of blood replacement from the 17th to the 20th Centuries.
Rev Surg 32 (4): 229-239
- Lehmann G (2001):** Hydroxyethylstärke (HES) im Urin nach Mehrfachinfusion von HES (70/0,5) Physiko-chemische Charakterisierung mittels Gas- und Flüssigchromatographie
Dissertation, Johann-Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
- Lenz K, Schimetta W, Pölz W, Kröll W, Gruy-Kapral C, Magometschnigg D (2000):** Intestinal elimination of hydroxy ethyl starch?
Intensive Care Med 26: 733-739
- Lockwood DN, Bullen C, Machin SJ (1988):** A severe coagulopathy following volume replacement with hydroxyethyl starch in a Jehovah's Witness.
Anaesthesia 43: 391-393
- Mbaba MJ, De Backer D, Vincent JL (2000):** Effects of a hydroxyethylstarch solution on plasma colloid osmotic pressure in acutely ill patients.
Acta Anaesthesiol Belg 51: 39-42
- Messmer K, Jesch F (1978):** Volumenersatz und Hämodilution durch Hydroxyethylstärke.
Infusionsther Klin Ernähr 5:169-177
- Metze D, Reimann S, Szepfalusi Z, Bohle B, Kraft D, Luger TA (1997):** Persistent pruritus after hydroxyethyl starch infusion therapy: A result of long-term storage in cutaneous nerves.
Br J Dermatol 136: 553-559

Mielke LL, Entholzner EK, Kling M, Breinbauer BE, Burgkart R, Hargasser SR, Hipp RF (1997): Preoperative acute hypervolemic hemodilution with hydroxyethylstarch : an alternative to acute normovolemic hemodilution?

Anesth Analg 84: 26-30

Mishler JM, Durr GH (1980): Macroamylasemia induced by hydroxyethyl starch-confirmation by gel filtration analysis of serum and urine.

Am J Clin Pathol 74: 387-391

Mishler JM, Ricketts CR, Parkhouse EJ (1981): Urinary excretion kinetics of hydroxyethyl starch 350/0,6 in normovolaemic man.

J Clin Pathol 34: 361-365

Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Schäfer-Korting M (2001): Plasmaersatzflüssigkeiten.

In: Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Schäfer-Korting M (Hrsg) Mutschler Arzneimittelwirkungen. WVG, Stuttgart, S 492-495

Niederle N, Weidmann B (1999): Polycythaemia rubra vera

In: Alexander K, Daniel WG, Diener HC, Freund M, Köhler H, Matern S, Maurer HH, Michel BA, Nowak D, Rislér T, Schaffner A, Scherbaum WA, Sybrecht GW, Wolfram G, Zeitz M (Hrsg) Thiemes Innere Medizin TIM. Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, S.889-891

Pöhlmann R (1998): Hydroxyethylstärke-der Unterschied liegt im Detail; Wachsmastärke und Kartoffelstärke im Vergleich.

Krankenhauspharmazie 4: 187-189

Rackow EC, Falk JL, Fein IA, Siegel JS, Packman MI, Haupt MD, Kaufman BS, Putnam D (1983): Fluid resuscitation in circulatory shock: a comparison of the cardiorespiratory effects of albumin, hetastarch and saline solutions in patients with hypovolemic and septic shock.

Crit Care Med 11: 839-850

Richter W, Hedin H, Ring J, Kraft D, Messmer K (1980): Anaphylaktoide Reaktionen nach Dextran. I. Immunologische Grundlagen und klinische Befunde.

Allergologie 2: 51-58

Schulze H (1991): Plasmaersatzstoffe- Dextran und Hydroxyethylstärke im Vergleich.

Krankenhauspharmazie 12: 551-556

Sibbald WJ, Driedger AA, Wells GA, Myers ML, Lefcoe M (1983):

The short-term effects of increasing plasma colloid osmotic pressure in patients with noncardiac pulmonary edema.

Surgery 93: 620-633

Silbernagl S (1996): Maßeinheiten, Kurven und ein wenig Mathematik.

