

**Untersuchungen zur Funktionsanalyse
des retikuloendothelialen Systems
im Kaninchenmodell
unter Verwendung eines ^{99m}Tc-markierten,
humanen Albuminderivates (Nanocoll®)**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Claudius Kruse
aus Bielefeld

Giessen 2003

Aus dem Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik und Poliklinik 1
Leiter: Prof. Dr. H. Tillmanns
Klinische Pathophysiologie und Experimentelle Medizin
Ehem. Leiter: Prof. Dr. H. Neuhof

und

dem Zentrum für Radiologie,
Klinik für Nuklearmedizin
Leiter: Prof. Dr. Dr. R. Bauer

des Universitätsklinikums Giessen

Gutachter: Prof. Dr. H. Neuhof (Betreuer)
Prof. Dr. K. T. Preissner
Prof. Dr. Dr. R. Bauer

Tag der Disputation: 9. August 2004

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
1.1	Das retikuloendotheliale System (RES) – Definition.....	1
1.2	Funktion und Bedeutung des RES in Physiologie und Pathophysiologie.....	2
1.2.1	Physiologie.....	2
1.2.2	Pathophysiologie.....	2
1.3	Monitoring des RES	4
1.3.1	Bisherige Verfahren.....	4
1.3.2	Nanocoll®.....	5
2	ZIELSETZUNG UND VERSUCHSKONZEPT	7
3	MATERIAL UND METHODIK	8
3.1	Versuchstiere.....	8
3.2	Versuchsablauf.....	8
3.2.1	Präparation	8
3.2.2	Verlauf	9
3.2.3	Radioaktivitäts-Bestimmung.....	10
3.3	Nanocoll®.....	10
3.4	Gruppen.....	10
3.4.1	Kontrolle.....	11
3.4.2	Hypoxie I.....	11
3.4.3	Ancrod I.....	11
3.4.4	Ancrod II.....	12
3.4.5	Dextran	12
3.4.6	Hydroxyethylstärke.....	12
3.4.7	Hypoxie II.....	12
4	ERGEBNISSE	13
4.1	Vitalparameter.....	13

4.1.1	AP – Arterieller Mitteldruck	13
4.1.2	Arterieller pH.....	14
4.1.3	Arterieller pO ₂	14
4.1.4	Arterieller pCO ₂	14
4.1.5	Tabellarische Aufstellung der Vitalparameterverläufe	15
4.1.6	Graphische Darstellung der Vitalparameterverläufe.....	17
4.2	Nanocoll®-Clearance	31
4.2.1	Mononome Kurvenanpassung	31
4.2.2	Binome Kurvenanpassung nach Mehrkompartimentenmodell	33
4.3	Verteilung der Radioaktivität in Leber, Milz, Niere und Lunge.....	42
4.3.1	Verhältnis der Aktivitätskonzentrationen	42
4.3.2	Verhältnis der Radioaktivitätswiederfindung zwischen den kompletten Organen	43
4.3.3	Wiederfindung der applizierten Radioaktivität in den Organen	45
4.3.4	Wiederfindung der insgesamt applizierten Radioaktivität im Blut und in den Organen	46
5	DISKUSSION	48
5.1	Relevanz der Fragestellung.....	48
5.2	Relevanz des Nanocoll®.....	49
5.3	Relevanz des Versuchskonzeptes.....	50
5.3.1	Hypoxie.....	51
5.3.2	Defibrinierung.....	52
5.3.3	Kolloidaler Volumenersatz	53
5.3.3.1	Hydroxyethylstärke	53
5.3.3.2	Dextran	54
5.4	Ergebnisse.....	55
5.4.1	Nanocoll®-Clearance	55
5.4.2	Nanocoll®-Verteilung	59
5.5	Validität des Modells	61
5.6	Ausblick	62
5.7	Fazit	62
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	63

7	ABKÜRZUNGEN	65
8	VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN UND TABELLEN	66
9	LITERATUR.....	70
10	LEBENS LAUF	76
11	DANKSAGUNG	77

1 Einleitung

1.1 Das retikuloendotheliale System (RES) – Definition

Das retikuloendotheliale System (RES) beschreibt eine Funktionseinheit von Zellen, die zur Phagozytose und Speicherung von Stoffen und Partikeln befähigt sind. Zu diesen zählen die Monozyten mit ihren Präkursoren, inklusive der zugehörigen Stammzellen, und die von ihnen abstammenden Makrophagen der verschiedenen Gewebe des Körpers [1, 2].

Bereits im Jahr 1924 prägte der Freiburger Pathologe Aschoff auf Grund von Versuchen mit Lebendfarbstoffen den Begriff "retikuloendotheliales System", welcher neben Makrophagen und Monozyten retikuläre Zellen der lymphatischen Organe sowie Endothelzellen des Gefäßsystems umschloß, die allesamt angefärbt worden waren. Da die zwei letzteren Zellarten – mit Ausnahme der histiozytären Retikulumzellen – heute nicht mehr als der Phagozytose mächtig erachtet werden und anderen Zelllinien entstammen als die Monozyten, wurde die Definition auf die anfangs dargestellte aktualisiert. Dementsprechend wurden neuere, präzisere Bezeichnungen wie "retikulohistiozytäres System" (RHS) oder "mononukleär-phagozytierendes System" (MPS) eingeführt. Allerdings findet sich im einschlägigen, internationalen Schrifttum, insbesondere in der angloamerikanischen Literatur, vorherrschend noch immer die traditionelle Bezeichnung "RES" [1]. Diese wird deshalb auch in der vorgelegten Arbeit verwendet.

Haben die Monozyten durch Diapedese die Blutstrombahn verlassen und sind in das umliegende Gewebe migriert, kann für ihre weitere Differenzierung in einer engeren Definition zwischen der ruhenden Form der Histiozyten und der aktivierten Form der Makrophagen unterschieden werden. Im lockeren Bindegewebe machen diese einkernigen Phagozyten etwa 30 bis 50% der Zellen aus. Die ubiquitären Zellen weisen in den unterschiedlichen Gewebekontexten histologisch zum Teil charakteristische Differenzierungen auf (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Vorkommen und Typen von Makrophagen

Leber	Kupffer'sche Sternzellen in den Lebersinusoiden
Synovia	A-Zellen
Gehirn	Mikroglia ¹
Haut	Langerhans-Zellen
Knochen	Osteoklasten
Milz	
Darm	
Knochenmark	
Bindegewebe	
Lunge (intraalveolär)	
Peritoneum	
Fusion mehrerer Makrophagen	Riesenzellen

1.2 Funktion und Bedeutung des RES in Physiologie und Pathophysiologie

1.2.1 Physiologie

Die Hauptaufgabe des RES liegt in der Elimination von Mikroorganismen und Makromolekülen aus dem Blut und interstitiellen Raum. Durch Beseitigung von Stoffwechselabfällen und gealterten Erythrozyten trägt das RES zur Homöostase des Organismus bei. Durch Vernichtung von inkorporierten Bakterien und Viren nimmt es eine prominente Stellung in der körpereigenen Abwehr ein. Auch an der Bekämpfung von Tumorzellen ist es beteiligt. Der tragende Vorgang ist in der Mehrzahl dieser Funktionen die Phagozytose mit nachfolgender, vesikulärer Verdauung. Daneben wirken die Makrophagen des RES jedoch gleichzeitig auch auf Mediatorebene, indem Entzündungsprozesse beeinflusst werden, und durch die Präsentation von Antigenen, die zum Beispiel Lymphozyten aktivieren können [1, 2].

1.2.2 Pathophysiologie

Das RES kann durch verschiedene Noxen in seiner Funktion beeinträchtigt werden.

¹ Nicht abschließend geklärt ist, in wie weit die Mikrogliazellen mit ihren Vorläuferzellen, den Mesoblasten, als eigenständige, von der monozytären Zelllinie unabhängige Gruppe einzustufen sind.

- Durch Trauma und Schock, im Kreislaufversagen und in der Sepsis kommt es durch erniedrigten Perfusionsdruck bei Volumenmangel oder Herzkreislaufinsuffizienz, durch verminderte Sauerstofftransportfähigkeit des Blutes oder bei infolge hyperdynamer Stoffwechsellaktivität erhöhter Sauerstoffausschöpfung in der Peripherie zu einem Mißverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf. Diese führt zu einem hypoxischen Entgleisen des Zellstoffwechsels mit Funktionseinschränkung und endet im Zelltod und kompletten Funktionsausfall [3, 4, 5, 6].
- Fällt ein aus dem Blut zu klärendes Material, z.B. Kohlehydrat- oder Protein-Makromoleküle aus kolloidalen Plasmaersatzmitteln oder Toxine, in überdurchschnittlich großer Menge an, so kann die Phagozytosefunktion des RES in Bezug auf die übrigen Substrate zunächst relativ, nach Überschreiten eines kritischen Wertes auch quantitativ abnehmen [7, 8, 9]. Übermäßig anfallendes Material kann auch durch Störungen der Gerinnung entstehen, zum Beispiel im Rahmen der Verbrauchskoagulopathie oder disseminierten, intravasalen Gerinnung (DIC) [10, 11, 12].
- Im Zusammenhang mit den oben angesprochenen Beeinflussungen kommt es auch zu einer komplexen Reaktion und Interaktion der beteiligten Zellsysteme auf Mediatorenebene, die bei unphysiologisch überschießendem Verlauf die RES-Funktion reduzieren können. Ebenso sind körpereigene oder auch iatrogen zugeführte Steroide potentielle Inhibitoren der Phagozytosefunktion [70].
- Direkte strukturelle Zellschädigungen mit konsekutiv kompletter Zerstörung und Funktionsausfall können durch ionisierende Strahlung bewirkt werden.
- Da sich 90% der dem RES zugehörigen Zellen in der Leber befinden, kann eine lokale Beeinträchtigung dort die Gesamtfunktion negativ beeinflussen. Dies ist der Fall bei Leberzirrhose, Hepatitiden und Erkrankungen der ableitenden Gallenwege, wie Malignomen oder Cholangitiden [1, 13, 14, 15].

Diese Beeinträchtigungen des retikuloendothelialen Systems münden in eine gemeinsame Endstrecke. Dabei handelt es sich um die Inkompetenz, gleichzeitig auftretenden Erfordernissen von anderer Seite in ausreichendem Maße gerecht zu werden. Der Organismus ist nicht mehr imstande, in der Abgrenzung von der Umwelt und in der Aufrechterhaltung der Homöostase seine Integrität stabil zu halten. Durch Versagen der intestinalen Abwehrfunktionen kommt es zur Translokation von Mikroorganismen in die vaskulären Transportwege des Körpers und in die Gewebe mit nachfolgender Septikämie [16]. Die unzureichende Beseitigung hierdurch oder aus anderen Gründen freigesetzter Mediatoren führt zu einer sich autoaggra-

vierenden Entzündungsreaktion mit Aktivierung der Kaskadensysteme (Gerinnungssystem, Komplementsystem), deren Produkte wiederum nicht beseitigt werden können [10].

1.3 Monitoring des RES

1.3.1 Bisherige Verfahren

Aus der Vielzahl der Funktionen des retikuloendothelialen Systems sowie seiner mannigfaltigen Beeinflussung durch krankhafte Prozesse wird deutlich, welche Wichtigkeit der Möglichkeit, den Zustand dieses Organs ermitteln zu können, beizumessen ist. Neuere Methoden untersuchen beispielsweise die Beschreibung der Makrophagenverteilung mittels Positronenemissionstomographie [68] und die kernspintomographiegestützte Funktionsanalyse der Kupfferschen Sternzellen [69]. Interessant ist insbesondere eine Aussage zu der Frage, mit welcher Geschwindigkeit, also mit welcher Anzahl an Vorgängen pro Zeiteinheit Fremdkörper aus dem Blut geklärt werden können (Clearance). Zielparamester ist also die quantitative Phagozytoseleistung.

Bei der Durchsicht der zur Klärung dieser Fragestellung bisher verwendeten Methoden kann prinzipiell zwischen zwei Kategorien unterschieden werden:

- Die Betrachtung der Zunahme der Konzentration von Markersubstanzen im retikuloendothelialen System. Hierbei wird üblicherweise vereinfachend die Leber betrachtet, die mit ihren Kupffer-Sternzellen 90% der RES-Masse enthält (2). Die Akkumulation der radioaktiv markierten Markersubstanzen in der Leber wird
- Die graphische Clearance als Abnahme der Konzentration von Markersubstanzen im geklärten Raum, also im Blut. Hierbei werden in vorgegebenen, zeitlichen Abständen Blutproben gewonnen und die jeweiligen Konzentrationen als Kurve dargestellt und auf einen einheitlichen, mathematischen Ausdruck regrediert [17, 18]. Anschließend wird die Steilheit der Kurve als Ausdruck der vorhandenen Phagozytosekapazität ausgewertet. Dieses Modell betrachtet also direkt das pathophysiologisch relevante Substrat: das intravasale Blutvolumen als Transportvehikel der Noxe an ihr potentielles Ziel. Aus diesem Grunde konzentriert sich die Arbeit im Folgenden auf diesen methodischen Ansatz.

Als Marker wurden im Laufe der Jahre eine Vielzahl von Substanzen eingesetzt, unter anderem ^{51}Cr -markierte Erythrozyten [19], Lipidemulsionen (z.B. Lipofundin [20], Intralipid [21]), $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Schwefel-Kolloid [22], gelatinisiertes $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Schwefel-Kolloid [23], Escherichia

coli [7], ^{99m}Tc -synthetische Liposomen [24], ^{131}I -Jod-Salmonella typhimurium [25], Salmonella enteritidis [18], kolloidaler Kohlenstoff [26], ^{99m}Tc -MMS [27] und ^{99m}Tc -Phytat [28].

Seit spätestens 1986 ist auch Nanocoll®, ein mit ^{99m}Tc Technetium markierbares, aus Albumin gewonnenes Kolloid Gegenstand von Untersuchungen.

Die Mehrzahl der zur Clearancebestimmung verwendeten Substanzen erbrachte in definierten Fragestellungen deutliche Ergebnisse, zum Beispiel im Bereich der Untersuchung einzelner Faktoren, welche die RES-Funktion beeinflussen. Jedoch mangelt es nach wie vor an einem Modell, für welches eine valide Bestimmung der RES-Funktion unter verschiedenen klinisch relevanten Kreislaufzuständen verifiziert ist. Zusätzlich sind die wenigsten der oben angeführten Methoden für eine Anwendung am Menschen geeignet, sei es wegen der Verwendung stark strahlungsbelastender und langlebiger Isotope oder für den Menschen anderweitig pathogener Substanzen und Erreger.

1.3.2 Nanocoll®

Nanocoll® nimmt dagegen als Indikator mit hervorragenden Ausgangseigenschaften eine Sonderstellung ein.

- Nanocoll® ist ein in der klinischen Medizin am Menschen bereits lange und routinemäßig eingesetztes Diagnostikum. Die Unbedenklichkeit der Anwendung ist dadurch gezeigt [29].
- Aus dem bisherigen Einsatz in der Lymphabstromszintigraphie konnte die Phagozytose der Substanzen durch die Zellen des retikuloendothelialen Systems bereits nachgewiesen werden [30, 29, 31].
- Nanocoll® wird aus menschlichem Albumin gewonnen; es ist auf Grund seiner dementsprechend geringen antigenen Eigenschaften – der klinischen Erfahrung entsprechend – für den klinischen Einsatz geeignet.
- Nanocoll® wird als Produkt mit gut definierten, physikalischen Eigenschaften vertrieben, welche eine gezielte Aussage zu spezifischen Aspekten der Phagozytose zulassen.
- Nanocoll® ist für die Markierung mit ^{99m}Tc Technetium (Pertechnetat) geeignet, einem kurzlebigen (HWZ 6 Stunden) Isotop, welches unkompliziert herzustellen ist. Die Messung seiner γ -Strahlungsaktivität kann mit nuklearmedizinischem Routineinstrumentarium unproblematisch erfolgen. Es wird klinisch in Dosierungen bis zu einem Gigabequerel ein-

gesetzt; da zum Zwecke der Clearancebestimmung jedoch nur Messungen von Gesamtprouben und keine auflösungsabhängigen, zweidimensionalen Szintigraphien durchgeführt werden, kann mit weit geringeren Radioaktivitäten gearbeitet werden. Hierdurch wird der Patientenschutz verbessert. Gleichzeitig entsteht die Option, eventuell erforderliche weitere Untersuchungen unter Verwendung höherer Radioaktivitätsmengen durchzuführen [32].

Die Ausgangseigenschaften der Substanz lassen sie demzufolge als vielversprechend einordnen. Wie vorhandene Arbeiten bereits zeigen, ist eine Verwendung von Nanocoll® zur Untersuchung der RES-Funktion möglich und sinnvoll [33, 34, 30, 35].

Es gilt nun zu untersuchen, inwieweit eine Universalität zur Darstellung und Differenzierung verschiedener Beeinflussungsformen, zum Beispiel durch Hypoxie und RES-Beladung verschiedener Genese, durch Nanocoll® gegeben ist.

Die vorliegende Arbeit vollzieht dies an einem etablierten Tiermodell durch Untersuchung der Nanocoll®-Clearance und -Organverteilung unter definierten Versuchsbedingungen.

Die vorangegangenen Ausführungen begründen nachhaltig die Notwendigkeit der vorgelegten Untersuchung.

2 Zielsetzung und Versuchskonzept

In der vorliegenden Arbeit wird die Frage untersucht, inwieweit Nanocoll® als Meßsubstrat für die Quantifizierung der Phagozytosefähigkeit des retikuloendothelialen Systems verwendet werden kann. Hierzu wird die Beeinträchtigung der Eliminationsfunktion des RES durch Bestimmung und Vergleich von Konzentrationsabfällen des Nanocoll® im peripheren Blut sowie durch die Erhebung seiner Verteilung in den vier Zielorganen Leber, Milz, Lunge und Niere unter verschiedenen Versuchsbedingungen ermittelt.

Zwei führende Noxen der retikuloendothelialen Funktionalität werden dazu experimentell realisiert:

- 1) Die Hypoxie mit konsekutivem Funktionsverlust des RES wird durch eine respiratorische Sauerstoffminderversorgung durch Hypoventilation erreicht.
- 2) Die Übersättigung des RES mit phagozytiertem Material und die dadurch bedingte Insuffizienz bei der Raffung weiterer Fremdstoffe wird durch die vorherige Beladung mit bewirkt. Hierzu werden kolloidale Volumenersatzstoffe verabreicht bzw. der massive Anfall atypischer Endprodukte der Gerinnungskaskade provoziert.

Die Elimination des radioaktiv markierten Eiweißes Nanocoll® wird gemessen und seine Verteilung in den primären RES-Organen nach Versuchsende bestimmt. Unter der Hypothese, dass eine funktionale Beeinträchtigung des RES zu einer Beeinträchtigung der Nanocoll®-Elimination führt, wird die Fähigkeit des Nanocoll® analysiert, die Beeinträchtigungen anzuzeigen und zwischen ihnen zu differenzieren.

Es ist zu erwarten, dass in den Behandlungsgruppen, gegenüber der Kontrollgruppe,

- 1) die beeinträchtigte RES-Funktion zu einer beeinträchtigten, verlangsamten Elimination des Nanocoll® aus dem Blut führt, und
- 2) die eingeschränkte Raffungskompetenz sich des weiteren darin ausdrückt, dass von den gewebeständigen Phagozyten im Rahmen der Versuchszeit weniger Nanocoll® aufgenommen wird; dies sollte in geringeren relativen und absoluten Mengen von Nanocoll® resultieren, die nach Versuchsende in Leber, Milz, Niere und Lunge wiedergefunden werden.

3 Material und Methodik

3.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 50 Bastard-Kaninchen beiderlei Geschlechts aus einer Zucht der Behring-Werke Marburg. Das Körpergewicht der Tiere betrug $2,9 \pm 0,3$ kg. Die Versuche wurden von der zuständigen Ethikkommission genehmigt.

3.2 Versuchsablauf

3.2.1 Präparation

Zunächst wurde bei den wachen Tieren die Ohrvene mit einer Butterfly-Nadel (Micro-Flo, 25G) kanüliert. Über diesen Zugang wurden 500 I.E. Heparin-Natrium (Liquemin® N 25.000, Roche) pro kg Körpergewicht (KG) injiziert. Danach wurde die Narkose durch die intraglutale Gabe von 40 mg Ketamin (Ketanest®, Parke-Davis) pro kg KG und 3 mg Xylazin (Rompun® 2%, Bayer) pro kg KG eingeleitet, die je zur Hälfte in die linke und rechte Seite erfolgte. Die Lagerung erfolgte in Rückenlage mit Überstreckung des Halses auf einem mit Wasserheizung (Haake Umwälzpumpe) auf ca. 30 Grad Celsius erwärmten Metalltisch. Die vorderen Extremitäten wurden an dem Tisch fixiert. Nach der Rasur der Halsregion und Lokalanästhesie durch Quaddelung mit 10 ml Xylocain 2% (Astra) wurde die Haut durch einen 4 cm langen Längsschnitt eröffnet, die Luftröhre freipräpariert und unterhalb des zweiten Ringknorpels angeschlossen. Es folgten die Tracheotomie und Intubation mit einem aus einem Absaugkatheter (12 Charrière, Braun Melsungen, Melsungen) angefertigten Tubus sowie die Fixation des Tubus in der Trachea durch Einknoten. Ab diesem Moment wurden die Tiere mit einer durchschnittlichen Frequenz von 45/min und einem Atemzugvolumen von ca. 20 ml, also einem mittleren AMV von 900 ml/min beatmet (Starling Pumpe, Braun Melsungen).

Als nächstes wurde die rechte Vena jugularis communis dargestellt, angeschlossen, gestaut, nach proximal ligiert und mit einer Venenverweilkanüle (17G Vasocan-Braunüle, Braun) kanüliert. Über diesen Zugang erfolgte die Aufrechterhaltung der Narkose mittels einer Infusionspumpe (Perfusor Secura, Braun Melsungen, Melsungen) durch Gabe von 120 mg/h Ketamin und 6,4 mg/h Xylazin.

Die linke Arteria carotis communis wurde ebenfalls dargestellt, dann nach proximal ligiert, gestaut und mit einem identischen Katheter kanüliert. Der Katheter wurde in ein Plexiglassta-

tiv fest eingespannt, um eine störungsfreie Blutdruckmessung zu ermöglichen und die Gefährdung des Zuganges durch Blutabnahmen zu minimieren. Hier erfolgte der Anschluß an einen Druckaufnehmer (Statham). Der arterielle Blutdruck wurde kontinuierlich gemessen (Hellige programm 19 Druckmonitor) und mittels eines Thermo-schreibers (Hellige Servo-med) kontinuierlich aufgezeichnet. Zum Abschluß der Präparation wurden über den liegenden Zugang in der Ohrvene nochmals 500 I.E. Heparin pro kg KG gegeben.

3.2.2 Verlauf

Nach der Präparation folgte eine ca. 30minütige steady state-Phase, in Gruppe 7 eine einstündige Hypoxie-Phase. Arterielle Blutproben wurden regelmäßig einer Blutgasanalyse (ABL 330, Radiometer Copenhagen) auf die Parameter pH, $p\text{aO}_2$, $p\text{aCO}_2$ zugeführt. Die Blutgasbefunde und die Kreislaufverhältnisse wurden, falls notwendig, durch Anpassung von Beatmung und Narkotikazufuhr, bei diastolischen Drücken unter 30 mmHG auch mit Kopftieflage und Volumenzufuhr (NaCl 0,9%) korrigiert. Alle Blutabnahmen wurden mit isotoner Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) ausgeglichen.