In: Klinké R, Silbernagl S (Hrsg) Lehrbuch der Physiologie, 2. neugestaltete Auflage; Thieme, Stuttgart New York, S 733-741

-
- Singbartl K, Schleinzer W, Singbartl G (1999):** Hypervolemic hemodilution: an alternative to acute normovolemic hemodilution ? A mathematical analysis
J Surg Res 86: 206-212
- Sirtl C, Laubenthal H, Zumtobel V, Kraft D, Jurecka W (1999) :** Tissue deposits of hydroxyethyl starch (HES): dose-dependent and time-related.
Br J Anaesth 82: 510-515
- Sommermeier K, Cech F, Schmidt M, Weidler B (1987) :** Klinisch verwendete Hydroxyethylstärke: Physikalisch-chemische Charakterisierung
Krankenhauspharmazie 8: 271-278
- Ständer S, Szépfalusi Z, Bohle B, Ständer H, Kraft D, Luger TA, Metze D (2001):** Differential storage of hydroxyethyl starch (HES) in the skin:
An immunoelectron-microscopical long-term study.
Cell Tissue Res 304: 261-269
- Steen M, Ziegelmeier P (1985):** Hydroxyethylstärke 450/0,7 im Verbrennungsschock
Auswirkungen auf die Ödembildung.
Unfallchirurg 88: 22-26
- Sum CY, Lai CM, Yacobi A, Kalthorn TF (1983):** Chemical characterization of the persistent fraction of hydroxyethyl starch in rat serum and spleen.
Life Sci 20: 1989-1994
- Theisen A (2001):** Tierexperimentelle Untersuchungen zum Einfluss des Substitutionsmusters (C2/C6-Verhältnis) auf die Serumelimination des Plasmaexpanders Hydroxyethylstärke
Dissertation, Medizinische Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig
- Treib J, Haass A, Pindur G, Seyfert T, Treib W, Grauer MT, Jung F, Wenzel E, Schimrigk K (1995):** HES 200/0,5 is not HES 200/0,5
Influence of the C2/C6 Hydroxyethylation ratio of Hydroxyethyl Starch (HES) on hemorheology, coagulation and elimination kinetics.
Haemostasis 74: 1452-1456
- Treib J, Haass A, Pindur G, Grauer MT, Wenzel E, Schimrigk K (1996a):** All medium starches are not the same: influence of the degree of hydroxyethyl substitution of hydroxyethyl starch on plasma volume, hemorrheologic conditions, and coagulation
Transfusion 36: 450-455
- Treib J, Haass A, Pindur G, Grauer MT, Seyfert UT, Treib W, Wenzel E, Schimrigk K. (1996b):** Influence of low molecular weight hydroxyethyl starch (HES 40/0,5-0,55) on hemostasis and hemorheology.
Haemostasis 26: 258-265
- Treib J, Haass A, Pindur G (1997a):** Coagulation disorders caused by hydroxyethyl starch.
Thromb Haemost 78: 974-983

-
- Treib J, Haass A, Pindur G, Grauer MT, Jung F, Wenzel E, Schimrigk K (1997b):** Increased hemorrhagic risk after repeated infusion of highly substituted medium molecular weight hydroxyethyl starch.
Arzneimittelforschung 47: 18-22
- Treib J, Baron JF, Grauer MT, Strauss RG (1999):** An international view of hydroxyethyl starches.
Intensive Care Med 25: 258-268
- Trumble ER, Muizelaar JP, Myseros JS, Choi SC, Warren BB (1995):** Coagulopathy with the use of hetastarch in the treatment of vasospasm.
J Neurosurg 82: 44-47
- Warren BB, Durieux ME (1997):** Hydroxyethyl starch: Safe or not?
Anesth Analg 84: 206-212
- Weidhase R, Faude K, Weidhase R (1998):** Hydroxyethylstärke- ein Zwischenbericht.
Anaesthesiol Reanim 23: 4-14
- Weidhase R, Faude K (1999):** Volumenersatz und Volumentherapie- Gibt es den universellen Standard ?
J Anaesth Intensivbeh 4: 14-17
- Weidler B, Sommermeyer K (1989):** Hydroxyethylstärke-Kinetik im Probandenversuch: Einfluß von Molekulargewicht, Substitution und Substituentenposition.
J Anaesth Intensivbeh 74: 45-55
- Weidler B, v.Bormann B, Sommermeyer K, Lohmann E, Pfeil J, Hempelmann G (1991):** Pharmakokinetische Merkmale als Kriterien für den klinischen Einsatz von Hydroxyethylstärke.
Arzneimittelforschung 41: 494-498
- Wicarkzyk C (1981):** Zum Verhalten von intravenös verabreichter Hydroxyethylstärke im Vergleich zu Dextran.
Dissertation, Johann-Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
- Yoshida M, Yamashita T, Matsuo J, Kishikawa T (1973):** Enzymic Degradation of Hydroxyethyl Starch
Part I. Influence of the Distribution of Hydroxyethyl Groups on the Enzymic Degradation of Hydroxyethyl Starch
Stärke 25: 373-376
- Yoshida M, Kishikawa T (1984a):** Part II: Degradation- Sites of Hydroxyethyl Starch by Pig Pancreas α -Amylase
Stärke 36: 167-169
- Yoshida M, Nozaka T, Kishikawa T (1984b):** Part V. Some Physicochemical and Biological Properties of Hydroxyethyl Starch Isolated from the Blood and Urine, and Limit Hydroxyethyl Starch
Stärke 36: 269-272