Zum eigentlichen Versuchsbeginn wurden in die Vena jugularis ca. 0,5 ml einer Solco Nanocoll®-Zubereitung injiziert. Nach diesem Zeitpunkt Null wurden in Abständen von 2, 6, 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120 und 180 Minuten in 3-ml-EDTA-K-Röhrchen (Kabevetten, Kabe) Blutproben von ca. 1,5 bis 2 ml und jeweils Material für eine Blutgasanalyse aus dem Katheter in der Arteria carotis entnommen. Das verlorene Volumen wurde durch NaCl 0,9 % ersetzt. Die Blutabnahmen erfolgten sekundengenau an Hand der mitlaufenden Uhr. Nach 180 Minuten wurden die Versuchstiere durch eine Überdosis des Narkotikums getötet.

Anschließend wurden Abdomen und Thorax rasiert und unter Schonung aller viszeralen Strukturen mit einem Längsschnitt eröffnet. Nacheinander wurden Lunge, Leber, Milz und beide Nieren in toto entfernt. Nachdem sie ausgeblutet waren, wurden die Organe einzeln auf einer Präzisionswaage gewogen. Nun wurden aus allen Organen Gewebeproben gewonnen. Dabei richtete sich die Aufmerksamkeit besonders auf eine repräsentative Verteilung der Exzisionen auf die einzelnen Organstrukturen; so wurden die Einzelproben zusammengesetzt aus Anteilen aller Leberlappen, Anteilen aller Lungenlappen, Teilen von Nierenmark, -rinde, -polen und -äquator und allen Abschnitten der Milz. Die Gewebeproben wurden mit der Präzisionswaage abgewogen (1,5 bis 2,3 g) und in verschließbaren 13-ml-Röhrchen (Sarstedt)

gesammelt. Von den gewonnenen Blutproben wurde mit einer Eppendorf-Pipette jeweils 1 ml abpipettiert und in ebensolche Röhrchen überführt.

3.2.3 Radioaktivitäts-Bestimmung

Die in den Röhrchen mit den Blut- bzw. Gewebeproben enthaltene γ -Aktivität wurde in einem Szintillationszähler (Philips XL 1101 und Zähler XL 1150) erfaßt. Der Minimierung des 4π -Effektes (Minusmeßfehler durch unvollständige Umhüllung der Probe mit Szintillationskristall an der Einschuböffnung) wurde durch eine nur 1 bis 1,5 cm hohe Befüllung der Röhrchen Rechnung getragen. Der Counter war geeicht auf 48700 gezählte Impulse pro Minute bei einer Probe von 1 kBq Aktivität. Der gemessene Wert wurde in Becquerel umgerechnet und unter Berücksichtigung der Halbwertszeit des Radionuklids von 6 Stunden und der seit der Probenentnahme vergangenen Zeit auf den Betrag zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns ($t=0$) korrigiert. Die Aktivität der Gewebeproben wurde auf die Masse 1 g umgerechnet.

3.3 *Nanocoll*®

Solco Nanocoll® ist ein Nanokolloid, welches aus menschlichem Serumalbumin gewonnen wird. Die typische Teilchengröße des mit ^{99m}Tc markierten Kolloids liegt zu 95% im Bereich von <80 nm. Ein handelsübliches Durchstechfläschchen enthält 0,5 mg Albumin als Nanokolloid [32].

Zur Präparation wurden 50 Megabequerel (MBq) ^{99m}Tc aus einer ^{99}Mo -Generatorsäule in 5 ml NaCl in ein Fläschchen Nanocoll® gegeben. Nach einer Markierungszeit von 15 Minuten wurden in einem halben Milliliter in einer 2-ml-Spritze $5.730.000 \pm 128.000$ MBq abgemessen (PTW-Curiementor 2, PTW-Freiburg). Hierin waren ca. 0,05 mg Albumin enthalten.

Um die effektiv verabreichte Aktivität zu ermitteln, wurde nach Versuchsende die in der nun leeren Spritze noch enthaltene Aktivität bestimmt und die Differenz zwischen diesem und dem zu Beginn gemessenen Wert berechnet.

3.4 *Gruppen*

Die Versuchstiere wurden auf sieben Gruppen verteilt. Eine Gruppe diente als Kontrolle, die anderen sechs wurden unterschiedlichen Behandlungen zugeführt.

- | | | |
|----|--------------------|-------|
| 1. | Kontrolle | (n=6) |
| 2. | Hypoxie I | (n=9) |
| 3. | Ancrod I | (n=7) |
| 4. | Ancrod II | (n=7) |
| 5. | Dextran | (n=6) |
| 6. | Hydroxyethylstärke | (n=6) |
| 7. | Hypoxie II | (n=7) |

[8. Tod während der Präparation (n=2)]

3.4.1 Kontrolle

An den Tieren der Kontrollgruppe wurde der beschriebene Versuchsverlauf vollzogen. Sie wurden keiner weiteren Stimulation oder Beeinflussung ausgesetzt. Auf diesem Wege wurden die physiologische Eliminationsrate des Nanokolloids aus dem Blut und die unbeeinflusste Verteilung in den vier Zielorganen festgestellt.

3.4.2 Hypoxie I

Die Versuchstiere wurden während der Steady-State-Phase und der Versuchszeit durch Reduzierung des Atemminutenvolumens in einer Hypoxie mit PaO_2 -Werten < 40 mmHg gehalten.

3.4.3 Ancrod I

Zur Erzielung einer Beladung des retikuloendothelialen Systems mit körpereigenen Fibrin-Spaltprodukten wurde mit Ancrod vorbehandelt. Ancrod ist ein thrombinähnliches Enzym, das aus dem Gift der malayischen Grubenotter (*Agkistrodon rhodostoma* oder auch *Calotes lasia rhodostoma*) gewonnen wird. Es spaltet aus dem Fibrinogenmolekül das Fibrinopeptid A als atypisches Spaltprodukt ab. Die entstandenen des-A-Fibrinmonomere polymerisieren zu dünnen, löslichen, atypischen Fibrinfilamenten, ohne Quervernetzungen auszubilden. Sie werden komplett oder nach Spaltung durch das körpereigene Fibrinolyse-System (Plasmin), welche unmittelbar nach der Bildung erfolgt, von den Zellen des RES phagozytiert. Ancrod wird in geringerer Dosierung zur durchblutungsfördernden oder -wiederherstellenden Therapie verwendet [62]. Die Versuchstiere bekamen am Versuchsvortag (> 24 Stunden vor Versuchsbeginn) sowie am Versuchstag zwei Stunden vor Versuchsbeginn jeweils 10 I.E. Ancrod (Arwin®, Knoll, Ludwigshafen) in 10 ml NaCl 0,9 % während einer Stunde infundiert (Perfusor Secura, Braun).

3.4.4 Ancrod II

Den Tieren wurden zwei Stunden vor Versuchsbeginn 10 I.E. Ancrod In 10 ml NaCl 0,9 % während einer Stunde infundiert.

3.4.5 Dextran

Zur Untersuchung des Einflusses einer Beladung des RES mit bakteriellen Polysacchariden wurden den Versuchstieren am Vortag des Versuches im Stundenabstand 5 x 20 ml sowie am Versuchstag vor Versuchsbeginn pro kg KG 2 bis 5 x 20 ml, entsprechend 47 bis 67 ml Dextran 60, 6 %ig (Macrodex 6%, Schiwa) injiziert.

3.4.6 Hydroxyethylstärke

Zur Untersuchung des Einflusses einer Beladung des RES mit pflanzlicher Stärke wurde den Versuchstieren am Vortag des Versuches im Stundenabstand pro kg KG 5 x 20 ml sowie am Versuchstag vor Versuchsbeginn 4 x 20 ml, entsprechend 60 ml Hydroxyethylstärkelösung infundiert. Dabei handelte es sich um eine mit NaCl 0,9% von 10% auf 6% verdünnte HES-Lösung mit einem mittlerem Molekulargewicht von 200.000 Dalton sowie einem Substitutionsgrad von 0,5 (HAES-steril® 10 %/200/0,5, Fresenius Kabi).

3.4.7 Hypoxie II

Die Tiere wurden direkt nach Narkoseeinleitung mit 0,2 mg Pancuronium (Pancuronium Organon, Organon Teknika) relaxiert. Die Relaxierung wurde mit repetitiven Dosen bis zu einer Gesamtmenge von 2 mg aufrechterhalten. Für 60 Minuten vor Versuchsbeginn und während des gesamten Versuchsablaufes wurden die Tiere durch Reduktion des Atemminutenvolumens in einer Hypoxie mit PaO₂-Werten < 40 mmHg gehalten.

4 Ergebnisse

Die erfassten Daten wurden mit den Programmen Statgraphics Plus 3.1 (Statistical Graphics Corp.), HOEREP (Bayer), SPSS 10.0 und 11.0 (SPSS Inc.) und Excel 97 und 2002 (Microsoft) verarbeitet. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden durch Varianzanalyse (ANOVA) ermittelt und mit dem LSD-, Tukey HSD-, Bonferroni, Sidak- und Scheffé-Verfahren als post hoc-Tests auf Signifikanz geprüft. Alle statistischen Angaben erfolgen in Mittelwert \pm Standardfehler der Mittelwerte (standard error of means, SEM).

4.1 Vitalparameter

4.1.1 AP – Arterieller Mitteldruck

Im Kontrollkollektiv lag der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) zu Versuchsbeginn ($t = 0$ min) durchschnittlich bei 59 ± 4 mmHg; bei Versuchsende nach 180 Minuten betrug der Wert 46 ± 3 mmHg. Die mit Ancrod behandelten Gruppen wiesen ähnliche Werte auf: die Tiere mit einfacher Vorbehandlung zeigten Werte von 57 ± 5 mmHg; die Tiere, welche außerdem am Vortag behandelt worden waren, erbrachten einen MAP von 63 ± 3 mmHg. Dagegen zeigte sich in den sowohl am Vortag als auch am Versuchstag mit Hydroxyethylstärke und Dextran vorbehandelten Tieren ein erwarteter Einfluß der Infusionen auf den Kreislauf: hier beliefen sich die Ausgangswerte auf 69 ± 5 mmHg beziehungsweise 77 ± 2 mmHg. Von diesen Gruppen mit erhöhten MAP-Ausgangswerten hoben sich die Hypoxie-Kollektive signifikant ab: Die hypoxisch geführten und relaxierten Tiere starteten mit 54 ± 2 mmHg (Unterschied zur Dextran-Gruppe $p < 0,02$), die nur hypoxisch gehaltenen Kaninchen lagen sogar bei 47 ± 4 mmHg (Unterschied zur Dextran-Gruppe $p < 0,001$, Unterschied zur HES-Gruppe $p < 0,02$).

Im Laufe der Versuchszeit von 180 Minuten sank der arterielle Mitteldruck durch die zunehmende Blutungsanämie bereits in der Kontrollgruppe auf 46 ± 3 mmHg ab (-22%). In den Dextran- und HES-Gruppen sank er auf 57 ± 3 mmHg (-27%) und 56 ± 1 mmHg (-19%). In den beiden Ancrod-Gruppen verringerte sich der Wert um 21% und 22%. Die Beeinträchtigung des Organismus' in der Hypoxie-Gruppe war für die Mehrzahl der Tiere nicht kompensabel. Bedingt durch eine durch die Narkoseführung nicht supprimierbare Eigenatmung bei maschineller Hypoventilation erschöpften sich die Tiere so sehr, dass nur zwei von neun die gesamte Versuchsdauer überlebten. Der Rest verstarb vorzeitig bei progredienter arterieller Hypotonie. Diese Gruppe (Hypoxie I) wurde als nicht verwertbar eingestuft und deshalb bei der

weiteren Auswertung, vor allem im Bezug auf Unterschiede zwischen den Gruppen, nicht berücksichtigt. In der Gruppe der zusätzlich relaxierten Tiere hingegen erreichten 100% das Versuchsende mit einem durchschnittlichen MAP von 35 ± 7 mmHg (-39%).

4.1.2 Arterieller pH

Der pH-Wert des Blutes bewegte sich in der Kontrollgruppe während der Versuchsdauer um den Mittelwert von $7,44 \pm 0,01$. In den mit Ancrod, Dextran und HES behandelten Gruppen lag er durchschnittlich etwas niedriger bei $7,39 \pm 0,003$. Hingegen kam es bei den in Hypoxie geführten Tieren auf Grund der Hypoventilation zu einer respiratorischen Azidose. Diese konnte von den nicht relaxierten Tieren durch zusätzliche Spontanatmung teilweise kompensiert werden (pH-Wert nach 90 Minuten: $7,20 \pm 0,05$, nach 180 Minuten: $7,11 \pm 0,03$). Bei den zusätzlich relaxierten Tieren lag der Wert nach der halben Versuchsdauer auf einem vergleichbaren Niveau ($7,21 \pm 0,05$), nach weiteren 90 Minuten ergaben sich im Vergleich zur nicht relaxierten Gruppe leicht bessere Werte von $7,17 \pm 0,04$.

4.1.3 Arterieller pO₂

Die mittlere Sauerstoffspannung des arteriellen Blutes hielt sich unter angestrebter Optimalventilation in der Kontrollgruppe bei $145,8 \pm 6$ mmHg. Während der paO₂ in der Ancrod-I- ($136,6 \pm 7,3$ mmHg), Dextran- ($146,7 \pm 4,3$ mmHg) und HES-Gruppe ($135,5 \pm 4,7$ mmHg) vergleichbar, und in der Ancrod-II-Gruppe ($171,9 \pm 8,0$ mmHg) tendenziell noch höher lag, konnte bei den Hypoxie-Tieren das angestrebte Niveau von weniger als 40 mmHg im nicht relaxierten Kollektiv mit $40,7 \pm 1,1$ mmHg gut, bei den relaxierten Kaninchen mit $37,4 \pm 1$ mmHg sehr gut realisiert werden.

4.1.4 Arterieller pCO₂

In der Kontrollgruppe lag der pCO₂-Wert im arteriellen Blut bei $44,7 \pm 1,5$ mmHg. In den Kollektiven mit ein- und zweimaliger Ancrod-Vorbehandlung, mit Dextran- und HES-Vorbehandlung lag der Mittelwert ähnlich bei $42,0 \pm 0,8$ mmHg, $42,5 \pm 1,0$ mmHg, $42,4 \pm 0,7$ mmHg und $45,4 \pm 0,7$ mmHg. In den beiden Hypoxie-Gruppen jedoch zeigte sich die Auswirkung der Hypoventilation in Form der Hyperkapnämie: Bei den nur hypoxisch gehaltenen Tieren stieg der paCO₂ von anfänglichen $53,9 \pm 1,4$ mmHg kontinuierlich an auf maximale $96,9 \pm 1,3$ mmHg. In der zusätzlich muskelrelaxierten Gruppe kam es zu einem Anstieg von $66,1 \pm 4,9$ mmHg zum Zeitpunkt 0 auf $81,5 \pm 6,5$ mmHg nach zehn Minuten; auf diesem Niveau blieb die Kohlendioxidspannung ($78,1 \pm 5,4$ mmHg nach 120 Minuten), und

fiel in der letzten Stunde bei stärker divergierenden Ergebnissen auf einen Mittelwert von $66,2 \pm 12,1$ mmHg.

4.1.5 Tabellarische Aufstellung der Vitalparameterverläufe

Tabelle 2: Arterieller Mitteldruck [mmHg] (MW \pm SEM)

Zeit	Kontrolle	Hypoxie I	Ancrod I	Ancrod II	Dextran	HES	Hypoxie II
0	59,3 \pm 4,1	46,7 \pm 4,3	62,7 \pm 3,0	56,6 \pm 4,8	77,5 \pm 1,6	69,0 \pm 4,8	53,7 \pm 2,2
2	57,7 \pm 4,4	41,7 \pm 4,2	56,0 \pm 5,2	52,7 \pm 3,0	78,0 \pm 2,1	62,8 \pm 6,4	47,9 \pm 2,3
6	54,2 \pm 6,9	41,7 \pm 3,5	60,7 \pm 3,0	54,7 \pm 2,3	72,7 \pm 1,9	66,7 \pm 4,0	45,7 \pm 3,4
10	53,8 \pm 4,8	39,4 \pm 3,6	60,3 \pm 2,5	55,1 \pm 2,3	69,8 \pm 1,3	63,7 \pm 4,3	44,9 \pm 2,8
20	54,7 \pm 4,2	37,2 \pm 3,3	58,1 \pm 3,0	54,9 \pm 2,2	67,2 \pm 1,6	62,2 \pm 3,7	47,7 \pm 2,9
30	54,5 \pm 2,5	38,3 \pm 3,2	55,3 \pm 3,4	55,9 \pm 2,9	65,8 \pm 1,8	63,0 \pm 2,9	51,6 \pm 2,4
40	53,5 \pm 3,0	31,4 \pm 4,4	58,1 \pm 3,8	53,7 \pm 2,4	64,3 \pm 1,4	60,2 \pm 2,9	52,0 \pm 2,1
60	53,5 \pm 3,0	34,4 \pm 5,5	54,0 \pm 4,0	52,1 \pm 2,6	62,8 \pm 2,8	60,2 \pm 3,5	52,9 \pm 2,5
90	50,5 \pm 2,1	38,6 \pm 5,5	53,1 \pm 3,5	47,0 \pm 3,4	62,3 \pm 2,8	58,2 \pm 2,9	50,7 \pm 2,3
120	45,8 \pm 2,4	33,0 \pm 4,1	49,6 \pm 4,5	44,6 \pm 2,9	58,7 \pm 2,9	56,8 \pm 2,2	43,6 \pm 2,7
180	45,7 \pm 2,6	55,0 \pm 35,0	48,7 \pm 4,5	44,5 \pm 1,9	56,5 \pm 2,6	55,5 \pm 1,4	40,8 \pm 4,6

Tabelle 3: Arterieller pH (MW±SEM)

Zeit	Kontrolle	Hypoxie I	Ancred I	Ancred II	Dextran	HES	Hypoxie II
0	7,49±0,024	7,36±0,011	7,41±0,027	7,38±0,026	7,40±0,018	7,39±0,015	7,25±0,023
2	7,42±0,048	7,33±0,015	7,38±0,040	7,34±0,019	7,39±0,023	7,38±0,019	7,23±0,028
6	7,45±0,057	7,32±0,019	7,37±0,036	7,34±0,019	7,39±0,018	7,39±0,018	7,22±0,029
10	7,38±0,080	7,32±0,022	7,37±0,031	7,36±0,015	7,40±0,013	7,39±0,013	7,22±0,029
20	7,43±0,035	7,31±0,024	7,38±0,027	7,38±0,015	7,41±0,007	7,37±0,027	7,22±0,032
30	7,45±0,003	7,29±0,031	7,40±0,019	7,39±0,010	7,40±0,008	7,39±0,006	7,21±0,037
40	7,47±0,055	7,32±0,018	7,41±0,020	7,39±0,016	7,40±0,008	7,39±0,007	7,21±0,038
60	7,48±0,016	7,27±0,025	7,41±0,025	7,40±0,016	7,40±0,006	7,40±0,008	7,22±0,042
90	7,45±0,020	7,20±0,051	7,41±0,022	7,39±0,017	7,39±0,005	7,39±0,009	7,21±0,046
120	7,43±0,019	7,23±0,033	7,42±0,017	7,36±0,031	7,37±0,010	7,39±0,008	7,19±0,037
180	7,34±0,030	7,11±0,028	7,38±0,022	7,39±0,023	7,33±0,024	7,37±0,015	7,17±0,038

Tabelle 4: Arterieller pCO₂ [mmHg],(MW±SEM)

Zeit	Kontrolle	Hypoxie I	Ancred I	Ancred II	Dextran	HES	Hypoxie II
0	37,9 ± 2,0	53,9 ± 1,4	40,2 ± 3,0	39,0 ± 3,6	38,2 ± 1,9	41,0 ± 3,2	66,1 ± 4,9
2	49,9 ± 8,0	60,7 ± 2,4	45,4 ± 4,1	46,4 ± 3,1	41,2 ± 3,0	44,2 ± 2,4	78,3 ± 6,3
6	47,0 ± 10,4	61,5 ± 3,1	46,2 ± 3,9	46,9 ± 3,0	42,4 ± 2,6	42,1 ± 3,3	81,5 ± 6,5
10	54,7 ± 18,2	62,7 ± 1,9	46,4 ± 4,0	44,7 ± 2,2	42,3 ± 2,4	44,2 ± 2,1	81,2 ± 6,4
20	45,9 ± 5,3	58,3 ± 7,0	45,0 ± 2,9	42,3 ± 1,7	41,1 ± 2,3	47,2 ± 2,4	78,7 ± 6,7
30	43,3 ± 2,8	68,2 ± 3,0	43,6 ± 2,0	40,9 ± 1,7	41,8 ± 2,2	44,6 ± 1,7	79,6 ± 8,6
40	39,4 ± 0,7	67,7 ± 4,3	42,6 ± 1,7	40,7 ± 1,9	42,9 ± 2,6	45,6 ± 1,8	79,9 ± 8,7
60	41,6 ± 1,5	72,2 ± 3,1	41,8 ± 2,2	41,1 ± 2,1	43,1 ± 2,4	45,7 ± 2,0	78,2 ± 8,9
90	42,1 ± 2,2	81,3 ± 6,3	35,0 ± 6,0	40,8 ± 2,0	43,4 ± 2,2	46,9 ± 2,1	78,8 ± 9,7
120	44,3 ± 2,3	73,6 ± 1,3	38,5 ± 2,7	40,3 ± 2,0	44,5 ± 1,9	48,2 ± 1,9	78,1 ± 5,4
180	51,5 ± 3,2	96,9 ± 1,3	43,9 ± 2,1	38,2 ± 4,0	45,4 ± 2,9	49,7 ± 1,8	77,2 ± 5,9

Tabelle 5: Arterieller pO₂ [mmHg] (MW±SEM)

Zeit	Kontrolle	Hyoxie I	Ancrod I	Ancrod II	Dextran	HES	Hyoxie II
0	131,0±8,0	38,8±0,6	152,7±37,0	179,2±28,6	141,0±24,8	128,6±31,7	37,2±2,0
2	121,0±19,6	36,9±2,1	118,5±34,9	170,6±38,0	156,2±21,2	131,1±19,3	32,2±2,4
6	143,4±18,7	36,4±1,9	125,3±36,5	142,9±26,7	159,3±19,8	134,8±18,0	33,8±2,5
10	147,8±25,5	40,2±2,5	138,6±36,0	162,7±24,9	146,4±13,4	143,2±18,0	35,4±2,6
20	148,1±20,8	42,4±1,1	125,2±14,4	160,0±27,3	153,7±11,3	135,6±14,0	38,3±2,9
30	168,5±13,9	40,6±2,1	127,2±14,7	178,5±25,2	157,2±9,3	148,0±14,1	39,3±4,0
40	190,9±15,8	40,4±2,7	125,8±12,6	177,4±28,8	154,1±11,7	148,4±14,0	39,1±3,4
60	141,7±14,7	36,6±1,5	142,5±15,2	182,9±27,4	144,2±11,9	133,6±10,0	40,3±2,0
90	139,1±17,1	52,6±10,0	150,7±19,9	186,6±28,3	144,5±9,2	137,8±10,5	41,7±2,6
120	155,3±23,4	44,1±2,4	156,0±20,8	186,0±28,6	138,4±8,6	131,9±10,0	38,7±2,8
180	157,1±15,1	46,7±8,3	134,3±14,5	162,7±15,4	118,9±6,4	117,3±7,8	40,9±5,0