Zijlstra WG, Kampen Ejvan (1960): Standardization of hemoglobinometry.I.
The extinction coefficient of hemiglobincyanide.
Clin Chim Acta 5:719-729

Zijlstra WG, Kampen Ejvan (1962): Standardization of hemoglobinometry.III.
Preparation and use of a stable hemoglobin-cyanide standard.
Clin Chim Acta 7: 96-99

Zikria BA, King TC, Stanford J, Freeman HP (1989): A biophysical approach to capillary permeability.
Surgery 105: 625-631

7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Wirkung der Substitution auf das Verhalten von Stärke (Förster, 1988).....	7
Abbildung 1.2: Mögliche Substituentenpositionen (Fömmel, 1994).....	10
Abbildung 3.1: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3 <i>Verlauf der molaren Substitution (MS) der im Urin ausgeschiedenen HES nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7 unter Berücksichtigung der beiden Sammelperioden 0-8h und 8-24h.....</i>	25
Abbildung 3.2: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3 <i>Verlauf des C2/C6-Verhältnis der im Urin ausgeschiedenen HES nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7 unter Berücksichtigung der beiden Sammelperioden 0-8h und 8-24h.....</i>	26
Abbildung 3.3: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3 <i>Verlauf der im Urin wiedergefundenen C2- und C6-Monomere, quantitativ (g) im 24h Sammelurin nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	27
Abbildung 3.4: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3 <i>HES-Ausscheidung in Gramm im Urin nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7 unter Berücksichtigung der beiden Sammelperioden 0-8h und 8-24h, gaschromatographische Methode.....</i>	28
Abbildung 3.5: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3 <i>HES-Wiederfindung im Urin in Prozent der infundierten HES-Menge nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7 unter Berücksichtigung der jeweils am nächsten Infusionstag neu infundierten HES-Menge.....</i>	29
Abbildung 3.6: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Prozentuale Verteilung der HES-Ausscheidung im Urin auf die unterschiedlichen Sammelperioden innerhalb eines Tage nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	30
Abbildung 3.7: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3 <i>HES-Ausscheidung in Gramm im Urin nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7 unter Berücksichtigung der beiden Sammelperioden 0-8h und 8-24h, enzymatische Methode.....</i>	31

Abbildung 3.8: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3 <i>Unterschiede der HES-Wiederfindung im Urin in Prozent im Vergleich der beiden analytischen Methoden (GC-Methodik v.s. enzymatische Methode) nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	32
Abbildung 3.9: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3 <i>Ausgeschiedene Harnstoffmenge in Gramm im 24h Urin nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	33
Abbildung 3.10: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Verlauf der mit der enzymatischen Methode gemessenen HES-Konzentration im Serum (mg/ml) nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	34
Abbildung 3.11: HES Infusion bei Probanden, Folgetage 1-31 <i>Verlauf der HES-Konzentration im Serum (mg/ml) nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7, ermittelt über die enzymatische Methode.....</i>	35
Abbildung 3.12: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5, Folgetage 1-10 <i>Halbwertszeiten von HES im Serum (h) nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	36
Abbildung 3.13: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Verlauf der Veränderungen des mittleren Molekulargewichts M_w (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	37
Abbildung 3.14: HES Infusion bei Probanden, Folgetage 1-31 <i>Verlauf der Veränderungen des M_w (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	38
Abbildung 3.15: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Verlauf der Veränderungen des M_n (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	39
Abbildung 3.16: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Verlauf der Veränderungen der Spitzenfraktion S_f 90% (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	40
Abbildung 3.17: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Verlauf der Veränderungen der Bodenfraktion B_f 10% (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	41
Abbildung 3.18: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Verlauf des Polydispersitätsquotienten von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	42