4.1.6 Graphische Darstellung der Vitalparameterverläufe

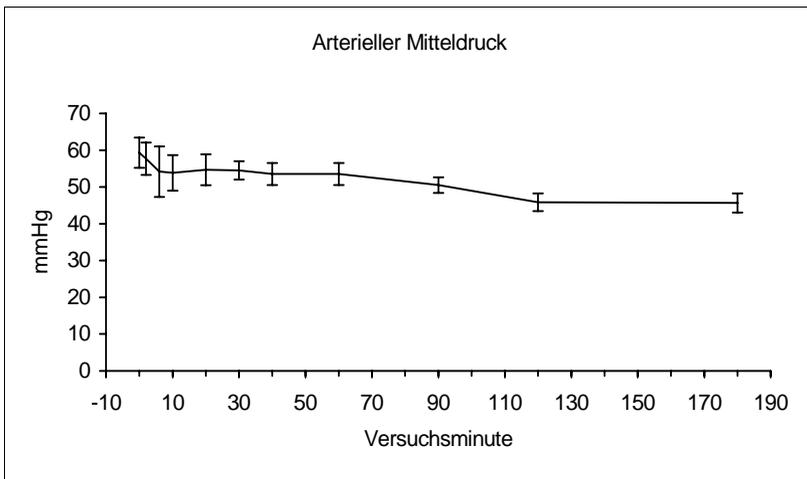


Abbildung 1: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes in der Kontrollgruppe; dargestellt sind Mittelwerte ± SEM, n=6 zu allen Zeitpunkten

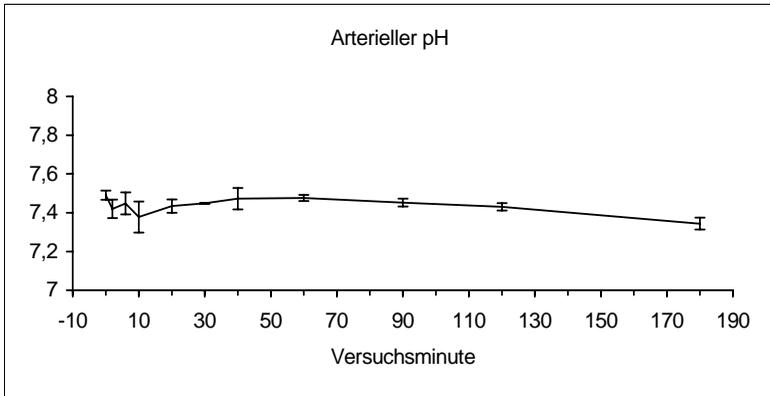


Abbildung 2: Verhalten des pH in der Kontrollgruppe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM, n=6 zu allen Zeitpunkten

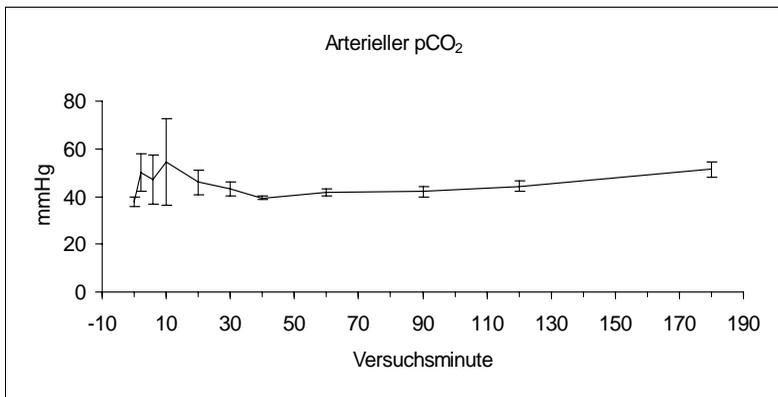


Abbildung 3: Verhalten des arteriellen pCO₂ in der Kontrollgruppe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Zeitpunkten

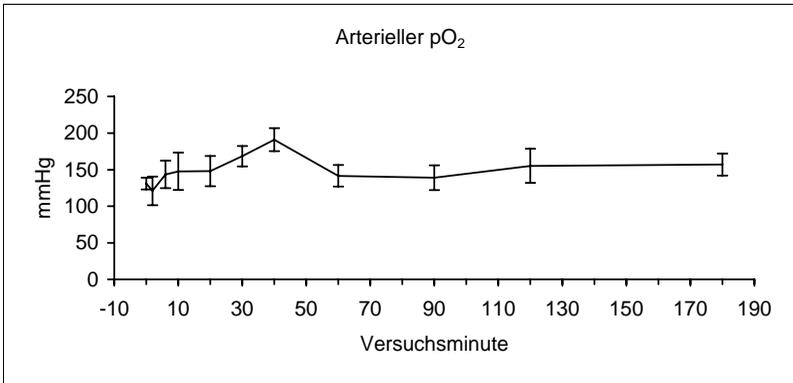


Abbildung 4: Verhalten des arteriellen pO₂ in der Kontrollgruppe; dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=6 zu allen Zeitpunkten

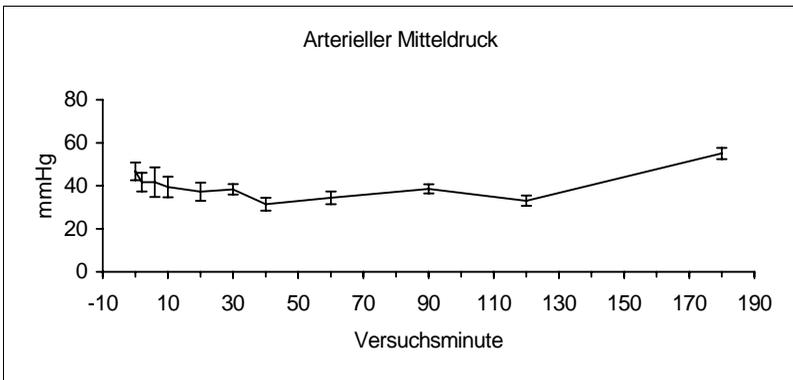


Abbildung 5: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes in der nicht relaxierten Hypoxiegruppe (Hypoxie I); dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=9; 9; 9; 9; 9; 9; 8; 7; 5; 2

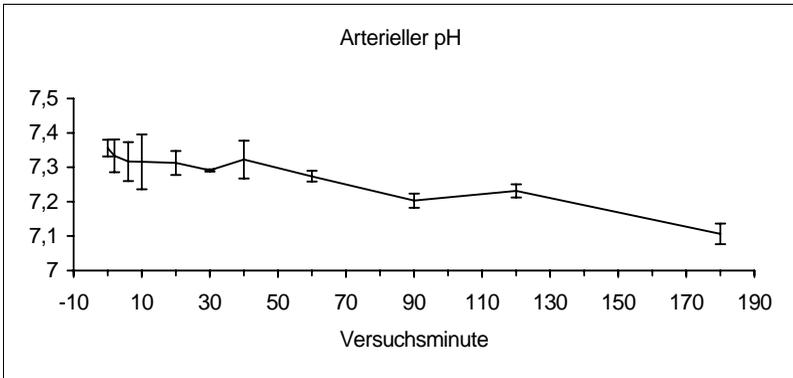


Abbildung 6: Verhalten des arteriellen pH in der nicht relaxierten Hypoxiegruppe (Hypoxie I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=9; 9; 9; 9; 9; 9; 8; 7; 5; 2

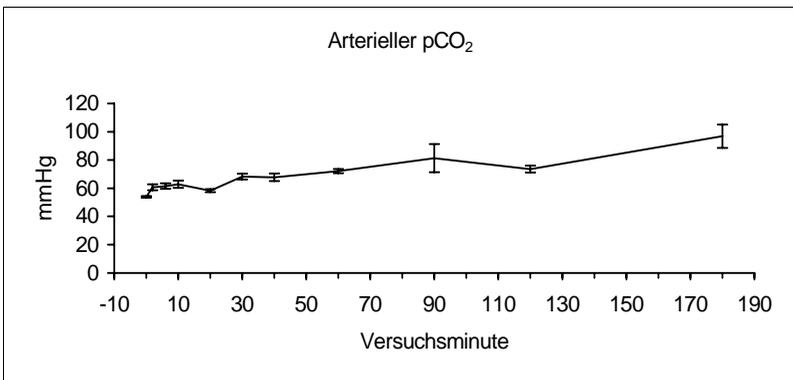


Abbildung 7: Verhalten des arteriellen pCO₂ in der nicht relaxierten Hypoxiegruppe (Hypoxie I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=9; 9; 9; 9; 9; 9; 8; 7; 5; 2

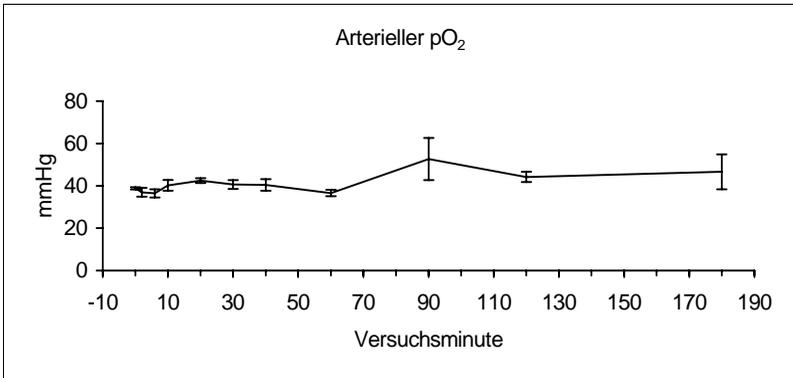


Abbildung 8: Verhalten des arteriellen pO₂ in der nicht relaxierten Hypoxiegruppe (Hypoxie I); dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=9; 9; 9; 9; 9; 9; 8; 7; 5; 2

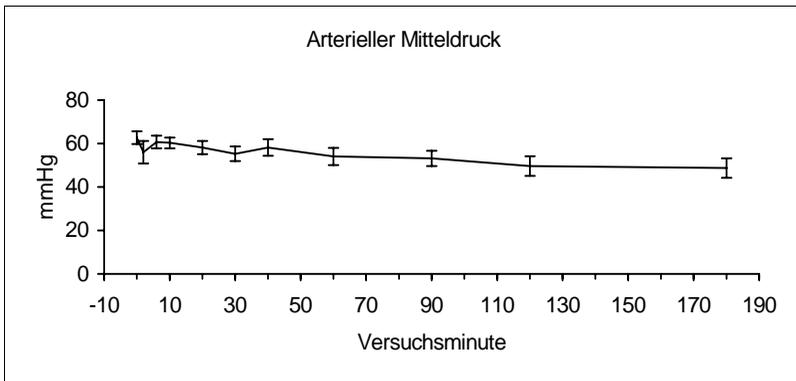


Abbildung 9: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes nach zweimaliger Ancrodgabe (Ancrod I); dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

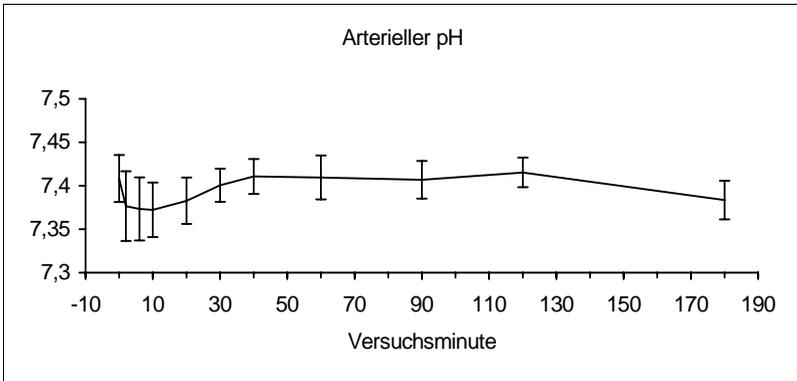


Abbildung 10: Verhalten des arteriellen pH nach zweimaliger Ancrodgabe (Ancrod I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

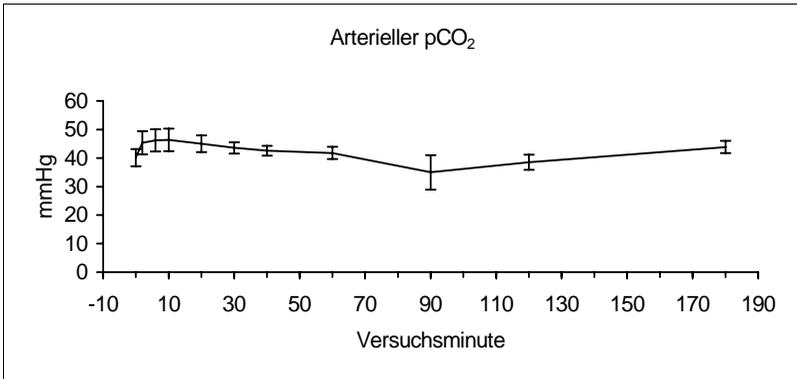


Abbildung 11: Verhalten des arteriellen pCO₂ nach zweimaliger Ancrodgabe (Ancrod I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

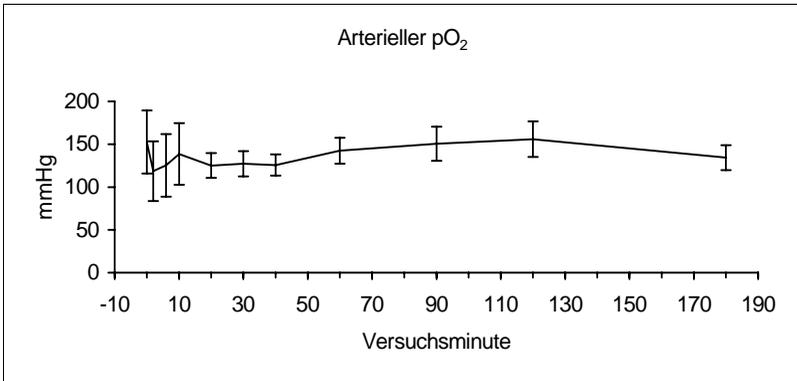


Abbildung 12: Verhalten des arteriellen pO₂ nach zweimaliger Ancrodgabe (Ancrod I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

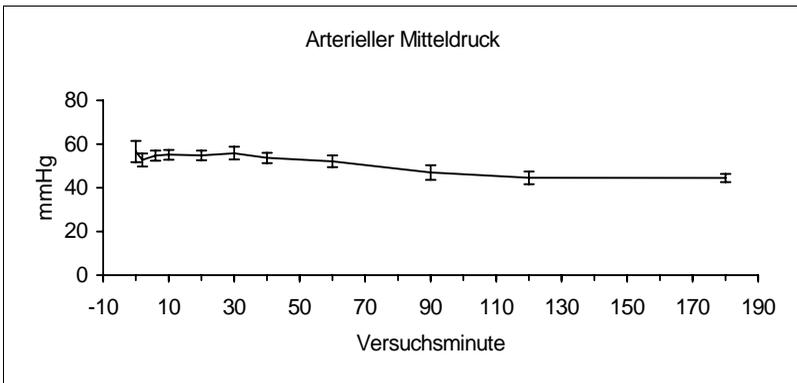


Abbildung 13: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes nach einmaliger Ancrodgabe (Ancrod II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

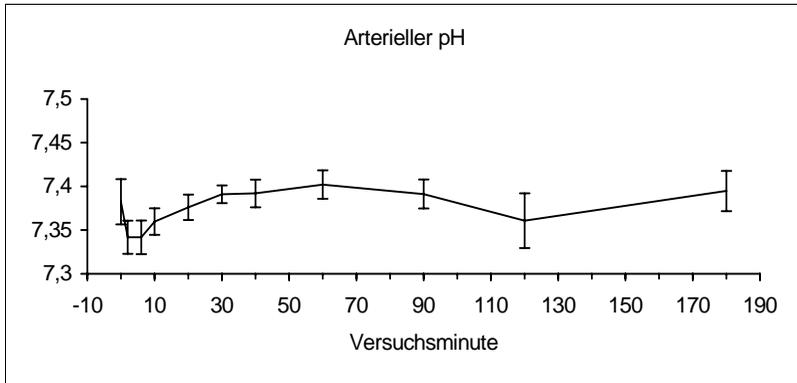


Abbildung 14: Verhalten des arteriellen pH nach einmaliger Ancrodgabe (Ancrod II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

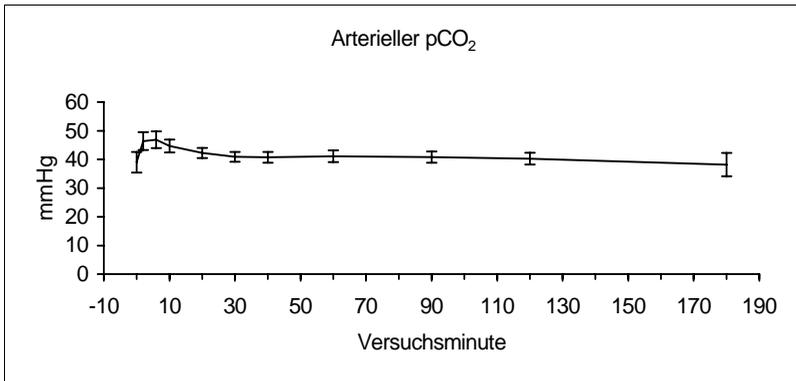


Abbildung 15: Verhalten des arteriellen pCO₂ nach einmaliger Ancrodgabe (Ancrod II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

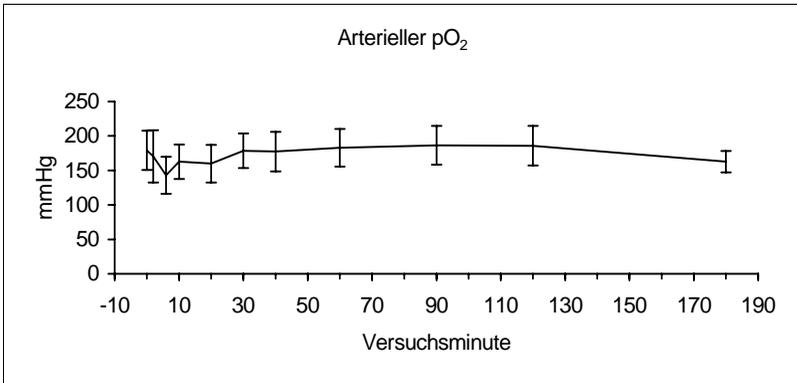


Abbildung 16: Verhalten des arteriellen pO₂ nach einmaliger Ancrodgabe (Ancrod II); dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

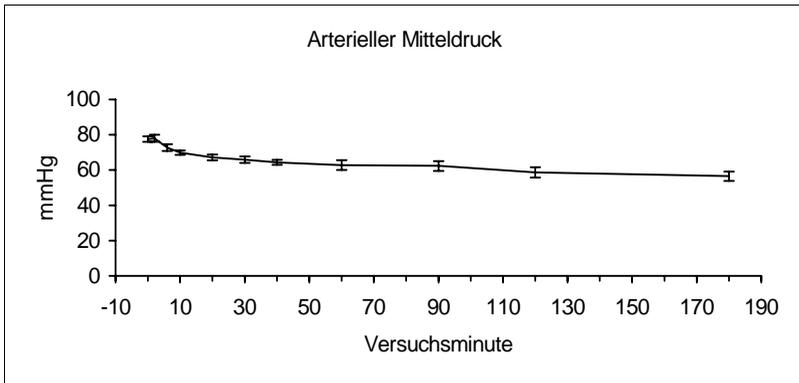


Abbildung 17: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes nach Dextrangabe; dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten

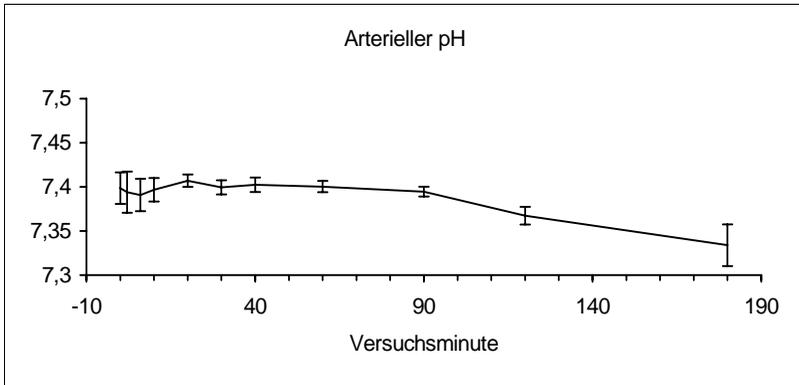


Abbildung 18: Verhalten des arteriellen pH nach Dextransgabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten

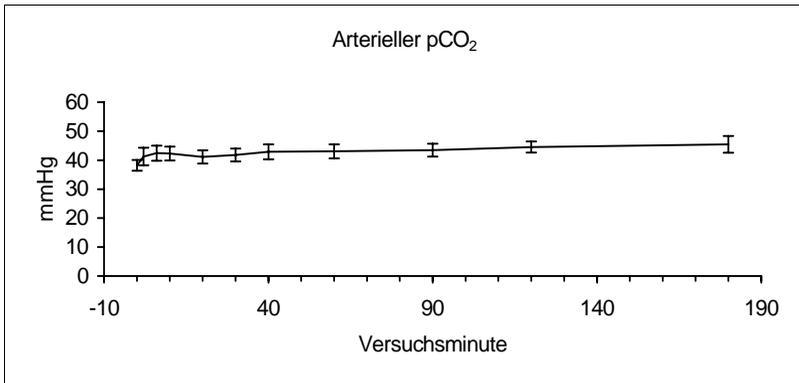


Abbildung 19: Verhalten des arteriellen pCO₂ nach Dextransgabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten

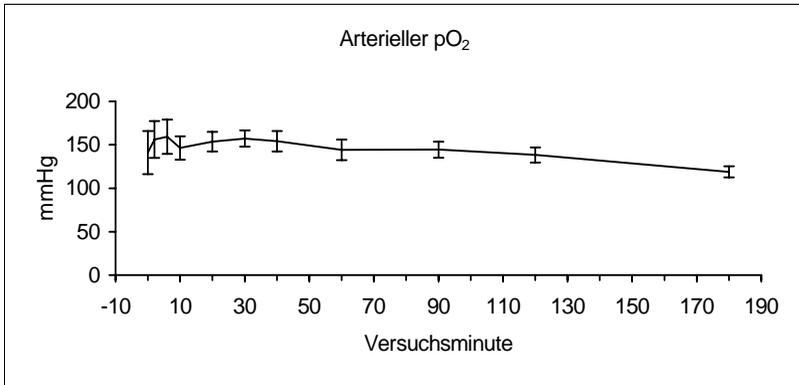


Abbildung 20: Verhalten des arteriellen pO₂ nach Dextrangabe; dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten

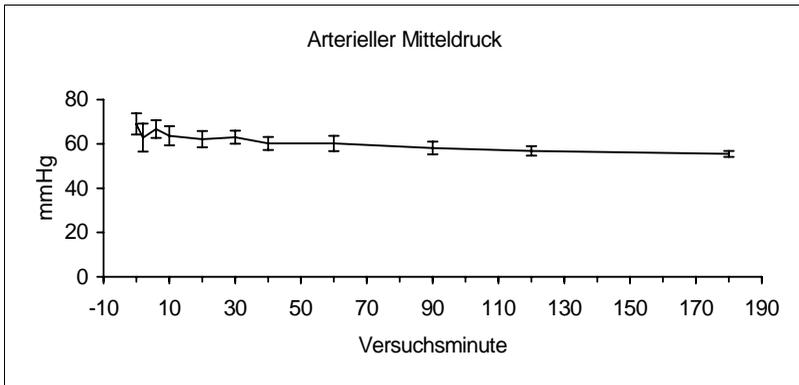


Abbildung 21: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes nach HES-Gabe; dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten

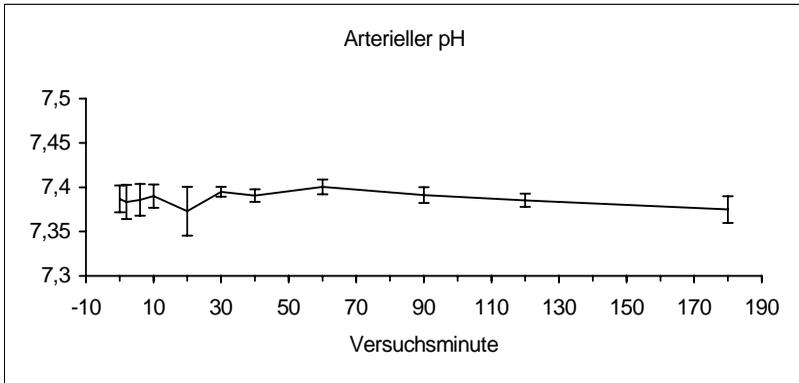


Abbildung 22: Verhalten des arteriellen pH nach HES-Gabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten

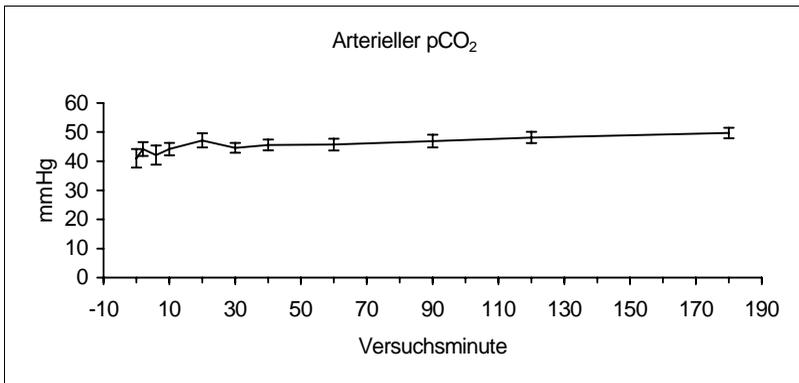


Abbildung 23: Verhalten des arteriellen pCO₂ nach HES-Gabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten

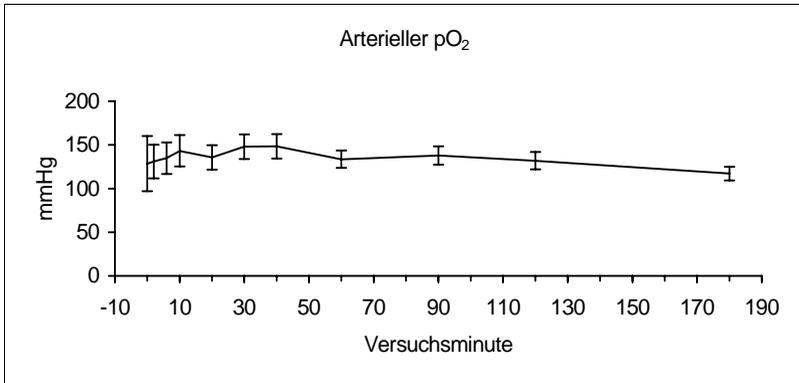


Abbildung 24: Verhalten des arteriellen pO₂ nach HES-Gabe; dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten

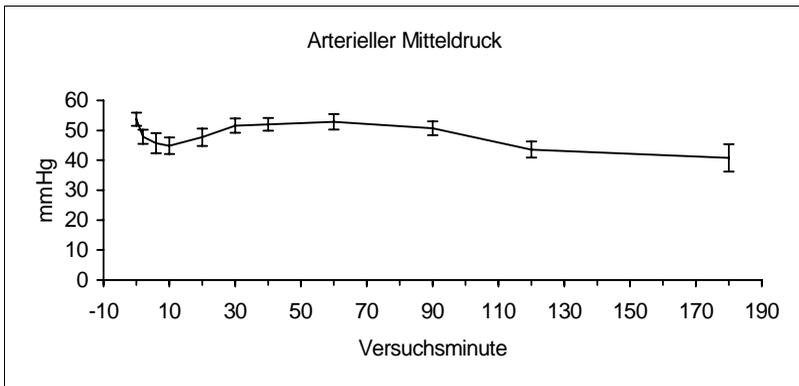


Abbildung 25: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes bei Hypoxie und Relaxierung (Hypoxie II); dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

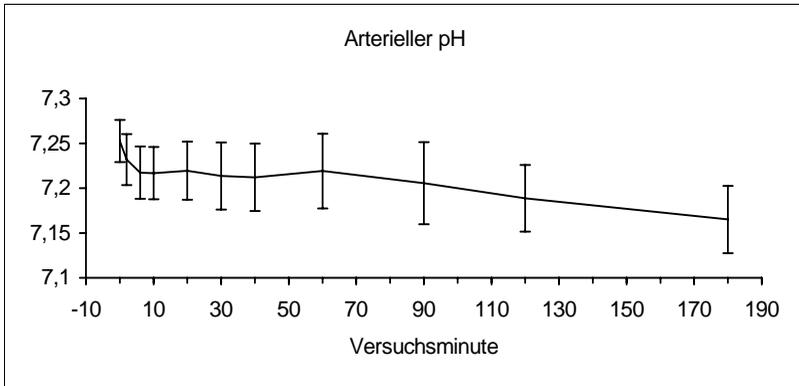


Abbildung 26: Verhalten des arteriellen pH bei Hypoxie und Relaxierung (Hypoxie II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

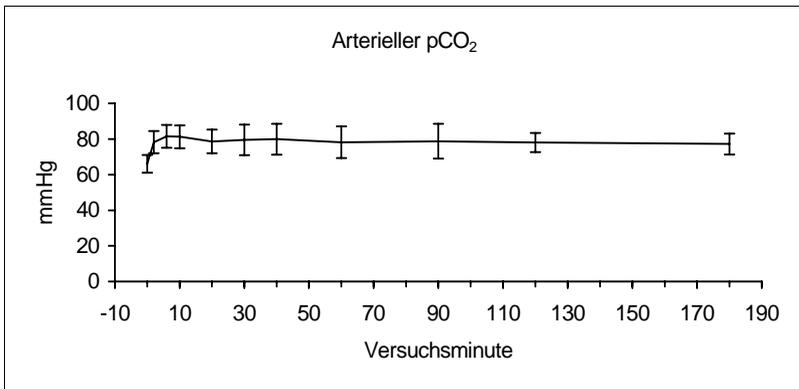


Abbildung 27: Arterieller pCO₂ bei Hypoxie und Relaxierung (Hypoxie II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

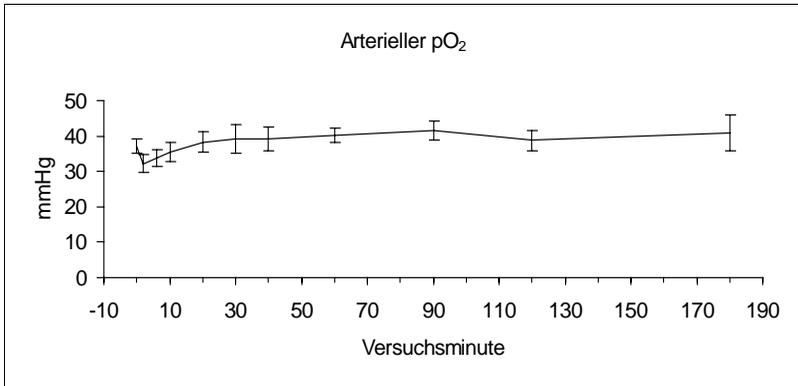


Abbildung 28: Verhalten des arteriellen pO₂ bei Hypoxie und Relaxierung (Hypoxie II); dargestellt sind Mittelwerte ± SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten

4.2 Nanocoll®-Clearance

Die Beschreibung der Abnahme der Nanocoll®-Konzentration im peripheren Blut während des Versuchsverlaufes erfolgte mittels zweier verschiedener Methoden, einer monoexponentiellen und einer biexponentiellen Funktion.

4.2.1 Mononome Kurvenanpassung

Zum einen wurde der in der Literatur dominierend anzutreffenden Darstellung der Kinetik der retikuloendethelialen Clearance als mononom exponentieller Funktion gefolgt. Es erfolgte eine Regressions-Kurvenanpassung an die gemessenen Nanocoll®-Clearanceverläufe nach der

Gleichung 1

$$C = C_a e^{(k \cdot t)}$$

Hierbei stehen C_a für die Ausgangskonzentration und C für die Konzentration zum Zeitpunkt t, während die Clearancekurve durch den Faktor k als weitere Potenz zur Basis e charakterisiert wird. Die aus den Regressions-Kurvenanpassungen gewonnenen Werte für k wurden danach einer statistischen Analyse auf Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen unterzogen (vergleiche die Darstellung der Gruppenmittelwerte in Tabelle 6 und Abbildung 29). Nach Auslassen der Ergebnisse der Gruppe Hypoxie I, die bei einem hohen Anteil durch Tod vorzeitig beendeter Versuche eine zu breite Streuung aufwiesen, ergab sich eine sehr gute

Homogenität der Varianzen (Levene-Statistik $p=0,47$). In der hierauf durchgeführten Varianzanalyse (ANOVA) waren die Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen nicht signifikant ($p=0,84$).

Tabelle 6: Koeffizient k; aufgeführt sind Mittelwerte \pm SEM

Koeffizient k	
Versuchsgruppe	MW \pm SEM
Kontrolle (n=6)	-0,0168 \pm 0,0012
Hypoxie I (n=9)	-0,0177 \pm 0,0033
Ancrod I (n=7)	-0,0176 \pm 0,0029
Ancrod II (n=7)	-0,0155 \pm 0,0026
Dextran (n=6)	-0,0188 \pm 0,0011
HES (n=6)	-0,0179 \pm 0,0009
Hypoxie II (n=7)	-0,0152 \pm 0,0028

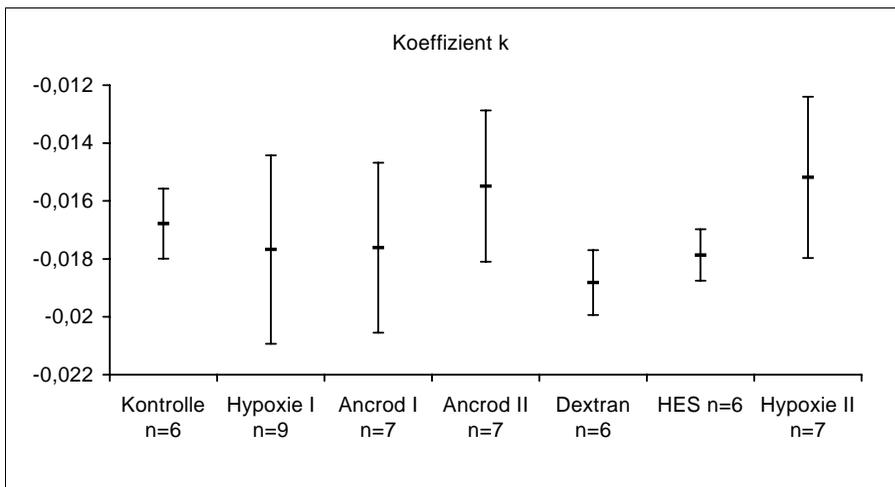


Abbildung 29: Verhalten des monomen Kurvenkoeffizienten k in den Versuchsgruppen; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM

Bereits in der graphischen Auswertung zeigte sich eine deutliche Unzulänglichkeit des Modells, die Kurvenverläufe mathematisch befriedigend darzustellen. Der anfänglich starke Abfall der Werte in Kombination mit der weitaus langsamer abfallenden zweiten Kurvenhälfte konnte durch das mononome Modell nicht abgebildet werden (vergleiche beispielhaft Abbildung 30).

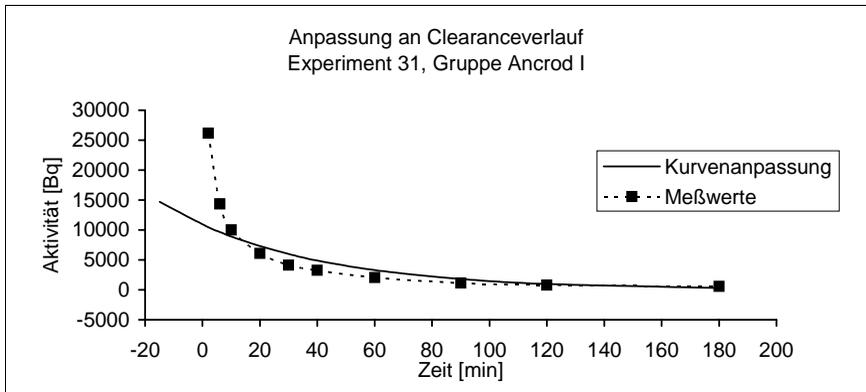


Abbildung 30: Kurvenanpassung an $C=C_a e^{(k \cdot t)}$

Als Konsequenz wurde diesem Verfahren eine Analyse gegenübergestellt, welche die gemessenen Verläufe mathematisch präziser zu erklären imstande ist. Dieses ist die Betrachtung der Kurven als zusammengesetzte, bi- oder polyexponentielle Funktion.

4.2.2 Binome Kurvenanpassung nach Mehrkompartimentenmodell

Entsprechend der biologischen Exponentialkinetik stellt sich der Kurvenverlauf eines Pharmakons im Blut im halblogarithmischen Raster immer dann nicht als Gerade dar, wenn er durch mehr als ein einziges Kompartiment bestimmt ist. Unter den Bedingungen einer i.v.-Injektion, die das Pharmakon unmittelbar und in seiner Gesamtheit im Organismus zur Verfügung stellt, erklärt sich dieses aus der Zeit, welche die Verteilung desselben im Organismus einnimmt. Es muß dementsprechend nach Dost ein Modell betrachtet werden, welches aus einem Kompartiment "Blut", bzw. abstrakter formuliert, aus einem zentralen Kompartiment, und wenigstens einem Seitenkompartiment besteht.

Das Zweikompartimentenmodell stellt sich nach Dost graphisch folgendermaßen dar:

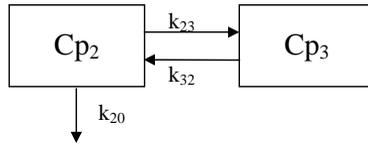


Abbildung 31: Blockdiagramm der Kompartimente

Das Zweikammermodell enthält neben dem zentralen Kompartiment (Cp_2) ein Seitenkompartiment (Cp_3), welches einen Teil der applizierten Dosis reversibel aufnimmt. Bei i.v.-Applikation ist dementsprechend ein biphasischer Konzentrationsverlauf zu erwarten. Die Austauschrate zwischen den Kompartimenten wird durch die sogenannten Mikrokonstanten k_k charakterisiert.

Im Mehrkompartimentenmodell nach Dost verhält sich die Konzentration eines Stoffes im Blut gemäß der Gleichung 2

$$y = \sum_{j=1}^n C_j e^{-\gamma_j t}$$

Für das Zweikompartimentenmodell ergibt sich dann folgende biexponentielle Gleichung 3

$$y = C_1 e^{-\gamma_1 t} + C_2 e^{-\gamma_2 t}$$

Hierbei stellen y die Konzentration des Stoffes am Modellausgang, d.h., in den gewonnen Blutproben, und C_1 und C_2 die extrapolierten Ausgangskonzentrationen dar. t steht für die Zeit und γ_1 und γ_2 sind die die Kinetik des einzelnen Kompartimentes charakterisierenden Konstanten. Den Letzteren liegen inhaltlich die dem Blockdiagramm (siehe Abbildung 31) zu entnehmenden sogenannten Mikrokonstanten k_k zu Grunde, welche die Austauschvorgänge zwischen den Kompartimenten beschreiben.

Die Extraktion der einzelnen e -Funktionen aus der gemessenen Eliminationskurve erfolgt durch die Methode des "sukzessiven Abschälens". Hierzu wird die Tatsache ausgenutzt, dass gegen Ende des zeitlichen Verlaufes meist nur noch ein einziger, nämlich der langsamste Austauschprozeß von Relevanz ist. Dieser läßt sich durch eine einfache Exponentialfunktionen ausdrücken, die von der Gesamtkurve abgezogen wird. Das Programm HOEREP führt die für das sukzessive Abschälen der einzelnen e -Funktionen notwendigen Berechnungen mittels wiederholter Iterationen zur Ermittlung kleinster Abstandsquadrate durch („Rotating Iterative Procedure“, RIP) [36].

Dieser Vorgang wird so oft wiederholt, wie es die Datenlage erfordert. Es können so Funktionen aus theoretisch beliebig vielen Nomina erstellt werden. Aus den bei dieser Untersuchung erhobenen Meßwerten wurde eine biexponentielle Kurvenfunktion als das der Datenlage am besten entsprechende Modell ermittelt, für eine tri- oder mehr-exponentielle Auswertung fand sich keine Grundlage.

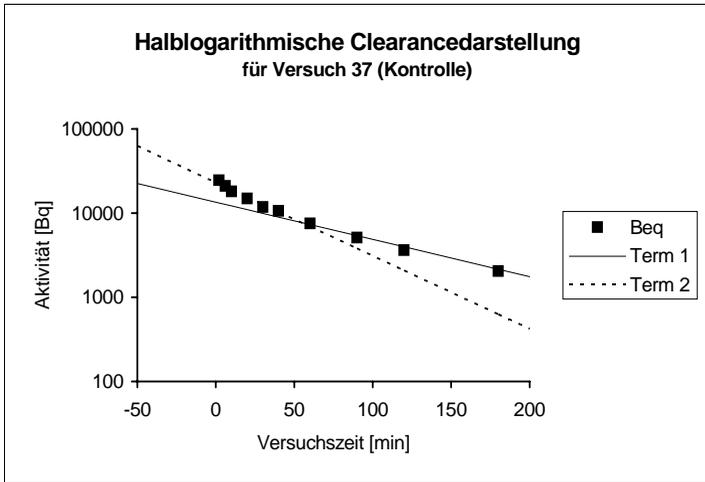


Abbildung 32: Halblogarithmische Clearancedarstellung für Versuch 37 (Kontrolle). Es wird deutlich, dass die Punkte nicht durch eine einzelne Gerade erfaßt werden können.

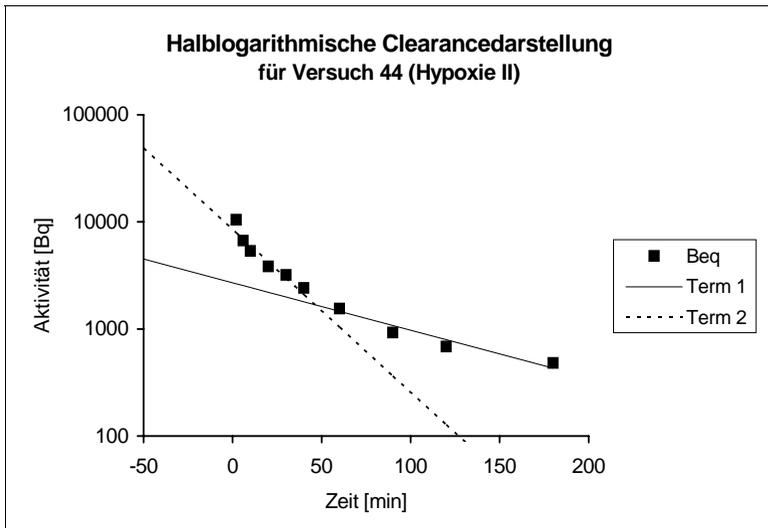


Abbildung 33: Halblogarithmische Clearancedarstellung für Versuch 44 (Hypoxie II). Auch hier wird deutlich, dass die Clearancewerte nicht durch eine monoexponentielle Funktion dargestellt werden können.

Relevante pharmakokinetische Aussagen lassen sich treffen, nachdem die genannten abstrakten Kompartimente, ausgedrückt durch die beiden Nomina der biexponentiellen Funktion, in Form eines integren Kompartimentensystems dargestellt werden [37]. Aus den für die beiden Ausdrücke der biexponentiellen Funktion ermittelten Werten, welche rein theoretischen Charakters sind, läßt sich dann gemäß

Gleichung 4

$$MT_{ve} = \frac{\sum_{j=1}^n \frac{C_j}{\gamma_j}}{\sum_{j=1}^n C_j} \quad \text{bzw.} \quad MT_{ve} = \frac{C_1 + C_2}{\gamma_1 + \gamma_2}$$

aus den extrapolierten Ausgangskonzentrationen C_j und den Kurvenkonstanten γ_j die mittlere Verweildauer der Substanz in einem zentralen Kompartiment MT_{ve} ermitteln, in welchem sie sich nach intravenöser Applikation primär verteilt.

Die mittlere Verweildauer im Gesamtsystem unter steady state-Bedingungen MT_{vss} ergibt sich als

Gleichung 5

$$MT_{vss} = \frac{\sum \frac{C_j}{(\gamma_j)^2}}{\sum \frac{C_j}{\gamma_j}}$$

wonach sich die mittlere Verweildauer im verbleibenden peripheren Kompartiment MT_{per} berechnet als

Gleichung 6

$$MT_{per} = MT_{vss} - MT_{ve}$$

Unter steady state-Bedingungen sind für diese Kompartimente die mittlere Verweildauer, die Halbwertszeit und die Konzentration einer Substanz sowie das Kompartimentvolumen zueinander proportional. Folgerichtig entsprechen sich die Verhältnisse dieser Parameter zueinander:

Gleichung 7

$$\frac{MT_{ve}}{MT_{per}} = \frac{V_{ve}}{V_{per}}$$

Durch die Betrachtung dieser abstrakten Kompartimente und ihrer Relationen zueinander ergeben sich Hinweise auf Verhalten und Interaktion von physiologischen Strukturen.

Die errechneten und in die Untersuchung eingeflossenen Parameter waren die bereits oben genannten: Aus den Primärfunktionen des biexponentiellen Ausdrucks die logarithmischen Steigungskonstanten γ_1 und γ_2 , die Halbwertszeiten $t_{1/2_1}$ und $t_{1/2_2}$ und die mittleren Verweildauern MT_1 und MT_2 .

Sodann wurden die mittleren Verweildauern für die pharmakokinetischen Kompartimente, MT_{vss} , MT_{ve} , MT_{per} und die jeweiligen Quotienten dieser Parameter untersucht.