Abbildung 3.19: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Verlauf der α-Amylaseaktivität (U/l) im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	43
Abbildung 3.20: HES Infusion bei Probanden, Folgetage 1-31 <i>Verlauf der α-Amylaseaktivität (U/l) im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	44
Abbildung 3.21: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Veränderungen des Hämoglobin in Prozent vom Wert vor 1.Infusion nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	45
Abbildung 3.22: HES Infusion bei Probanden, Folgetage 1-5 <i>Veränderungen des Hämoglobin in Prozent vom Wert vor 1.Infusion nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	46
Abbildung 3.23: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Veränderungen des Hämatokrit in Prozent vom Wert vor 1.Infusion nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	47
Abbildung 3.24: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Veränderungen der Plasmaviskosität in Prozent vom Wert vor 1. Infusion nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	48
Abbildung 3.25: HES Infusion bei Probanden, Infusionstage 1-5 <i>Veränderungen des KOD in Prozent vom Wert vor 1.Infusion nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	49

8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Handelsübliche HES-Präparate nach Roter Liste 2003.....	8
Tabelle 2.1: Probandendaten der Studie PS0897.....	15
Tabelle 2.2: Blutentnahmeschema der Infusionstage (Tage 1-5).....	16
Tabelle 2.3: Anleitung zur Aufbereitung der HES-Proben für die gaschromatographische Analyse.....	17
Tabelle 2.4: Verwendete Geräte u. Materialien für die gaschromatographische HES- Probenaufbereitung.....	18
Tabelle 2.5: Arbeitseinstellungen des Gaschromatographen für die HES- Analytik.....	19
Tabelle 2.6: HPLC-Einstellungen zur Molmassenbestimmung der HES-Moleküle.....	21
Tabelle 3.1: Infusionstage 1-5, Folgetage 1-3 <i>Verlauf des C2/C6-Verhältnis, berechnet anhand der Monomerenmenge (g) im 24h Urin nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	27
Tabelle 3.2: Infusionstage 1-5 <i>Verlauf der mit der enzymatischen Methode gemessenen HES-Konzentration im Serum (mg/ml) zu den verschiedenen Abnahmezeitpunkten nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	34
Tabelle 3.3: Infusionstage 1-5 <i>Veränderungen des Mw (Da) von HES im Serum während der verschiedenen Abnahmezeitpunkte nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	37
Tabelle 3.4: Infusionstage 1-5 <i>Veränderungen des Mn (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	39
Tabelle 3.5: Infusionstage 1-5 <i>Veränderungen der Spitzenfraktion Sf 90% (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	40
Tabelle 3.6: Infusionstage 1-5 <i>Veränderungen der Bodenfraktion Bf 10% (Da) von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	41
Tabelle 3.7: Infusionstage 1-5 <i>Veränderungen des Polydispersitätsquotienten von HES im Serum nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7.....</i>	42

Tabelle 3.8: Infusionstage 1-5*Veränderungen der α -Amylaseaktivität (U/l) im Serum nach**Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7..... 43***Tabelle 3.9:** Infusionstage 1-5*Veränderungen der Hämoglobinkonzentration (g/dl) zu den unterschiedlichen**Abnahmezeitpunkten nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7..... 45***Tabelle 3.10:** Folgetage 1-31*Veränderungen der Hämoglobinkonzentration (g/dl) nach Infusion**von 5x 466ml HES 450/0,7..... 46***Tabelle 3.11:** Infusionstage 1-5*Hämatokritwerte (%) zu den jeweiligen Abnahmezeitpunkten nach Infusion**von 5x 466ml HES 450/0,7..... 47***Tabelle 3.12:** Infusionstage 1-5*Veränderungen der Plasmaviskosität (mPa*s) zu den unterschiedlichen**Abnahmezeitpunkten nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7..... 48***Tabelle 3.13:** Infusionstage 1-5*Veränderungen des KOD (mmHg) zu den jeweiligen Abnahmezeitpunkten**Nach Infusion von 5x 466ml HES 450/0,7..... 49***Tabelle 4.1:** Halbwertszeiten (h) verschiedener HES-Lösungen nach*Mehrfachinfusion an 5 aufeinanderfolgenden Tagen..... 51*

9. Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. H.Förster für die Überlassung des Themas, die großzügige Bereitstellung der erforderlichen Materialien und vor allem für seine fachlichen und wissenschaftlichen Ratschläge.