Für die statistische Analyse mittels ANOVA wurden die Ergebnisse der Versuchsgruppe Hypoxie I (respiratorische Hypoxie ohne Relaxierung) ausgeschlossen, um die auf Grund eines

hohen Anteils früher Sterblichkeit im Versuchsablauf und einer infolgedessen verminderten Zahl von Daten zur Kurvenanpassung erhöhte Fehlerwahrscheinlichkeit zu optimieren.

Die ermittelten Mittelwerte \pm SEM der angeführten Parameter finden sich dargestellt in Abbildung 34, Abbildung 35, Abbildung 36, Abbildung 37 und Abbildung 38.

Die Werte für die Parameter MT_1 und MT_2 erforderten zu der für die ANOVA benötigten Angleichung der Varianzen eine Logarithmierung, die anderen Parameter bestanden die Levene-Statistik der Homogenität der Varianzen ohne weitere Bearbeitung.

In der ANOVA ergaben sich signifikante Gruppenunterschiede für den logarithmierten Quotienten MT_1/MT_2 ($p=0,03$), die Quotienten MT_{vc}/MT_{per} ($p=0,02$), MT_{per}/MT_{vc} ($p=0,01$) und $\log MT_{per}/MT_{vc}$ ($p=0,007$) sowie für die Quotienten MT_{vc}/MT_{vss} und MT_{per}/MT_{vss} ($p=0,009$).

In den angeschlossenen post hoc-Tests stellten sich für den Parameter $\log MT_1/MT_2$ signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen Hypoxie II und Ancrod I dar. Ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe bestand nicht; die Werte der Kontrollgruppe lagen zwischen jenen der erstgenannten Gruppen, siehe Abbildung 34 und Tabelle 8a.

In den Parametern, welche die Relationen zwischen den mittleren Verweildauern des zentralen und peripheren Kompartimentes charakterisieren, zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen HES und Ancrod I. Zwischen der Gruppe Ancrod I und der Kontrolle zeigte sich eine Tendenz zu einem signifikanten Unterschied, siehe Tabelle 8b.

Für die Parameter MT_{vc}/MT_{vss} bzw. MT_{per}/MT_{vss} zeigte sich wiederum ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen Ancrod I und HES. Hier wurde zusätzlich der Unterschied zwischen Ancrod I und der Kontrollgruppe noch deutlicher, vergleiche Tabelle 8c.

In den weiteren Parametern bestanden in der ANOVA keine signifikanten Gruppenunterschiede.

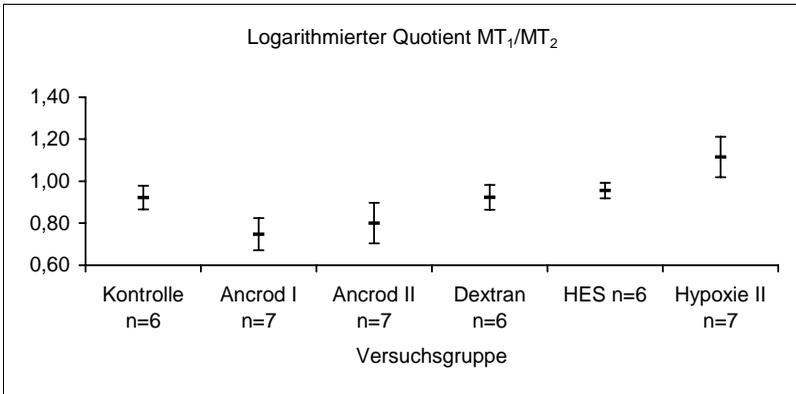


Abbildung 34: Verhalten des logarithmierten Quotienten MT_1/MT_2 in den Versuchsgruppen; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM

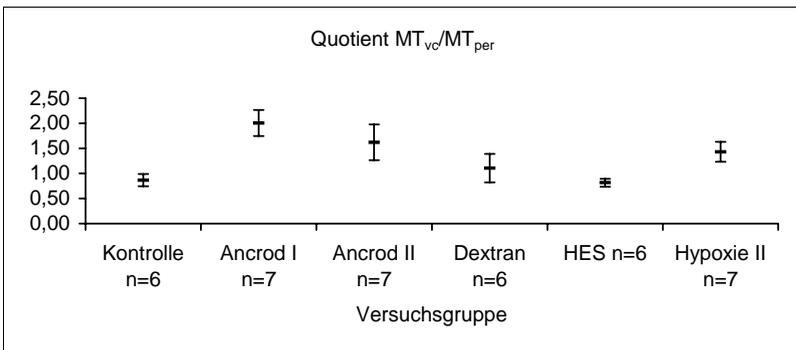


Abbildung 35: Verhalten des Quotienten MT_{vc}/MT_{per} in den Versuchsgruppen; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM

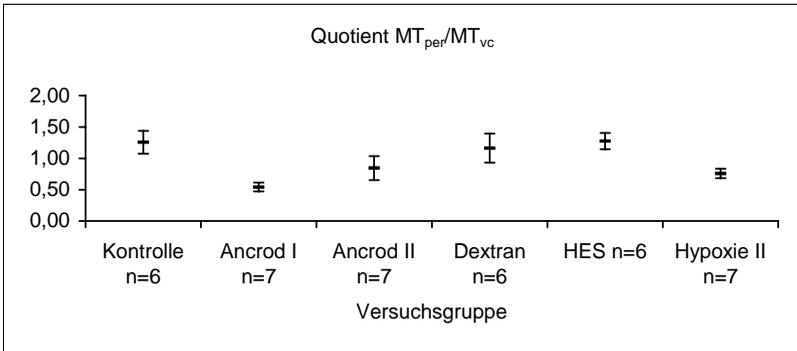


Abbildung 36: Verhalten des Quotienten MT_{per}/MT_{vc} in den Versuchsgruppen; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM

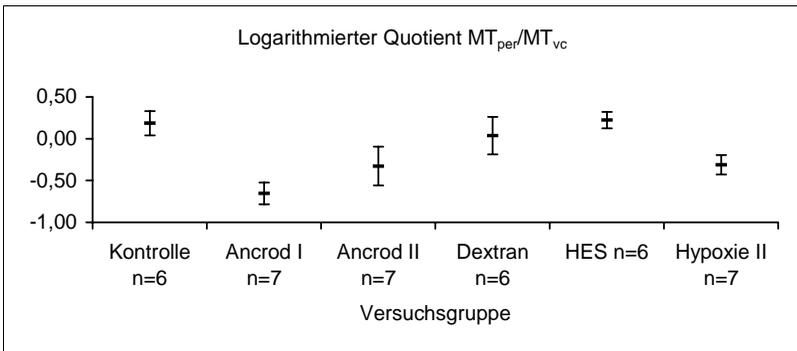


Abbildung 37: Verhalten des logarithmierten Quotienten MT_{per}/MT_{vc} in den Versuchsgruppen; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM

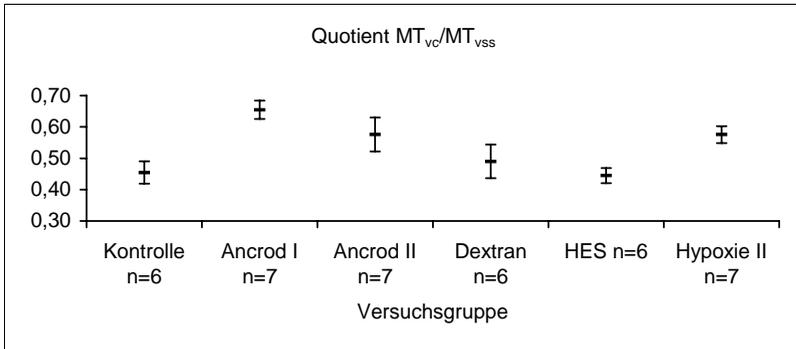


Abbildung 38: Verhalten des logarithmierten Quotienten MT_{vc}/MT_{vss} in den Versuchsgruppen; dargestellt sind die Mittelwerte \pm SEM

Tabelle 7: Mittelwerte \pm SEM der biexponentiellen pharmakokinetischen Auswertung²

	$\log(MT_1/MT_2)$	MT_{vc}/MT_{per}	MT_{per}/MT_{vc}	$\log(MT_{per}/MT_{vc})$	MT_{vc}/MT_{vss}
Kontrolle	0,9225 \pm 0,0559	0,8658 \pm 0,1210	1,2556 \pm 0,1825	0,1853 \pm 0,1454	0,4548 \pm 0,0356
Ancrod I	0,7479 \pm 0,0764	2,0048 \pm 0,2603	0,5428 \pm 0,0696	-0,6531 \pm 0,1307	0,6547 \pm 0,0292
Ancrod II	0,8011 \pm 0,0964	1,6202 \pm 0,3562	0,8433 \pm 0,1912	-0,3282 \pm 0,2318	0,5757 \pm 0,0543
Dextran	0,9234 \pm 0,0592	1,1056 \pm 0,2844	1,1626 \pm 0,2323	0,0362 \pm 0,2252	0,4901 \pm 0,0536
HES	0,9559 \pm 0,0362	0,8156 \pm 0,0791	1,2750 \pm 0,1291	0,2231 \pm 0,0990	0,4450 \pm 0,0242
Hypoxie II	1,1155 \pm 0,0958	1,4317 \pm 0,1994	0,7582 \pm 0,0749	-0,3131 \pm 0,1167	0,5756 \pm 0,0271

² Die Werte der ersten und vierten Spalte stellen die deskriptive Statistik (MW \pm SEM) der Menge logarithmierter Einzelwerte dar.

Tabelle 8: Ergebnisse der ANOVA und post hoc-Tests der pharmakokinetischen Parameter; dargestellt sind die Irrtumswahrscheinlichkeiten (p). Signifikante Werte ($p < 0,05$) sind markiert (*).

	ANOVA	Scheffé	LSD	Bonferroni	Sidak	Tukey-HSD
a)						
Log MT_1/MT_2	* 0,03					
Ancrod I ⇔ Hypoxie II		0,071	* 0,002	* 0,030	* 0,030	* 0,022
b)						
MT_{vc}/MT_{per}	* 0,02					
HES ⇔ Ancrod I		0,116	* 0,004	0,059	0,058	* 0,042
Kontrolle ⇔ Ancrod I		0,146	* 0,006	0,083	0,080	0,056
MT_{per}/MT_{vc}	* 0,01					
HES ⇔ Ancrod I		0,069	* 0,002	* 0,028	* 0,028	* 0,021
Kontrolle ⇔ Ancrod I		0,196	* 0,008	0,127	0,120	0,082
Log (MT_{per}/MT_{vc})	* 0,007					
Kontrolle ⇔ Ancrod I		0,128	* 0,004	0,067	0,065	* 0,047
Ancrod I ⇔ HES		* 0,030	* 0,001	* 0,009	* 0,009	* 0,008
c)						
MT_{vc}/MT_{vss}	* 0,009					
MT_{per}/MT_{vss}						
Ancrod I ⇔ Kontrolle		0,086	* 0,003	* 0,039	* 0,039	* 0,029
Ancrod I ⇔ HES		0,063	* 0,002	* 0,026	* 0,025	* 0,019

4.3 Verteilung der Radioaktivität in Leber, Milz, Niere und Lunge

Zur Untersuchung des Nanocoll®-Verbleibs in den Organen zum Zeitpunkt des Kreislaufstillstandes 180 Minuten nach Nanocoll®-Injektion wurde die Radioaktivität in Proben aus Leber, Milz, Niere und Lunge bestimmt. Dabei wurde das Verhältnis der Aktivitätskonzentration (Bequerel pro Gramm Gewebe) untersucht, das Verhältnis der kompletten Radioaktivitäten der einzelnen Organe zueinander und die relativ zur applizierten Menge wiedergefundene Radioaktivität.

4.3.1 Verhältnis der Aktivitätskonzentrationen

Die Verteilung der Aktivitätskonzentration in Bequerel pro Gramm Gewebe in den Organen zeigte ein wiederkehrendes Muster abfallender Konzentration in der genannten Reihenfolge. Durch Berechnen der Relationen der Radioaktivität zeigte sich pro Gramm Lebergewebe ein durchschnittlicher Anteil von 46 bis 53%, in der Milz von 33 bis 43%, in der Niere von 9 bis 15% sowie in der Lunge von 1 bis 4%. Im Chi-Quadrat-Test nach Pearson ergab sich ein Signifikanzwert von 0,983 und damit keine statistisch signifikante Abhängigkeit der Faktoren "Versuchsgruppe" und "Funktionsgewebe" voneinander, das heißt, der relative Anteil der Phagozytoseleistung pro Gramm Organgewebe wies zwischen den Versuchsgruppen statistisch keinen Unterschied auf. Jedoch zeigt sich in der graphischen Auswertung die Tendenz zu einer im Vergleich mit den Leberwerten höheren Aktivitätskonzentration in der Milz bei den beiden Hypoxiegruppen. Eine identische Entwicklung läßt sich in der Gruppe "Dextran" beobachten, siehe Abbildung 39.

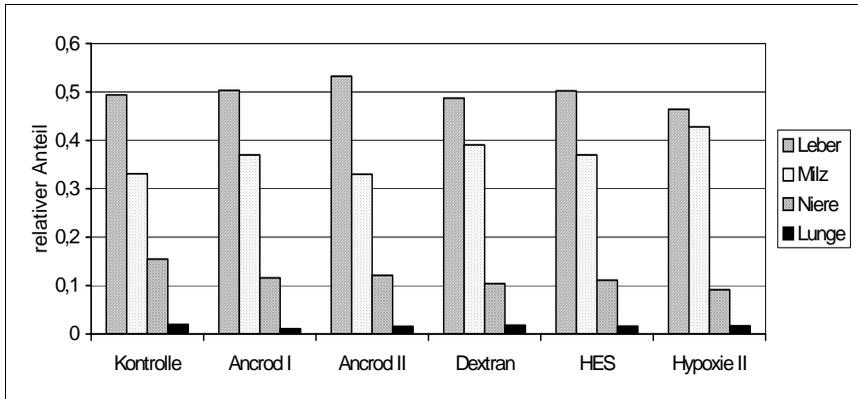


Abbildung 39: Verhältnis der Aktivitätskonzentration in den Funktionsgeweben zum Zeitpunkt des Kreislaufstillstandes nach 180 Minuten Versuchszeit, ermittelt aus den Werten in Becquerel pro Gramm Gewebe

Tabelle 9: Aktivitätskonzentration in den Organen [Bq / Gramm Gewebe] (MW±SEM)

	Leber	Milz	Niere	Lunge
Kontrolle	25062 ± 2872	17324 ± 2583	7811 ± 1109	977 ± 105
Ancrod I	28576 ± 2632	21086 ± 2290	6524 ± 565	633 ± 76
Ancrod II	39559 ± 5124	24654 ± 3369	8785 ± 854	1193 ± 184
Dextran	30549 ± 3278	24519 ± 2448	6368 ± 674	1098 ± 256
HES	32965 ± 3272	24854 ± 3390	7547 ± 1222	1118 ± 325
Hypoxie II	27597 ± 2923	25495 ± 2460	5269 ± 669	962 ± 144

Tabelle 10: Verhältnis der Radioaktivitätskonzentration der Organe

4.3.2 Verhältnis der Radioaktivitätswiederfindung zwischen den kompletten Organen

Die Untersuchung der Radioaktivität pro Organ ergab im Durchschnitt aller Versuche in der Leber 81,0% bis 95,9%, in der Niere 2,2% bis 14,4%, in der Milz 0,6% bis 5,1% und in der Lunge 0,2% bis 5,2% Wiederfindung der Summe der Organradioaktivitäten. Die Verteilung innerhalb der Versuchsgruppen ist dargestellt in Tabelle 12. Hier zeigt sich eine Wiederfin-

derung des weitaus überwiegenden Anteils der applizierten Radioaktivität in der Leber, während Niere, Milz und Lunge in dieser Reihenfolge stark dagegen abfielen. Die Analyse mittels Chi-Quadrat-Test ergab keine Abhängigkeit der Faktoren "Organtyp" und "Versuchsgruppe" voneinander (Chi-Quadrat nach Pearson-Signifikanz = 1,000), damit enthielten die Versuchsgruppen keine Unterschiede in der Verteilung der Radioaktivitätswiederfindung pro Organ.

Tabelle 11: Radioaktivitäten der kompletten Organe [Bq] (MW±SEM)

	Leber	Milz	Niere	Lunge	Gesamt [MBq]
Kontrolle	1741221±190463	36820±6103	147967±19018	13860±1637	1,94
Ancrod I	2188563±165665	45338±10058	127657±16740	10971±1863	2,37
Ancrod II	2314691±196889	50157±6604	158727±17380	15757±1433	2,54
Dextran	2243109±205961	54530±14865	112791±11093	19025±4692	2,43
HES	2545769±294370	77017±15401	149453±24070	15529±3845	2,79
Hypoxie II	2288515±214251	55240±7022	111167±18253	15019±3365	2,47

Tabelle 12: Verhältnis der Radioaktivitätswerte der kompletten Organe in den Versuchsgruppen

	Leber	Milz	Niere	Lunge	Gesamt³
Kontrolle	89,3%	1,9%	8,0%	0,8%	100%
Ancrod I	92,2%	1,9%	5,5%	0,4%	100%
Ancrod II	91,0%	1,9%	6,4%	0,7%	100%
Dextran	92,1%	2,2%	4,8%	0,8%	100%
HES	91,5%	2,7%	5,2%	0,5%	100%
Hypoxie II	92,5%	2,2%	4,6%	0,6%	100%

³ 100 Prozent stehen für die Menge der in diesen vier Organen wiedergefundenen Radioaktivität.

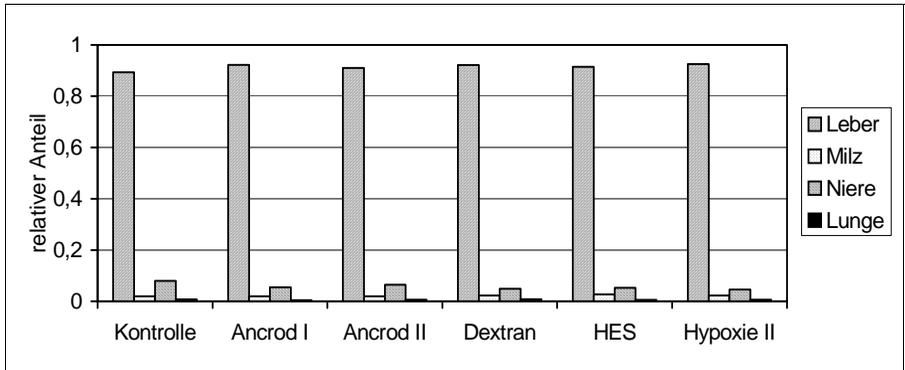


Abbildung 40: Verhältnis der Radioaktivität der kompletten Organe in den Versuchsgruppen

4.3.3 Wiederfindung der applizierten Radioaktivität in den Organen

Zur Analyse der absoluten Wiederfindung in den Organen wurden die Radioaktivitätsmengen in den kompletten Organen auf die applizierte Radioaktivitätsdosis bezogen und als Mittelwert und SEM dargestellt, siehe Tabelle 13. In der Varianzanalyse fanden sich für die Leber signifikante Unterschiede zwischen den Wiederfindungswerten einzelner Gruppen, siehe Tabelle 14. Im LSD-Verfahren als post-hoc-Test differierten die Werte der Versuchsgruppen Kontrolle und HES mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p=0,01$, die Gruppen Kontrolle und Hypoxie II mit $p=0,01$ und die Gruppen Dextran und Hypoxie II mit $p=0,03$, siehe Tabelle 15. Es zeigte sich also, dass die Leber unter Hypoxie II- und unter HES-Behandlung einen signifikant höheren Anteil der applizierten Radioaktivität aufnahm als in der Kontrollgruppe. Außerdem war der Anteil aufgenommener Radioaktivität in der Hypoxie II-Gruppe höher als in der Dextrangruppe.

Tabelle 13: Wiedergefundener Anteil der applizierten Radioaktivitätsdosis in den kompletten Organen (MW±SEM), 1 = 100%

	Leber	Milz	Niere	Lunge
Kontrolle	0,322±0,035	0,007±0,001	0,028±0,005	0,003±0,000
Ancrod I	0,370±0,032	0,007±0,001	0,021±0,002	0,002±0,000
Ancrod II	0,397±0,029	0,009±0,001	0,027±0,003	0,003±0,000
Dextran	0,348±0,025	0,009±0,002	0,018±0,002	0,003±0,001
HES	0,429±0,017	0,013±0,002	0,024±0,002	0,002±0,001
Hypoxie II	0,438±0,024	0,011±0,001	0,022±0,004	0,003±0,001

Tabelle 14: Wiedergefundener Anteil der applizierten Radioaktivitätsdosis in den kompletten Organen (MW±SEM): Vergleich je eines Organes zwischen den Versuchsgruppen mittels ANOVA. Irrtumswahrscheinlichkeit p; signifikante Ergebnisse sind markiert (*)

Organ	P
Leber	* 0,04
Milz	0,16
Niere	0,19
Lunge	0,61

Tabelle 15: Irrtumswahrscheinlichkeit p im post hoc-Test LSD der Wiederfindungsunterschiede in der Leber; signifikante Ergebnisse sind markiert (*)

Gruppe versus Gruppe	P
Kontrolle ⇔ HES	* 0,01
Kontrolle ⇔ Hypoxie II	* 0,01
Dextran ⇔ Hypoxie II	* 0,03

4.3.4 Wiederfindung der insgesamt applizierten Radioaktivität im Blut und in den Organen

Zur Analyse der Wiederfindung der insgesamt applizierten Radioaktivität wurden die Meßergebnisse aus den Organproben und aus den Blutproben zum Versuchsende (t=180) berücksichtigt. Die in den Organproben gemessene Radioaktivität wurde auf die kompletten Organe hochgerechnet, entlang der zerfallsbedingten Aktivitätsabnahme auf den Zeitpunkt t=0 zum

Versuchsbeginn extrapoliert und aus Leber, Milz, Niere und Lunge addiert. Die in den Blutabnahmen bei $t=180$ ermittelten Radioaktivitäten wurden auf das Blutvolumen der Tiere hochgerechnet und ebenfalls auf den Zeitpunkt $t=0$ extrapoliert. Die Ergebnisse für Organe und Blut wurden addiert und auf den applizierten Radioaktivitätsbolus bezogen. Die Beschreibung erfolgte nach Versuchsgruppen getrennt, vgl. Tabelle 16. Im Durchschnitt ließen sich in Blut und Organen ca. 62% der applizierten Radioaktivität wiederfinden. Zur Ermittlung von Gruppenunterschieden wurde auch hier eine ANOVA durchgeführt. Die Gruppe 2 (Hypoxie I) wurde hiervon ausgenommen, da die Mehrzahl der enthaltenen Tiere das Versuchsende von 180 Minuten nicht erreicht hatten. Die Levene-Statistik bestätigte die Homogenität der Varianzen ($p=0,79$), die ANOVA ergab jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ($p=0,06$).

Tabelle 16: Anteil der in Blut und Organen wiedergefundenen Radioaktivität an der applizierten Radioaktivität (1 = 100%)

	N	MW ± SEM
Kontrolle	6	0,540 ± 0,059
Ancrod I	7	0,576 ± 0,043
Ancrod II	7	0,592 ± 0,036
Dextran	6	0,687 ± 0,054
HES	6	0,646 ± 0,040
Hypoxie II	6	0,716 ± 0,021
Gesamt	38	0,624 ± 0,019

5 Diskussion

5.1 Relevanz der Fragestellung

Das retikuloendotheliale System nimmt durch seine Funktion, körperfremde oder dem Körper fremdgewordene Partikel zu phagozytieren, eine herausragende Stellung in der Aufrechterhaltung der makromolekularen und Selbst-Fremd-Hömoostase ein [38]. Die Beeinträchtigung der systemischen Klärfähigkeit und der Phagozytosekapazität des RES im Rahmen von Trauma, Sepsis und Hämorrhagie hat eine fundamentale pathogenetische Bedeutung in der Entwicklung des septischen Organversagens, welches nach wie vor durch eine hohe Mortalität gekennzeichnet ist [39, 16]. Die Schlußfolgerung, die aus früheren tierexperimentellen Studien zur Bedeutung einer Einschränkung der RES-Funktion gezogen werden kann, betrifft den eindeutig dokumentierten protektiven Effekt eines intakten retikuloendothelialen Systems für den Organismus im Sinne der Adaptation und Toleranzsteigerung gegenüber verschiedenen schockauslösenden Mechanismen [10].

Eine Inkompetenz in der Erfüllung dieser Aufgabe beinhaltet demnach eine prädiktive Aussage, deren Kenntnis für den Intensivmediziner einen umso größeren Stellenwert hat, als in zunehmendem Maße auch Möglichkeiten zur Modulation der Immunfunktion zur Verfügung stehen.

Die Untersuchung des funktionellen Status des retikuloendothelialen Systems ist also von vorranglichem Interesse. Zu diesem Zwecke wurde bereits eine Vielzahl von Methoden verwendet, deren klinischer Routineeinsatz jedoch bisher an methodenimmanenten Faktoren wie toxischen oder pathogenen Testsubstraten oder mangelnder Universalität in der Darstellung verschiedener RES-Beeinflussungen scheiterte.

Unter diesen Vorzeichen ist die Etablierung eines unkompliziert am Menschen durchführbaren Monitoringverfahrens für den funktionalen Status des retikuloendothelialen Systems, welches reproduzierbare und valide Ergebnisse gewinnt, von großem Interesse. Die sich aus einem solchen Meßverfahren ergebenden Möglichkeiten könnten sowohl für die klinische als auch für die theoretische Medizin neue Wege bereiten. Wegen der im Folgenden dargestellten, vielversprechenden Eigenschaften der Substanz Nanocoll® wurde mit der vorliegenden Studie ein erster entscheidender Schritt zur Untersuchung ihrer praktische Einsetzbarkeit unternommen.

5.2 Relevanz des Nanocoll®

Das humane Albumin-Derivat Nanocoll® weist Voraussetzungen für einen sinnvollen Einsatz im Funktionsmonitoring auf.

- Nanocoll® wird durch die Zellen des retikuloendothelialen Systems phagozytiert und wurde mehrfach zur RES-Evaluation eingesetzt [32-35]. Als Makromolekül, welches vom Körper als zu klärender Stoff identifiziert wird, entspricht es den in dieser Untersuchung verwendeten, bekannterweise das RES kompromittierenden Substanzen (Kolloide, Defibrinierungsprodukte). Eine Elimination des Nanocoll® und der Störsubstanzen über unterschiedliche Mechanismen und eine dementsprechend eingeschränkte Aussagekraft des Markers ist denkbar; in der oben zitierten Literatur finden sich hierauf keine Hinweise. Vielmehr wird bei Clearancetests allgemein von einem repräsentativen Stellenwert der Testsubstanz ausgegangen, sobald die oben genannten Attribute (Makromolekül, durch das RES identifizierbar) erfüllt sind. Während methodologisch eine Konkretisierung dieser Übertragbarkeit wünschenswert wäre, entspricht die Annahme einer globalen Markergültigkeit der globalen RES-Fähigkeit, verschiedenste Substanzen zu eliminieren. Die Anreicherung des markierten Kolloides in entzündeten Gewebearealen, im Knochenmark und in Lymphabstromgebieten ist bekannt und wird diagnostisch genutzt [65, 66]. Diese Verhaltensweisen legen eine Aufnahme durch phagozytierende Zellen nahe. Der differenzierte Verbleib intravaskulär oder intradermal bzw. interstitiell in den Organismus applizierten Nanocolls ist jedoch derzeit nicht unter-
- ~~Nanocoll®~~ Nanocoll® ist ein in der Diagnostik am Menschen bereits lange und routinemäßig eingesetztes Diagnostikum [Leidenius, Estourgie], eine Unbedenklichkeit der Anwendung wird dadurch stark unterstützt [32, 66].
- Nanocoll® wird aus menschlichem Albumin gewonnen; es ist auf Grund seiner dementsprechend geringen antigenen Eigenschaften – der jahrelangen klinischen Erfahrung entsprechend – für den Einsatz im Menschen geeignet.
- Nanocoll® wird als Produkt mit gut definierten, physikalischen Eigenschaften vertrieben, welche eine gezielte Aussage zu spezifischen Aspekten der Phagozytose zulassen.
- Nanocoll® ist für die Markierung mit ^{99m}Tc-Technetium (Pertechnetat) geeignet, einem kurzlebigen (Halbwertszeit 6 Stunden) Isotop, welches einfach herzustellen und dessen γ -Strahlung unaufwendig gemessen werden kann. Es wird klinisch in Dosierungen bis zu einem Gigabequerel eingesetzt; da zum Zwecke der Clearancebestimmung jedoch nur Gesamtaktivitätsmessungen von Proben und keine auflösungsabhängigen, zweidimensiona-

len Szintigraphien durchgeführt werden, kann mit weit geringeren Radioaktivitäten gearbeitet werden. Hierdurch werden der Patientenschutz verbessert und aufeinander folgende Messungen mit steigenden Konzentrationen ermöglicht.

Die Summe dieser Eigenschaften legt die Möglichkeit einer Verwendung des Nanocoll® als Instrument zur Messung der Phagozytosekompetenz der Zellen des retikuloendothelialen Systems nahe.

Nanocoll® wurde tierexperimentell bisher im Opossum [1], in der Maus und in der Ratte [33, 34, 35] eingesetzt. In dieser Studie wurde als Versuchsobjekt das Kaninchen gewählt, da es den genannten Nagern im Sinne einer Übertragbarkeit der Ergebnisse klassifikatorisch nahe steht, präzise hämodynamische Messungen erlaubt und gleichzeitig auf Grund seiner Größe wiederholte ausreichend große Blutprobenabnahmen für Blutgasanalysen und präzise szintigraphische Radioaktivitätsmessungen ermöglicht.

5.3 Relevanz des Versuchskonzeptes

In der vorliegenden Arbeit wurde Nanocoll® unter Verwendung mathematisch objektivierbarer Methoden großer statistischer Reliabilität auf seine Tauglichkeit überprüft, die Phagozytosekompetenz als Parameter der Funktionalität des retikuloendothelialen Systems in verschiedenen Settings abzubilden. Hierzu diente eine hochstandardisierte tierexperimentelle Versuchsanordnung am anästhesierten Kaninchen, welche eine hohe Vergleichbarkeit der Untersuchungsergebnisse sowie post mortem-Betrachtungen erlaubt. Das verwendete Tiermodell wurde bereits in einer Reihe von Studien erfolgreich eingesetzt, um mittels der Phagozytose von *Escherichia coli* die Kinetik retikuloendothelialer Funktionalitäten unter verschiedenen Beeinflussungen zu analysieren.

Die Analyse der Elimination radioaktiver Marker aus dem Blut zur Untersuchung der RES-Funktion ist ein in einer Vielzahl von Studien verfolgter Ansatz (siehe auch die Ausführungen unter 5.4.1).

Untersucht wurden hier die Clearance des Nanocoll® aus dem peripheren Blut sowie seine terminale Verteilung in den Organen Leber, Milz, Niere und Lunge unter den Bedingungen der Hypoxie, der atypischen Defibrinierung durch die Protease Ancrod, sowie der Gabe der kolloidalen Volumenersatzmittel Hydroxyethylstärke und Dextran. Die Beeinflussung der RES-Funktion durch Hypoxie, durch Kolloide und Gerinnungsstörungen mit subsequenter RES-Beladung ist sowohl klinisch, als auch qualitativ und quantitativ bereits in einer Vielzahl von Untersuchungen nachgewiesen worden. Es war zu erwarten, dass die Absättigung der RES-Zellen durch Kolloide und Defibrinierungsprodukte oder die Funktionseinschränkung

der Zellen unter Hypoxiebedingungen in einer verminderten Phagozytose des Nanocoll® und damit einer herabgesetzten Elimination der Substanz aus dem Blut resultieren würden. Ebenso war anzunehmen, dass sich die genannten Faktoren in der Organaufnahme des Markers widerspiegeln würden.

Es wurde dementsprechend analysiert, ob Nanocoll im Verhalten bei Clearance und Organverteilung diese Beeinflussungen in einem differentialdiagnostisch verwertbaren, ausreichend starken Maße abbildet.

5.3.1 Hypoxie

Bei Durchsicht der vorhandenen Literatur kristallisiert sich die Gewebhypoxie als gemeinsame Endstrecke einer Vielzahl einwirkender Mechanismen und Ursache der zellulär-funktionellen Dysfunktion deutlich heraus.

Eine respiratorische Hypoxie durch Atmen eines Gasgemisches mit 13% Sauerstoff führt zu temporär signifikant ($p < 0,001$) erhöhten Endotoxinspiegeln durch Kompromittierung der RES-Funktion und intestinale Bakterientranslokation [40]. Erhöhte Endotoxinspiegel produzieren signifikante Verzögerungen in der Clearance von *E. coli* aus dem Blut bei gleichzeitig erhöhten Zahlen viabler Bakterien in Leber, Milz, Niere und Lunge [39]. Hypoxämie führt in männlichen Mäusen ohne Hypotension oder hämorrhagischen Schock zu einer systemischen Entzündungsantwort (SIRS, Systemic Inflammatory Response Syndrome) mit erhöhten Werten von Interleukin-6 und TNF- α [41]. Bolusgaben von TNF verändern die Eliminationskinetik von Bakterien nicht ausgeprägt, führen aber zu bis zu 100-fach vermehrter Akkumulation von Keimen in der Lunge [39]. Eine Gewebhypoxie durch Trauma und Hämorrhagie bewirkt ein nachhaltige Depression der zellulären Immunität [61]. Auch ohne gleichzeitigen Blutverlust oder Hypotension führt Hypoxie zur Ausschüttung inflammatorischer Zytokine [63]. Eine durch Applikation von Noradrenalin induzierte ischämische Gewebhypoxie zieht eine Beeinträchtigung der Phagozytose- und Lyse-Funktion des RES mit erhöhten Werten verbleibender, vitaler *E. coli* nach sich [4]. Wie in Studien, die das gleiche Tiermodell wie jenes in dieser Arbeit verwendeten, nachgewiesen werden konnte, führt eine Hypoxie mit arteriellen pO_2 -Werten unter 40 mmHg zu einer stark kompromittierten Clearance von *Escherichia coli* aus dem Blut, sowie zu stark erhöhten Werten vitaler Bakterien in Leber, Milz, Niere und Lunge [16, 10].

Die Hypoventilationshypoxämie stellt sich also als geeignetes Instrument zur Kompromittierung zellulärer Immunität durch Gewebhypoxie dar.

Bei der Durchführung dieser Studie zeigte sich, dass eine rein hypoventilatorische Hypoxie einen ausgeprägten Atemanreiz für die Versuchstiere darstellt, der auch durch Vertiefung der Anästhesie nicht behoben werden konnte. Die hierauf folgende respiratorische Erschöpfung führte zu progredienter Hypotonie und vorzeitigem Tod bei sieben der neun Tiere der Gruppe Hypoxie I. Es wurde daher eine weitere, zusätzlich zur Hypoventilation neuromuskulär relaxierte Hypoxiegruppe aufgenommen (Hypoxie II); in dieser Gruppe erreichten alle Tiere das vorgesehene Versuchsende.

5.3.2 Defibrinierung

Im Rahmen des septischen Schocks entstehende Imbalancen zwischen den ansonsten in engen Grenzen regulierten Inhibitoren und Aktivatoren der klassischen Kaskadensysteme (Komplement-, Kallikrein-Kinin-, Gerinnungs- und fibrinolytisches System) können zu unkontrollierten Aktivierungen und einem erheblichem Anfall von Spaltprodukten führen, die vom RES im Rahmen seiner protektiven Funktion aus dem Blut geklärt werden müssen [10, 42, 43]. Eine deutliche klinische Manifestation mangelnder Clearancekompetenz stellt das Sarelli-Shwartzman-Phänomen als Resultat indirekter Defibrinierung dar [11]. Hierbei kommt es nach zweimaliger Gerinnungsaktivierung durch Endotoxingabe im Abstand von 24 Stunden nach der zweiten Aktivierung wegen nicht mehr ausreichender Phagozytosekapazität des RES zu Fibrinausfällungen mit Gewebsnekrosen, z.B. in der Nierenrinde. Die intravenöse Applikation des Ancrod, eines Venoms aus dem Gift der malayischen Grubenotter, bewirkt, wie die Injektion von Thrombin, auf enzymatischem Wege die Entstehung von Fibrin-spaltprodukten und führt unter Abnahme des zirkulierenden Fibrinogens zu diffusen Thrombosierungen [12].

In dem auch in dieser Arbeit verwendeten Tiermodell konnte bereits früher nachgewiesen werden, dass eine Defibrinierung mittels Ancrod zu stark verzögerter und auch nach 180 Minuten nur inkompletter Elimination von *E. coli* aus dem Blut führt. Gleichzeitig fanden sich signifikant erhöhte Zahlen von Bakterien in Leber, Milz, Niere und Lunge [16, 10, 44].

Die Clearancerate markierten, mikroaggregierten Albumins im Hundemodell verminderte sich durch Defibrinierung mit Defibrase®, einem dem Ancrod vergleichbaren, thrombinähnlichen Enzym aus dem Gift von *Bothrops atrox* signifikant [45].

Beide Ergebnisse wurden als Zeichen der Blockade des RES durch die Fibrin-spaltprodukte gewertet.

Eine weitere Studie konnte keinen Unterschied in der Elimination von Immunkomplexen zwischen mit Ancrod vorbehandelten und unbehandelten Mäusen nachweisen. Allerdings erfolg-

te die Defibrinierung hierbei anders als bei den vorgenannten Untersuchungen nicht durch intravenöse, sondern durch intraperitoneale Injektion des Ancrod über einen Zeitraum von sechs Tagen [46].

5.3.3 Kolloidaler Volumenersatz

Kolloidale Volumenersatzmittel stellen als körperfremde, intravasale Makromoleküle ein Substrat für die Phagozytose durch die Zellen des RES dar. Ihre Speicherung im RES wurde von verschiedenen Autoren beschrieben [siehe 47].

(Anmerkung: Kolloide sind spezifiziert durch die Angabe von Konzentration/ Molekulargewicht in Kilodalton/ Substitutionsgrad.)

5.3.3.1 Hydroxyethylstärke

Die Beeinflussung der Funktion des RES durch HES wird in der Fachliteratur auf Grundlage unterschiedlicher Untersuchungsergebnisse kontrovers beurteilt.

Die Gabe von 10 ml HES 6%/70/0,5 bzw. 6%/200/0,5 bzw. 6%/450/0,7 pro kg KG bewirkte keine Beeinträchtigung der Phagozytose opsonisierter E. coli durch intravasale Monozyten und neutrophile Granulozyten [48].

Die Infusion von 15 ml HES 6%/270/0,5 pro kg KG zeigte bei der Untersuchung mittels eines Erythrozyten-Clearancetests, der vor allem den Milzanteil des RES erfaßt, keine signifikante Clearancebeeinflussung [49].

10 ml HES 6%/450/0,7 pro kg KG bewirkten im Lipofundin-Clearancetest keine Beeinträchtigung, sondern eine Steigerung der Phagozytosekapazität um 30%. Als Ursache für dieses Ergebnis wurde allerdings der Dilutionseffekt der Kolloidgabe in Betracht gezogen [38].

Histopathologisch fand sich in Ratten nach Gabe von 48 ml HES 4%/40 pro kg KG über vier Tage eine Speicherung des Kolloids im endoplasmatischen Retikulum der retikulären Zellen in den zervikalen und inguinalen Lymphknoten. Zugrundegegangene Zellen fanden sich nicht [47].

Die Infusion von 20 ml HES 6%/435/0,6, Dextran 10%/40 und Dextran 6%/70 pro kg KG zeitigte verlängerte Clearancezeiten für radioaktiv markierte Erythrozyten und bewirkte eine erhöhte Toxizität durch Salmonellen in Mäusen [9].

Nach Infusion von 60 ml einer nicht näher spezifizierten HES-Lösung pro kg KG in Ratten ließ sich weder in gesunden, noch in septischen (zoekale Ligatur und Punktion, CLP) Tieren eine Beeinflussung der Clearance oder Organretention einer radioaktiv markierten Lipidemulsion im Vergleich mit der Infusion von isotoner Kochsalzlösung nachweisen [50].

Nach Infusion von 20 und 40 ml HES 6%/450/0,7 pro kg KG in Mäusen änderte sich die vaskuläre Clearance von ⁵¹Chrom-markierten Schaferythrozyten nur wie in der Kontrollgruppe, während nach 80 ml HES pro kg KG zunächst während 6 Stunden eine Verlängerung der intravasalen Halbwertszeit und eine Halbierung der hepatischen Phagozytose gefunden wurde, gefolgt von einer Erholung der Clearanceleistung nach 24 Stunden und einer stimulierten Leberphagozytose nach drei Tagen [51].

Zusammenfassend deutete die uneinheitliche Datenlage darauf hin, dass die in dieser Studie vorgenommene intravenöse Applikation von 60 ml HES 6% pro kg KG, einer Dosis an der oberen Grenze der bisher unternommen Untersuchungen, dem Scheidepunkt zwischen durch HES-Gabe nicht eingeschränkter und möglicherweise eingeschränkter RES-Funktion wahrscheinlich nahe kommt.

5.3.3.2 Dextran

Der Applikation von Dextranlösungen wird in der Literatur überwiegend eine die RES-Phagozytosekompetenz beeinträchtigende Wirkung zugeschrieben.

Post mortem diagnostizierte exzessive Kolloidablagerungen in den RES-Zellen von Leber, Milz und Lunge sowie in den Tubulusepithelien der Niere in einem 70 kg schweren Patienten mit septischem Leber-, Nieren- und Lungenversagen unter Therapie mit 470 g Dextran 40 bzw. 70 und 420 g Hydroxyethylstärke 450/0,7 gaben Hinweise, dass Kolloide zu einem multifaktoriell bedingten Multiorganversagen beigetragen haben [52].

Histopathologisch fand sich in Ratten nach Gabe von 48 ml Dextran 4%/40 pro kg KG über vier Tage eine Speicherung des Kolloids im endoplasmatischen Retikulum der retikulären Zellen in den zervikalen und inguinalen Lymphknoten. Zum Teil kam es durch exzessive Dextranspeicherung zur Zellzerstörung [47].

Die Infusion von 20 ml Dextran 10%/40 und ebenso von 20 ml Dextran 6%/70 pro kg KG zeitigte verlängerte Clearancezeiten für radioaktiv markierte Erythrozyten und erhöhte Toxizität durch Salmonellen im Mäusen [9].

Nach Infusion von 500 ml Dextran war in gesunden Patienten die Phagozytose von markiertem, mikroaggregiertem Albumin als Testsubstanz signifikant eingeschränkt [53].

Auf Grundlage dieser Ergebnisse war dementsprechend die Darstellung einer eingeschränkten Phagozytosefunktion nach Dextrangabe zu erwarten.

5.4 Ergebnisse

5.4.1 Nanocoll®-Clearance

Bei der graphischen Auswertung der Clearance des Nanocoll® aus dem Blut zeigte sich in allen Versuchen ein gleichbleibendes, typisches Muster; dieses war charakterisiert durch einen initialen, steilen Abfall, und einen sich anschließenden, sanfter abnehmenden Kurvenverlauf.

Zur mathematischen Analyse des Verlaufes wurde zunächst eine Kurvenanpassung an eine monoexponentielle Funktion durchgeführt. Die Exponentialfunktion als mathematische Beschreibung der Phagozytose im Blut zirkulierender Kolloide durch die Zellen des RES wurde bereits in den 50er Jahren des letzten Jahrhunderts ausführlich dokumentiert [18], und seitdem in einer Vielzahl von Arbeiten aufgegriffen und den Clearanceinterpretationen zu Grunde gelegt. Ausgewertet wird dabei üblicherweise die den exponentiellen Abfall unabhängig von Absolutwerten beschreibende Konstante k (siehe Gleichung 1 in 4.2.1).

Bei den in der vorliegenden Untersuchung erhobenen Werten zeigte sich, dass sie in allen Fällen durch diese von der Literatur tradierte Gleichung nicht mathematisch ausreichend präzise beschrieben werden konnten. In der halblogarithmischen Auftragung ergab sich keine Gerade, wie dies bei einer monoexponentiellen Funktion der Fall hätte sein müssen. Vielmehr imponierte ein deutlich auf zwei Geraden liegender, biphasischer Verlauf, der auf eine binome bzw. biexponentielle Kurvenfunktion hindeutet (siehe beispielhaft Abbildung 32 und Abbildung 33). Der Vollständigkeit halber wurde eine statistische Untersuchung der Ergebnisse der monoexponentiellen Kurvenanpassung mittels ANOVA durchgeführt. In dieser ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

Als Fehlerquellen, die sich in den zu analysierenden Rohdaten niederschlagen könnten, kommen zum einen Ungenauigkeiten bei der zeitlichen Präzision der Blutprobenentnahme in Frage; diese wurden mit größtmöglicher Sorgfalt durchgeführt, Störungen gab es keine. Desweiteren ist der Arbeitsablauf zur Radioaktivitätsbestimmung zu betrachten. Die Proben wurden aus der A. carotis communis gewonnen, einem systemischen Gefäßabschnitt maximaler Repräsentativität in Bezug auf die Durchmischung des Blutes. Das Probenvolumen wurde mit einer Präzisionspipette abgemessen. Quellen systematischer Fehler wurden von vorneherein ausgeschlossen bzw. minimiert: Die Radioaktivität der Proben befand sich durchgehend im mittleren Zählbereich des Meßinstruments, kalibrationstechnisch problematische Randberei-

che kamen nicht zum Einsatz. Der 4π -Effekt betraf alle Proben gleichermaßen und wurde durch das gewählte Probenvolumen minimiert.

Bei der Analyse der Daten auf die Möglichkeit hin, sie durch polynome Funktionen mit unterschiedlicher Anzahl von Einzelfunktionen auszudrücken, zeigte sich, dass die Meßergebnisse durch eine biexponentielle Funktion am besten dargestellt werden konnten: Die Anpassung von zwei Geraden an die Punktemenge gelang graphisch in der halblogarithmischen Darstellung. Eine triexponentielle Funktion konnte aus den erhobenen Meßwerten nicht etabliert werden.

Die biexponentielle Funktion wurde durch Regression und Abschälen der zeitlich länger relevanten Funktion und anschließender Analyse des verbleibenden, initialen Exponentialverlaufes aus den Kurvenverläufen gewonnen unter Verwendung einer „rotierenden iterativen“ Prozedur (RIP, [36]).