Frau Dr. F.Asskali möchte ich danken für ihre ständige Ansprechbarkeit im Labor, die technische Unterstützung während des experimentellen Teiles dieser Arbeit und die schnelle Lösung von plötzlich aufgetretenen Problemen.

Herrn Dr. med. G.Lehmann danke ich für seine große Unterstützung vor allem in der schwierigen Anfangsphase dieser Arbeit, in der ich von seinen Kenntnissen der gaschromatographischen Analytik sehr stark profitieren konnte.

Frau M.Wagenblast, Frau C.Weber, Herrn Dr. A.Theisen, Herrn Dr. U.Warnken sei gedankt für ihr immer offenes Ohr bei Problemen jedweder Art, ihre geistige und moralische Unterstützung, sowie für zahlreiche schöne Stunden auch nach getaner Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich bei allen wissenschaftlichen und technischen Mitarbeitern des Institutes für Experimentelle Anästhesiologie für ihre Hilfe während der Einarbeitungsphase im Labor und dem folgenden experimentellen Teil dieser Arbeit bedanken.

10. Lebenslauf

- 08.06.1974** Geboren in Köln als älterer von 2 Söhnen,
Vater: *Paul Lesch* (Dipl.Ing. für Heizungstechnik)
Mutter: *Annelies Lesch*, geb. Friedl, (MTA für Labormedizin)
Bruder: *Daniel Lesch* (Bankkaufmann)
- 1981 - 1985** Grundschule Rehbergschule Rossdorf
- 1985 - 1987** Förderstufe Diesterwegschule Darmstadt
- 1987 – 1994** Gymnasium Justus-Liebig-Schule Darmstadt
- 14.06.1994** Abitur
- 07/94 – 09/95** Zivildienst bei der Johanniter-Unfall-Hilfe in Darmstadt/Griesheim
Beginn der Ausbildung zum Rettungssanitäter und Arbeit im Rettungsdienst der Stadt Darmstadt
- 10/95 – 04/97** Studium Jura über drei Semester mit Erwerb des Grundlagenscheins
Rechtsgeschichte, sowie des großen Strafrechtsscheins an der Johann
Wolfgang Goethe- Universität Frankfurt am Main
Parallel zum Studium häufige ehrenamtliche Arbeit im Rettungsdienst
der Stadt Darmstadt bei der Johanniter-Unfall-Hilfe
- 04/97 – 11/ 03** Studium der Humanmedizin an der Johann Wolfgang Goethe- Universi-
tät Frankfurt am Main
Während des gesamten Studiums, einschließlich PJ, hauptamtliche Tä-
tigkeit im Rettungsdienst der Stadt Frankfurt mit etwa 20h/ Woche
- 19.03.1999** Ärztliche Vorprüfung
- 23.03.2000** Erstes Staatsexamen
- 10.09.2002** Zweites Staatsexamen
- 2001-2003** Dissertation am Institut für Experimentelle Anaesthesiologie der Univer-
sitätsklinik Frankfurt am Main unter der Leitung von Prof. Dr. med. H.
Förster
- 10/02 – 09/03** Praktisches Jahr im Klinikum Darmstadt
Innere Medizin, Chirurgie, Wahlfach Anästhesie
- 24.11.2003** Drittes Staatsexamen

11. Schriftliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe- Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Hydroxyethylstärke (HES) im Urin nach Mehrfachinfusion von HES (450/0,7)

Physiko-chemische Veränderungen der Substanzcharakteristika einer hochsubstituierten, hochmolekularen HES

im Zentrum der Anästhesiologie und Wiederbelebung, Institut für Experimentelle Anästhesiologie, 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 Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt, den 29.12.2003

.....