Nach den von Dost, von Hattingberg und Brockmeier entwickelten mathematischen Analysen pharmakokinetischer Mehrkompartimenten-Systeme lassen sich aus den primär ermittelten beiden Nomen der biexponentiellen Kurvenfunktion Aussagen über das Gesamtsystem und ein diesem integrales zentrales Kompartiment machen (siehe Seite 36). Die Subtraktion dieser beiden voneinander definiert das periphere Kompartiment. Dabei werden über das Konzept der mittleren Verweildauer (mean transit time oder auch mean residence time, MT) eines Pharmakons in diesen Kompartimenten Aussagen über die relativen Volumina dieser Kompartimente möglich [54, 55].

Bei der statistischen Auswertung der errechneten Parameter ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen für die mittleren Verweildauern des Nanocoll bezogen auf die pharmakokinetischen Ausgangskompartimente 1 und 2 (MT_1/MT_2). Hierbei zeigte sich, dass sich in der Gruppe mit hypoxischer Kreislaufsituation der Quotient der mittleren Verweildauern der Ausgangsfunktion (MT_1/MT_2) gegenüber der Kontrollgruppe vergrößert hatte, während es nach zweitägiger Ancrod-Vorbehandlung vermindert war. Der Quotient hatte sich in der Hypoxie II-Gruppe gegenüber der Ancrod I-Gruppe (8,6:1) sogar verdoppelt auf 15,1:1.

In den Quotienten, welche das Verhältnis der mittleren Verweildauern in einem zentralen und peripheren Kompartiment beschreiben (MT_{vc}/MT_{per} , MT_{per}/MT_{vc} , $\text{Log}(MT_{per}/MT_{vc})$ und MT_{vc}/MT_{vss}) stellte sich dar, dass die Vorbehandlung mit zweitägiger Defibrinierung (Ancrod I) eine deutliche relative Verlängerung der mittleren Verweildauer im zentralen Kompartiment bewirkte, die nach eintägiger Ancroddgabe weniger stark ausgeprägt war. Dextrangabe erzielte diese Wirkung nur ansatzweise, während die Applikation von Hydroxyethylstärke ohne deutliche Wirkung blieb und ein der Kontrollgruppe vergleichbares Ergebnis zeitigte. Der Einfluß einer hypoxischen Situation unter Relaxierungsbedingungen verschob das Verhältnis MT_{vc}/MT_{per} ebenfalls nach zentral, allerdings nur in einem der einfachen Defibrinie-

rung (Ancrod II) entsprechenden Ausmaß. Nach von Hattingberg [37] lassen sich diese Ergebnisse auch auf das Verhältnis der Volumina der Kompartimente übertragen. Demzufolge bewirkten die Defibrinierung und weniger die Hypoxie, kaum bzw. nicht aber die Gabe von kolloidalen Volumenersatzmitteln eine relative Verkleinerung des peripheren Kompartimentes. Dies entspricht den in Kapitel 5.3 wiedergegebenen Erkenntnissen, wonach sowohl der unphysiologische Anfall von Mikropartikeln wie Defibrinierungsprodukten mit konsekutiver Phagozytose und Beladung der retikuloendothelialen Zellen, als auch die hypoxische Dysfunktion des retikuloendothelialen Systems zu einer herabgesetzten Kompetenz in der Klärung weiterer auftretender Substanzen führen kann. Demgegenüber haben die kolloidalen Volumenersatzmittel einen geringeren Einfluß auf die Klärfunktion. Die Applikation von Hydroxyethylstärke 6%/200/0,5 in einer Dosierung von 60 ml pro kg KG konnte im hier verwendeten Modell die oben aufgeführten Untersuchungen insofern reproduzieren, als eine relevante Beeinflussung der quantitativen Klärleistung des RES nicht gefunden wurde. Die Gabe von rund 50 ml einer 6%igen Dextran 60-Lösung pro kg KG ließ, anders als in den oben genannten vorangegangenen Studien, in dieser Untersuchung keinen deutlichen Effekt ermitteln.

Die in dieser Untersuchung deutlich werdende Inkompetenz des tradierten monoexponentiellen Modells, die Ergebnisse mathematisch abzubilden, weist auf die Notwendigkeit weitergehender pharmakokinetischer Überlegungen bei der Analyse von Phagozytoseleistungen hin. Obwohl schon 1970 auf die Mehrphasigkeit RES-bezogener Clearanceverläufe aufmerksam gemacht wurde [2], ist auch im überwiegenden Teil der danach erschienen Literatur eine Reduktion auf monokompartimentelle Betrachtungen festzustellen. Für die Persistenz des monoexponentiellen Modells unter Ignorierung mehrkompartimenteller Erkenntnisse können in den veröffentlichten Untersuchungen verschiedene Ursachen gefunden werden. Zum einen kann die Vernachlässigung der frühen Phase der Konzentrationsabnahmekurven der Marker im Blut zu einem Übersehen früher, rasch abnehmender Verläufe führen, welche in der polynomen Exponentialfunktion als selbständige Kinetik dargestellt werden müssten. Ein Beispiel ist ein Probeentnahmeschema von 2, 30, 60, 90, 120 und 180 Minuten [9]. In anderen Studien fällt die kleine Zahl von Probeentnahmen auf, welche die Analyse eines biphasischen Clearanceverlaufes nicht erlaubt. Zum Beispiel werden nur 5 Probeentnahmen in den ersten 15 Minuten bei 1,5, 3,5, 6,5, 10,5 und 15 Minuten [56, 57] oder vergleichbar 6 Probeentnahmen in 30 Minuten bei 3, 6, 9, 12, 15 und 30 Minuten [51] vorgenommen. Aller-

dings werden auch bei scheinbar ausreichend vielen und engmaschigen Meßpunkten (1, 3, 5, 7, 10, 16, 30, 45 und 60 Minuten) zum Teil nur monoexponentielle Daten ermittelt [58].

Andere Arbeiten führen kompartmentelle Überlegungen an und zeigen in den graphisch aufgeführten Clearancekurven entsprechende, biexponentiell verlaufende Daten, gehen aber nicht näher auf eine mehrkompartimentelle Analyse ein [45].

Zum Teil wird in der Literatur bei offensichtlichem Bewußtsein des mehrphasigen Verlaufes absichtlich nur der initiale, schnelle Konzentrationsabfall in die Analyse der Phagozytosekompetenz einbezogen [59]. Es scheint klärungsbedürftig, wie aussagekräftig beziehungsweise relevant der unter Nichtbeachtung der späteren Clearancephasen aus dem steilen Anfangsverlauf gewonnene monoexponentielle Phagozytoseindex k im Vergleich mit einer bi- oder sogar polykompartimentellen Betrachtung ist.

Bei der biexponentiellen Analyse wird – wie oben beschrieben – eine Übereinstimmung des Verhaltens der rechnerisch ermittelten pharmakokinetischen Konstanten und den pathophysiologischen Mechanismen der RES-Beeinträchtigung augenfällig. Es ist hervorzuheben, dass allein auf dieser Basis keine funktionell-morphologischen Korrelationen angenommen werden können. Die Übertragung der pharmakokinetischen Kompartimente auf etwaige biologische Korrelate ist ohne Vorliegen weitergehender Informationen über das pharmakokinetische Verhalten der Substanz Nanocoll® im physiologischen Zustand nicht ohne Spekulation möglich. Davon unberührt bleibt die Aussagekraft einer unter den kontrollierten Bedingungen des Experiments auftretenden, situationsabhängig differenzierenden, stetigen Veränderung eines Merkmals, wie z.B. des Größenverhältnisses zweier rechnerischer Kompartimente; hier ergab sich diese Veränderung signifikant zum Beispiel im Vergleich der zentralen und peripheren Kompartimentgrößen der Gruppen Ancrod I und HES. Die verwendete Fallzahl wurde auf der Grundlage von statistischen Erkenntnissen in vorhergehenden Untersuchungen dieses Modells gewählt [4, 8, 10, 16, 39, 44]. Da in diesen Untersuchungen signifikante Ergebnisse erzielt worden waren, konnte eine vergleichbare Fallzahl für die vorliegende Untersuchung als geeignet angenommen werden; diese Erwartung wurde nicht erfüllt. Sollten weitergehende Untersuchungen unter Verwendung größerer Fallzahlen oder im Rahmen von Modifikationen des Untersuchungsweges die dargestellten qualitativen Tendenzen weiter pointieren oder sogar auf ein quantitatives Niveau heben können, wäre – auch ohne genaue Kenntnis eines funktionell-morphologischen Korrelats, dessen Komplexität derzeit schwer abzuschätzen ist – ein Schritt hin zur Definition eines globalen Parameters der RES-Funktion getan.

Insgesamt bleibt die im Rahmen dieser Untersuchung trotz aller prozessualen Sorgfalt aufgetretene Streuung der ermittelten Punktwerte diskutabel. Die Wertigkeit der Anpassung einer biexponentiellen Funktion an die Messwerte, sowie die Aussagekraft der sich aus der weitergehenden, komplexen pharmakokinetischen Analyse ergebenden, pathophysiologischen Implikationen müssen in diesem Zusammenhang gesehen werden. Auch hier könnte eine Vergrößerung der Stichprobe hilfreich sein.

5.4.2 Nanocoll®-Verteilung

Zur Ergänzung der Clearanceanalysen wurde in diesem Tiermodell die Betrachtung des Verbleibs der Radioaktivität in den Hauptorganen des retikuloendothelialen Systems abgeschlossen.

Die relative Verteilung der Aktivitätskonzentration (Bequerel pro Gramm Gewebe) zwischen den Organen Leber, Milz, Niere und Lunge als Indiz für den Verbleib des Nanocoll® zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Allerdings ließ sich eine Tendenz zu einem erhöhten Nanocoll®-Verbleib in der Milz im Vergleich mit den Leberwerten unter Hypoxiebedingungen feststellen.

Das Verhältnis der Radioaktivitätswerte der kompletten Organe blieb in den Versuchsgruppen und im Vergleich mit der Kontrollgruppe konstant.

Bei der Analyse der Wiederfindung der applizierten Radioaktivitätsdosis in den kompletten Organen zeigten sich für die Leber signifikante Unterschiede. So lagen die Wiederfindungswerte für die Leber in der HES- und der Hypoxie II-Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe; außerdem ergaben sich signifikant höhere Werte unter Hypoxie II- als unter Dextranbehandlung. Die Erhöhung der Wiederfindung in der Leber bei Hypoxie, unter Beladung mit Fibrinspaltprodukten oder Komplementprodukten ist aus Vorstudien bekannt [39, 16, 10, 44]. Insgesamt ergibt sich hier jedoch ein sehr viel weniger differenziertes Bild.

Die Einheitlichkeit der in den einzelnen Geweben ermittelten Radioaktivität spricht gegen eine durch Meßungenauigkeiten hervorgerufene Entdiskrimination der Werte. Eine zu geringe Beeinflussung der peripheren, gewebsständigen retikuloendothelialen Funktion durch die Behandlungen der Versuchsgruppen ist denkbar. Allerdings führten in früheren Untersuchungen identische Beeinflussungen in dem gleichen wie auch in dieser Untersuchung verwendeten Versuchsmodell zu deutlichen Verteilungsänderungen; sie zeigten, wie oben aufgeführt, zum Beispiell unter Defibrinierung mittels Ancrod und unter Hypoxiebedingungen erhöhte Retentionswerte von *Escherichia coli* in Leber, Milz, Niere und Lunge [16, 10, 44].

Möglicherweise könnte eine Veränderung der applizierten Nanocoll- oder Radioaktivitätsdosis eine Verbesserung der Differenzierung zwischen Kontrollgruppe und Behandlungsgruppen herbeiführen [60]. Des Weiteren gelten auch hier die bereits unter Punkt 5.4.1 gemachten Ausführungen zur Größe der gewählten Stichprobe. Eine Ausweitung der Fallzahl könnte helfen, vorhandene Trends zu pointieren.

Generell augenfällig ist die Dominanz der Leber, die sich in allen drei Analysemodi zeigt: Im Vergleich fand sich pro Gramm Lebergewebe soviel Radioaktivität wie in drei Gramm der anderen Organe zusammen. Erwartungsgemäß brachte die Einbeziehung der Organgewichte eine weitere Verstärkung dieses Primates: Im Vergleich kompletter Organe speicherte die Leber nach 3 Stunden Versuchszeit das 10- bis 100fache der Radioaktivität der anderen Organe; Die Leber nimmt damit rund 90% der in Leber, Milz, Niere und Lunge zusammen gespeicherten Radioaktivität auf, vgl. Abbildung 40. Diese Ergebnisse reflektieren, dass nach Stand der Literatur 90% des retikuloendothelialen Systems von den von Kupfferschen Sternzellen der Leber gebildet werden [2].

Von großem Interesse ist verständlicherweise der Transfer der tierexperimentell gewonnenen Ergebnisse auf den klinisch relevanten Einsatz des Verfahrens im Menschen. Wegen potentieller Risiken können aus ethischen Gründen keine repräsentativen Organgewebeproben nach Nanocoll®-Applikation aus dem Menschen entnommen werden. Aus diesem Grund liegen derzeit keine Erkenntnisse über die Organverteilung des Nanocoll® im Menschen vor, die einen direkten Vergleich mit den in dieser Untersuchung erworbenen erlauben würden. Bekannt sind vielmehr die Organdosen pro applizierter Radioaktivität (in $\mu\text{Gy}/\text{MBq}$), wie sie mehrdimensional-szintigraphisch erhoben werden können [64]. Dagegen macht das in vorliegender Studie vorgestellte Verfahren Aussagen über die Relation der Radioaktivitäten pro Organgewebemasse (in MBq/kg) zwischen den Organen. Es scheint lohnenswert zu untersuchen, inwieweit durch Einbeziehung nuklearmedizinisch-pharmakokinetischer Überlegungen eine direkte Übertragbarkeit erreicht werden kann. Dabei ist es wichtig, die Möglichkeit prinzipiell anderer Raffungscharakteristika für Nanocoll® im Menschen im Vergleich zum Kaninchen zu berücksichtigen. Vor einem klinischen Einsatz sind dementsprechende Untersuchungen durchzuführen.

5.5 Validität des Modells

Abschließend ist die Gültigkeit des verwendeten tierexperimentellen Modells *ex post* zu diskutieren.

Die szintigraphisch ermittelte Verteilung der Radioaktivität in den Organen beschreibt den Verbleib des ^{99m}Tc-Technetiums. Mit diesem Marker wurde vor Versuchsbeginn das Nanocoll® markiert, um nach der Radioaktivitätsmessung in einem zweiten Schritt von der Verteilung des Technetiums auf die Lokalisation und Konzentration der Trägersubstanz Nanocoll® zu schließen. Dabei ist eine Dissoziation des Markerelementes Technetium vom Protein prinzipiell vorstellbar. Gommans et al zeigten 2001, dass Nanocoll, welches unter Stickstoffschutz mit einer Radioaktivität von 2,5 MBq/μg ^{99m}Tc-markiert wurde, nach 24 Stunden erst zu 2,1% die Markierung verloren hat [67]. Die Dissoziation korrelierte dabei mit der Konzentration der Markierung. Entsprechend diesen Ergebnissen ist zu erwarten, dass die Dissoziation in der hier dargestellten Untersuchung, in welcher Konzentrationen von ca. 0,1 MBq/μg Nanocolloid eingesetzt wurden, noch geringer ausgefallen ist. Gleichzeitig verzerrt die Protein-Marker-Dissoziation das Monitoring der Nanocoll®-Elimination aus dem Blut und seiner Verteilung in den Organen gleichermaßen. Es handelt sich also um einen systematischen Fehler, der in zukünftigen Untersuchungen durch entsprechende Verfahren kontrolliert werden sollte. Wünschenswert wäre auch eine Analyse des Dissoziationsgrades und seiner Determinanten, insbesondere im Vergleich zwischen dem Verhalten im Versuchstier und im Menschen.

Die Validität des Modells muß auch im Hinblick auf den Anteil applizierten Radioaktivität, der in die auswertenden Berechnungen eingeht, diskutiert werden. Um diesen beurteilen zu können, wurden die insgesamt wiedergefundene Radioaktivität und ihr Anteil am initial verabreichten Bolus berechnet. Die bei Versuchsende noch blutständige Radioaktivität und die in den Organen Leber, Milz, Niere und Lunge wiedergefundene wurden mit der zu Versuchsbeginn applizierten Radioaktivität in Beziehung gesetzt; es zeigte sich, dass im Rahmen der in dieser Versuchsreihe vorgenommenen Untersuchungen durchschnittlich rund 62% der ursprünglich applizierten Radioaktivität Berücksichtigung fanden. Bezogen auf die Ausschöpfung durch die vier Zielorgane war diese Wiederfindung so konstant feststellbar, dass auch die einzelnen Behandlungsgruppen hierin nicht signifikant differierten. Der Verbleib der restlichen, durchschnittlich 38 Prozent applizierter Radioaktivität konnte im Rahmen des verwendeten Modells nicht geklärt werden. Die Interpretation der Nanocoll®-Elimination aus

dem Blut wird hierdurch nicht beeinflusst. Das Ergebnis ist jedoch für die Betrachtung der Organverteilungen insofern von Relevanz, als es die Möglichkeit eröffnet, dass die Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen potentiell nicht nur durch deren verschiedene Behandlungsregimes, sondern außerdem durch weitere, unbekannte Variablen beeinflusst worden sein könnten. In zukünftigen Studien ist diesem Umstand durch die Nachverfolgung der Radioaktivität in den übrigen Körpergeweben sowie im Urin Rechnung zu tragen.

5.6 Ausblick

Die in dieser Untersuchung gewonnenen Resultate bringen die Notwendigkeit weiterer Studien auf. Nanocoll® stellt sich als vielfach eingesetzte Substanz mit vorteilhaftem Nebenwirkungsprofil und erheblichem Potential in der RES-Untersuchung dar, das weitergehend auszunutzen lohnenswert erscheint.

Es steht zu untersuchen, inwieweit sich die Aussagekraft des Versuchskonzeptes und die Differenzierungsfähigkeit zwischen verschiedenen Beeinflussungen des RES verbessern läßt. Hierbei ist an die Optimierung des Nanocoll®-Bolus in Hinblick auf Menge (Masse) und Stärke der radioaktiven Markierung zu denken [60, 35]. Unter dem Eindruck der erfolgten bikompartimentellen Analyse liegt eine Optimierung der Zeitpunkte der Probeentnahme in Hinblick auf die präzisere Anpassung einer bi- oder polyexponentiellen Funktion nahe. Interessant erscheint auch die Optimierung der Substanz Nanocoll® unter den molekularphysikalischen Aspekten der mittleren Partikelgröße und der Größenstreuung.

5.7 Fazit

Das „Meßinstrument“ Nanocoll® ermöglichte in der vorliegenden Untersuchung eine mit den in der Literatur vorhandenen Ergebnissen konforme Differenzierung der Einschränkung der retikuloendothelialen Klärfunktion durch verschiedene Faktoren wie die Gabe von kolloidalen Volumenersatzmitteln, die hypoxische Situation und die Defibrinierung. Dabei erbrachten starke Beeinflussungen, wie hier durch Defibrinierung an zwei Zeitpunkten ähnlich der Erzeugung des Sanarelli-Shwartzman-Phänomens vorgenommen, signifikante Änderungen der gemessenen pharmakokinetischen Parameter. Eine hypoxische Beeinflussung erbrachte keine signifikant-quantitativen, jedoch erkennbare qualitative Unterschiede. Unspezifisch im Hinblick auf die vorliegende Beeinflussung blieben die Ergebnisse der Bestimmung des Nanocoll®-verbleibs in den Organen. Die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen bedarf auf Grund physiologischer Unterschiede zum Tier und vorhandener ethischer Einschränkungen einer weitergehenden pharmakokinetischen Analyse.

6 Zusammenfassung

Funktionsstörungen der unspezifischen Immunabwehr gehen mit einer unzureichenden Eliminierung von Fremdpartikeln und körpereigenen Proteinen einher. In der Folge dieses Klärversagens können die Substanzen eine systemische Entzündungsreaktion (SIRS, systemic inflammatory response syndrome) hervorrufen oder verstärken. Damit spielt das Klärversagen eine ursächliche Rolle in der Krankheitsentwicklung bei Sepsis-, Trauma- und Schockpatienten. Dementsprechend wichtig und von klinischer wie theoretischer Relevanz ist die Kenntnis der funktionalen Kompetenz des phagozytierenden Systems. Unter der Vielzahl von Untersuchungsansätzen hat sich jedoch bis heute noch kein Verfahren im Routinegebrauch etablieren können.

Nanocoll® ist ein humanes, ^{99m}Tc-markiertes Albuminderivat, welches seine Einsetzbarkeit im Menschen unter anderem zur Lymphabstromszintigraphie bereits in breiter klinischer Anwendung bewiesen hat und eine geringe Strahlenbelastung mit guter Handhabbarkeit verbindet.

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, inwieweit es möglich ist, mittels Nanocoll® die Phagozytosefunktion des retikuloendothelialen Systems (RES) zu quantifizieren. Dazu wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Funktionseinschränkung des RES sich in einer verminderen Elimination des Nanocoll® ausdrückt. Zur Untersuchung dessen wurde in einem standardisierten Kaninchenmodell der Organismus definierten Beeinflussungen durch respiratorische Hypoxie und Partikelbelastung mittels Defibrinierung durch Ancrod und mittels der kolloidalen Volumenersatzmittel Hydroxyethylstärke und Dextran ausgesetzt. Nach einer steady state-Phase erfolgte die Applikation der Testsubstanz, deren Blutspiegel durch Radioaktivitätsmessungen in nach 2, 6, 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120 und 180 Minuten vorgenommenen Probeentnahmen bestimmt wurde. Nach 180 Minuten Versuchsdauer wurden die Tiere getötet und aus Leber, Milz, Niere und Lunge Gewebeproben gewonnen, die ebenfalls szintigraphisch auf die Menge enthaltener Radioaktivität untersucht wurden.

Da die Berechnung eines Phagozytoseindex k aus einer monoexponentiellen Kurvenanpassung, wie in der Literatur vorbeschrieben, nicht mathematisch ausreichend präzise möglich war, wurde die Anpassung einer biexponentiellen Funktion unternommen. Zu den mittels pharmakokinetischer Berechnungen gewonnenen Aussagen gehören die vorbeschriebenen Resultate einer Einschränkung der Eliminationskompetenz durch Blockierung der Zellen des RES nach unphysiologischem Anfall von Defibrinierungsprodukten sowie bei hypoxischer Dysfunktion. Die aufgestellten Hypothesen einer verlangsamtan Nanocoll®-Elimination aus dem Blut und

einer geringeren Wiederfindung der Substanz in den RES-Organen Leber, Milz, Niere und Lunge unter RES-Kompromittierung wurde nur in Ansätzen bestätigt.

Bei der Untersuchung des Nanocollverbleibs in Leber, Milz, Niere und Lunge zeigte sich eine erhöhte hepatische Wiederfindungsrate der Substanz unter Hypoxie und nach HES-Gabe im Gegensatz zur Kontrollgruppe.

Nanocoll® erweist sich in dem dieser Studie zu Grunde liegenden Setting als eingeschränkt kompetent, Unterschiede in der Reaktion der RES-Funktionalität auf verschiedene Beeinflussungen, wie Hypoxie und RES-Beladung, darzustellen; die Hypothese konnte nur eingeschränkt bestätigt werden. Zur Bestätigung der hier gefundenen Tendenzen wären Studien mit höherer Fallzahl vonnöten.

Weitere Studien sind erforderlich, um zu überprüfen, auf welchem Wege die Aussagekraft einer RES-Untersuchung mittels Nanocoll® hin zu einer höheren Sensitivität und Differenzierungsfähigkeit zwischen verschiedenen Einflüssen verbessert werden kann. Ansatzpunkte hierfür sind die Modifikation der Testdosis und des Versuchsablaufes zugunsten einer höheren Sensitivität gegenüber bi- und polyexponentiellen Clearancekinetiken. Desweiteren ist die Frage einer Optimierung des Nanocoll® im Hinblick auf die Differenzierung nach Molekulargewichten und Molekulargewichtstreuung interessant.

Dies erscheint insbesondere lohnend und demzufolgend impulsgebend für die Pharmaforschung, da sich das Präparat in dieser wichtigen Anwendung mit minimaler Strahlenbelastung als besonders geeignet für schonende Untersuchungen im schwerkranken Patientengut darstellt.

Voraussetzung für eine klinische Anwendung des Verfahrens sind weitere Analysen der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen.

7 Abkürzungen

AP	Arterieller Mitteldruck
Bq	Bequerel
Cr	Chrom
EC	Escherichia coli
HES	Hydroxyethylstärke
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LSD	Least Square Difference, post hoc-Test der Varianzanalyse
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule, entsprechend Torr
MT _{per}	Mittlere Verweildauer im peripheren Kompartiment
MT _{vc}	Mittlere Verweildauer im zentralen Kompartiment
MT _{vss}	Mittlere Verweildauer im Gesamtsystem untere steady state-Bedingungen
NaCl	Natriumchlorid
pCO ₂	Kohlendioxid-Partialdruck
pO ₂	Sauerstoff-Partialdruck
RES	Retikuloendotheliales System
Tc	Technetium

8 Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildungen

Abbildung 1: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes in der Kontrollgruppe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM, n=6 zu allen Zeitpunkten.....	17
Abbildung 2: Verhalten des pH in der Kontrollgruppe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM, n=6 zu allen Zeitpunkten.....	18
Abbildung 3: Verhalten des arteriellen pCO ₂ in der Kontrollgruppe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Zeitpunkten	18
Abbildung 4: Verhalten des arteriellen pO ₂ in der Kontrollgruppe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Zeitpunkten	19
Abbildung 5: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes in der nicht relaxierten Hypoxiegruppe (Hypoxie I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=9; 9; 9; 9; 9; 9; 8; 7; 5; 2.....	19
Abbildung 6: Verhalten des arteriellen pH in der nicht relaxierten Hypoxiegruppe (Hypoxie I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=9; 9; 9; 9; 9; 9; 8; 7; 5; 2.....	20
Abbildung 7: Verhalten des arteriellen pCO ₂ in der nicht relaxierten Hypoxiegruppe (Hypoxie I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=9; 9; 9; 9; 9; 9; 8; 7; 5; 2.....	20
Abbildung 8: Verhalten des arteriellen pO ₂ in der nicht relaxierten Hypoxiegruppe (Hypoxie I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=9; 9; 9; 9; 9; 9; 8; 7; 5; 2.....	21
Abbildung 9: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes nach zweimaliger Ancrodgabe (Ancrod I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten	21
Abbildung 10: Verhalten des arteriellen pH nach zweimaliger Ancrodgabe (Ancrod I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten	22
Abbildung 11: Verhalten des arteriellen pCO ₂ nach zweimaliger Ancrodgabe (Ancrod I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten	22
Abbildung 12: Verhalten des arteriellen pO ₂ nach zweimaliger Ancrodgabe (Ancrod I); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten	23
Abbildung 13: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes nach einmaliger Ancrodgabe (Ancrod II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten.....	23
Abbildung 14: Verhalten des arteriellen pH nach einmaliger Ancrodgabe (Ancrod II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten	24
Abbildung 15: Verhalten des arteriellen pCO ₂ nach einmaliger Ancrodgabe (Ancrod II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten	24

Abbildung 16: Verhalten des arteriellen pO_2 nach einmaliger Ancrodgabe (Ancrod II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten	25
Abbildung 17: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes nach Dextrangabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten.....	25
Abbildung 18: Verhalten des arteriellen pH nach Dextrangabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten.....	26
Abbildung 19: Verhalten des arteriellen pCO_2 nach Dextrangabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten	26
Abbildung 20: Verhalten des arteriellen pO_2 nach Dextrangabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten.....	27
Abbildung 21: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes nach HES-Gabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten.....	27
Abbildung 22: Verhalten des arteriellen pH nach HES-Gabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten.....	28
Abbildung 23: Verhalten des arteriellen pCO_2 nach HES-Gabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten.....	28
Abbildung 24: Verhalten des arteriellen pO_2 nach HES-Gabe; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=6 zu allen Messzeitpunkten.....	29
Abbildung 25: Verhalten des arteriellen Mitteldruckes bei Hypoxie und Relaxierung (Hypoxie II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten	29
Abbildung 26: Verhalten des arteriellen pH bei Hypoxie und Relaxierung (Hypoxie II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten	30
Abbildung 27: Arterieller pCO_2 bei Hypoxie und Relaxierung (Hypoxie II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten.....	30
Abbildung 28: Verhalten des arteriellen pO_2 bei Hypoxie und Relaxierung (Hypoxie II); dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM; n=7 zu allen Messzeitpunkten	31
Abbildung 29: Verhalten des monomen Kurvenkoeffizienten k in den Versuchsgruppen; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM	32
Abbildung 30: Kurvenanpassung an $C = C_a e^{(k \cdot t)}$	33
Abbildung 31: Blockdiagramm der Kompartimente	34
Abbildung 32: Halblogarithmische Clearancedarstellung für Versuch 37 (Kontrolle). Es wird deutlich, dass die Punkte nicht durch eine einzelne Gerade erfaßt werden können.	35

Abbildung 33: Halblogarithmische Clearance-Darstellung für Versuch 44 (Hypoxie II). Auch hier wird deutlich, dass die Clearancewerte nicht durch eine monoexponentielle Funktion dargestellt werden können.....	35
Abbildung 34: Verhalten des logarithmierten Quotienten MT_1/MT_2 in den Versuchsgruppen; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM	38
Abbildung 35: Verhalten des Quotienten MT_{vc}/MT_{per} in den Versuchsgruppen; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM	38
Abbildung 36: Verhalten des Quotienten MT_{per}/MT_{vc} in den Versuchsgruppen; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM	39
Abbildung 37: Verhalten des logarithmierten Quotienten MT_{per}/MT_{vc} in den Versuchsgruppen; dargestellt sind Mittelwerte \pm SEM	39
Abbildung 38: Verhalten des logarithmierten Quotienten MT_{vc}/MT_{vss} in den Versuchsgruppen; dargestellt sind die Mittelwerte \pm SEM	40
Abbildung 39: Verhältnis der Aktivitätskonzentration in den Funktionsgeweben zum Zeitpunkt des Kreislaufstillstandes nach 180 Minuten Versuchszeit, ermittelt aus den Werten in Bequerel pro Gramm Gewebe	43
Abbildung 40: Verhältnis der Radioaktivität der kompletten Organe in den Versuchsgruppen	45

Tabellen

Tabelle 1: Vorkommen und Typen von Makrophagen	2
Tabelle 2: Arterieller Mitteldruck [mmHg] (MW \pm SEM)	15
Tabelle 3: Arterieller pH (MW \pm SEM).....	16
Tabelle 4: Arterieller pCO ₂ [mmHg],(MW \pm SEM)	16
Tabelle 5: Arterieller pO ₂ [mmHg] (MW \pm SEM).....	17
Tabelle 6: Koeffizient k; aufgeführt sind Mittelwerte \pm SEM.....	32
Tabelle 7: Mittelwerte \pm SEM der biexponentiellen pharmakokinetischen Auswertung	40
Tabelle 8: Ergebnisse der ANOVA und post hoc-Tests der pharmakokinetischen Parameter; dargestellt sind die Irrtumswahrscheinlichkeiten (p). Signifikante Werte (p<0,05) sind markiert (*).....	41
Tabelle 9: Aktivitätskonzentration in den Organen [Bq / Gramm Gewebe] (MW \pm SEM)	43
Tabelle 10: Verhältnis der Radioaktivitätskonzentration der Organe.....	43
Tabelle 11: Radioaktivitäten der kompletten Organe [Bq] (MW \pm SEM).....	44

Tabelle 12: Verhältnis der Radioaktivitätswerte der kompletten Organe in den Versuchsgruppen	44
Tabelle 13: Wiedergefundener Anteil der applizierten Radioaktivitätsdosis in den kompletten Organen (MW±SEM), 1 = 100%	46
Tabelle 14: Wiedergefundener Anteil der applizierten Radioaktivitätsdosis in den kompletten Organen (MW±SEM): Vergleich je eines Organes zwischen den Versuchsgruppen mittels ANOVA. Irrtumswahrscheinlichkeit p; signifikante Ergebnisse sind markiert (*)	46
Tabelle 15: Irrtumswahrscheinlichkeit p im post hoc-Test LSD der Wiederfindungsunterschiede in der Leber; signifikante Ergebnisse sind markiert (*)....	46
Tabelle 16: Anteil der in Blut und Organen wiedergefundene Radioaktivität an der applizierten Radioaktivität (1 = 100%)	47

9 Literatur

1. Baas J, Senninger N, Elser H: Das retikuloendotheliale System. Eine Übersicht über Funktion, Pathologie und neuere Meßmethoden. *Z Gastroenterol* 1994; 32: 117-123.
2. Saba TM: Physiology and physiopathology of the reticuloendothelial system. *Arch Intern Med* 1970; 126: 1031-52.
3. Haglind E, Wang D, Klein AS: Hepatic reticuloendothelial system dysfunction after intestinal ischemia-reperfusion. *Shock* 1996; 5: 72-75.
4. Koch T, Heller S, van Ackern K, Schiefer HG, Neuhof H: Impairment of bacterial clearance induced by norepinephrine infusion in rabbits. *Intensive Care Med* 1996; 22: 637-43.
5. Buffone V, Meakins JL, Christou NV: Neutrophil function in surgical patients: relationship to adequate bacterial defenses. *Arch Surg* 1984; 119: 39-43.
6. Lemperle G, Reichelt M: Depression and stimulation of host defense mechanisms after severe burn injury. *Plast Reconstr Surg* 1970; 45: 435.
7. Kelbel I, Koch T, Weber A, Schiefer HG, van Ackern K, Neuhof H: Alterations of bacterial clearance induced by propofol. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999; 43: 71-76.
8. Kelbel I, Koch T, Prechtel A, et al: Effects of parenteral application of fish oil versus soy oil emulsions on bacterial clearance functions. *Infusionstherapie* 1999; 26: 226-232.
9. Schildt B, Bouveng R, Sollenberg M: Plasma substitute induced impairment of the reticuloendothelial system function. *Acta Chir Scand* 1975; 141: 7-13.
10. Koch T, Anuss C, Schiefer HG, van Ackern K, Neuhof H: Impaired bacterial clearance after activation of the complement and coagulation systems. *Shock* 1997; 7: 42-8.
11. Herschlein HJ, Steichele DF: On the clinical picture and therapy of bacterial shock and the generalized Sanarelli-Shwartzman phenomenon. *Zentralbl Gynäkol* 1968; 90: 696-702.
12. Josso F, Dosne AM: Les Syndromes de défibrination expérimentaux. *Nouv Rev Fr Hématol* 1968; 8: 35-44.
13. DeNardo SJ, Bell GB, DeNardo GL, Carretta RF, Scheibe PO, Imperato TJ, Jackson PE: Diagnosis of cirrhosis and hepatitis by quantitative hepatic and other reticuloendothelial clearance rates. *J Nucl Med* 1976; 17: 449-459.

14. Katz S, Yang R, Rodefeld MJ, Folkening WJ, Grosfeld JL: Impaired hepatic bacterial clearance is reversed by surgical relief of obstructive jaundice. *J Pediatr Surg* 1991; 26: 401-406.
15. Holmberg JT, Bergquist B, Hultenberg B, Haegerstrand I, Ihse I, Rydaen S: Radiolabelled colloid uptake distribution and pulmonary contents and localization of lysosomal enzymes in cholestatic rats. *Scand J gastroent* 1986; 21: 291-9.
16. Koch T, Duncker HP, Axt R, Schiefer GH, Van Ackern K, Neuhof H: Effects of hemorrhage, hypoxia, and intravascular coagulation on bacterial clearance and translocation. *Crit Care Med* 1993; 21: 1758-1764.
17. Benacerraf B, Biozzi G, Halpern BN, Stiffel C: Physiology of phagocytosis of particles by the RES. In: Halpern DN, ed. *Physiopathology of the Reticuloendothelial System*. Springfield IL: CC Thomas. 1957: 52-79.
18. Biozzi G, Howard JG, Halpern BN, Stiffel C, Mouton D: The kinetics of blood clearance of isotopically labelled salmonella enteritidis by the reticulo-endothelial system in mice. *Immunology* 1960; 3: 74-89.
19. Schildt BE: Disappearance of i.v. injected ⁵¹Cr-RBC from circulation as a possible measure of RES function in mice. *Acta Chir Scand* 1970;136: 351-7.
20. Lemperle G, Reichelt M: Der Lipofundin-Clearance-Test. Ein Maß für die Phagozytoseaktivität des reticuloendothelialen Systems. *Med Klein*: 1973; 68: 48.
21. Katz S, Plaisier BR, Folkening J, Grosfeld JL: Intralipid adversely affects reticuloendothelial bacterial clearance. *J Pediatr Surg* 1991; 26: 921-4.
22. Bradfield JWB, Wagner HN: The relative importance of blood flow and liver phagocytic function in the distribution of technetium-99m sulfur colloid. *J Nucl Med* 1977; 18: 620.
23. George EA, Hendershott LR, Klos DJ, et al: Mechanism of hepatic extraction of gelatinized 99m-technetium sulfur colloid. *Eur J Nucl Med* 1980; 5: 241-245.
24. Goto R, Kubo H, Okada S: Effect of reticuloendothelial blockade on tissue distribution of ^{99m}Tc-labeled synthetic liposomes in Ehrlich solid tumor-bearing mice. *Chem Pharm Bull Tokyo* 1991; 39: 230-2.
25. Sato MK, Rodrigues AJ, Camargo EE: Labeling of Salmonella typhimurium with iodine-131 to study phagocytic function in rats. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1989; 31: 135-8.
26. Kaklamani E, Karalis D, Koumandaki Y, Kaklamanis P, Katsouyanni E, Tzanetea R, Blackwell CC, Sparos L, Weir DM, Trichopoulos D: The effect of Mycoplasma arthritis

- infection on the kinetics of colloidal carbon clearance in mice. *FEMS Immunology and medical microbiology* 1993; 6: 299-306.
27. Gerdtz B, Creutzig H: Zur Bestimmung der Leberdurchblutung mit Radionukliden. I. Beeinflussung der ^{99m}Tc-MMS-Anreicherung in der Leber durch Pharmaka. *Nucl Med* 1985; 24: 169-72.
 28. Iba T, Kidokoro A, Yagi Y, Sumi Y, Horiuchi H, Ishi K: Reliability of the lipid emulsion test for reticuloendothelial system. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1989; 86: 1455-9.
 29. Frühling, J: Die Lymphoszintigraphie: Methode und klinische Bedeutung. Broschüre ohne Jahresangabe, Nuclear GmbH Grenzach-Wyhlen.
 30. Gericke M, Eckart L: Sequenzszintigraphie mit Tc^{99m}-Nanokolloiden und Tc^{99m}-Diphosphonaten in der Diagnostik gelockerter Hüftgelenks-Totalendoprothesen. *Orthopädische Praxis* 1991; 27: 131-135.
 31. Heinemann K, Otto HJ: Nanocoll Lymphabstromszintigraphie. Broschüre ohne Jahresangabe, Sorin Biomedica.
 32. N.N.. Nanocoll Gebrauchsinformation. Amersham Sorin Srl, Italien. 1998
 33. Holmberg SB, Forssell-Aronsson E, Gretarsdottir J, Jacobsson L, Rippe B, Haferstrom L: Vascular clearance by the reticuloendothelial system-measurements using two different-sized albumin colloids. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50: 865-71.
 34. Svensson G, Friman S, Jacobsson L, Holmberg SB: Hepatocyte and Kupffer cell function after liver transplantation in the rat – in vivo evaluation with dynamic scintigraphy. *Liver* 1995; 15: 189-195.
 35. Holmberg SB, Hafström Lo, Jacobsson L: Phagocytosis and dynamic RES scintigraphy, an evaluation of commercial colloids in rat. *Nucl Med Comm* 1987; 8: 335-46.
 36. von Hattingberg HM, Brockmeier D, Kreuter G: A rotating iterative procedure (RIP) for estimating hybrid constants in multi-compartment analysis on desk computers. *Eur J Clin Pharmacol* 1977; 11: 381-8.
 37. Gladtko E, von Hattingberg HM: Pharmakokinetik. Berlin, Heidelberg, New York. 2. Auflage 1977.
 38. Lenz G, Hempel V, Junger H, Werle H, Buckenmaier P: Auswirkungen von Hydroxyäthylstärke, Oxypolygelatine und Humanalbumin auf die Phagozytosefunktion des Reticuloendothelialen Systems (RES) gesunder Probanden. *Anaesthesist* 1986; 35: 423-8.

39. Koch T, Duncker HP, Axt R, Schiefer GH, Van Ackern K, Neuhof H: Alterations of bacterial clearance induced by endotoxin and tumor necrosis factor. *Infection and immunity* 1993; 8: 3143-3148.
40. Gaffin SL, Brock-Utne JG, Zanotti A, Wells MT: Hypoxia-induced endotoxemia in primates: role of reticuloendothelial system function and anti-lipopolysaccharide plasma. *Aviat Space Environ Med* 1986; 57: 1044-9.
41. Knoferl MW, Jarrar D, Schwacha MG, Angele MK, Cioffi WG, Bland KI, Chaudry ICH: Severe hypoxemia in the absence of blood loss causes a gender dimorphic immune response. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 279: C2004-10.
42. Barnhart MI, Cress DC: Plasma clearance of products of fibrinolysis. *Adv Exp Med Biol* 1967; 1: 492-502.
43. Lee L, Prose P, Cohen M: The role of the reticuloendothelial system in diffuse, low grade intravascular coagulation. *Thromb Diath Haemorrh* 1966; 20Suppl: 87.
44. Koch T, Duncker HP, Annuss C et al: Impaired bacterial clearance after activation of the complement and coagulation system. *Brit J Anaesth* 1995; 74Suppl: 115-115.
45. Ahlgren T, Berghem L, Lagergren H, Lahnborg G, Schildt B: Phagocytic and catabolic function of the reticuloendothelial system in dogs subjected to defibrinogenation. *Thromb Res Suppl* 1976; 8: 819-28.
46. Barcelli U, Rademacher PR, Ooi BS, Pollak VE: Defibrination with anocrod: effect on reticuloendothelial clearance of circulating immune complexes. *Nephron* 1982; 30: 314-7.
47. Paulini K, Sonntag W: Veränderungen des RHS der Ratte nach parenteraler Gabe von Dextran (MW 40 000) und Hydroxyäthylstärke (MW 40 000). *Chemische, licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen. Infusionstherapie* 1976; 3: 291.
48. Jaeger K, Jättner B, Heine J, Ruschulte H, Scheinichen D, Piepenbrock S: Effects of Hydroxyethyl Starch and Modified Fluid Gelatine on Phagocytic Activity of Human Neutrophils and Monocytes – Results of a Randomized, Prospective Clinical Study. *Infusion Therapy and Transfusion Medicine* 2000; 27: 256-60.
49. Lackner FX, Graninger W, Ilias W, Panzer S, Schulz E: Präoperative Eigenblutspende, der Einfluß von Hydroxyäthylstärke auf Retikuloendothelialsystem und Opsonine. *Infusionstherapie* 1990; 17: 276-9.
50. Shatney CH, Chaudry ICH: Hydroxyethylstarch administration does not depress reticuloendothelial function or increase mortality from sepsis. *Circ Shock* 1984; 13: 21-3.

51. White KL, Krasula RW, Munson AE, Holsapple MP: Effects of hydroxyethyl starch (Hespan), a plasma expander, on the functional activity of the reticuloendothelial system: Comparison with human serum albumin and pyran copolymer. *Drug Chem Toxicol* 1986; 9: 305-22.
52. Ginz GJ, Gottschall V, Schwarzkopf G, Walter K: Excessive tissue storage of colloids in the reticuloendothelial system. *Anästhesist* 1998; 47: 330-4.
53. Lahnborg F, Berghem L, Jahrstrand C: Effect of Dextran infusion on the phagocytic and metabolic functions of the reticulo endothelial system in man. *Acta Chir Scand* 1979; 489Suppl: 271-7.
54. Brockmeier D: Mean time concept and component analysis in pharmacokinetics. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1999; 37: 555-61.
55. Brockmeier D, von Hattingberg HM: Mean residence time. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1986; 8: 309-12.
56. Van Rijen EA, Ward JJ, Little RA: Phagocytic reticuloendothelial function after hemorrhage and resuscitation: modulation by different fluids. *Shock* 1997; 8: 219-24.
57. van Rijen EA, Ward JJ, Parry E, Little RA: Reticuloendothelial function after hemorrhage and hypothermia. *Shock* 1997; 7: 300-3.
58. Bottalico LA, Betensky HAT, Min YB, Weinstock SB: Perfluorochemical emulsions decrease Kupffer cell phagocytosis. *Hepatology* 1991; 14: 169-74.
59. Aldridge MC, Chadwick SJ, Cheslyn-Curtis S, Rapson N, Dudley HA: Antibody to endotoxin core glycolipid reverses reticuloendothelial system depression in an animal model of severe sepsis and surgical injury. *J Trauma* 1987; 27: 1166-72.
60. Bergqvist L, Sundberg R, Ryden S, Strand SE: The 'critical dose' in studies of the reticuloendothelial function. *J Nucl Med* 1987; 28: 1424-9.
61. Zellweger R, Ayala A, DeMaso CM, Chaudry ICH: Trauma-hemorrhage causes prolonged depression in cellular immunity. *Shock* 1995; 4: 149-53.
62. Sherman DG, Atkinson RP, Chippendale T, Levin KA, Ng K, Futrell N, Hsu CY, Levy DE: Intravenous ancrod for treatment of acute ischemic stroke: the STAT study: a randomized controlled trial. *Stroke Treatment with Ancrod Trial. JAMA* 2000; 283: 2395-403.
63. Ertel W, Morrison MH, Ayala A, Chaudry ICH: Hypoxemia in the absence of blood loss or significant hypotension causes inflammatory cytokine release. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 1995; 269: R160-6.

64. Committee for Proprietary Medicinal Products – Ad Hoc Group on Radiopharmaceuticals der Kommission der Europäischen Gemeinschaften: Draft standardized summary of product characteristics. III/3191/93-EN 1994. Bei Amersham Buchler GmbH & Co. KG, Braunschweig.
65. Reitsamer R, Peintinger F, Prokop E, Rettenbacher L, Menzel C: 200 Sentinel lymph node biopsies without axillary lymph node dissection -- no axillary recurrences after a 3-year follow-up. *Br J Cancer* 2004; 90: 1551-4.
66. Estourgie SH, Nieweg OE, Valdes Olmos RA, Hoefnagel CA, Kroon BB: Review and evaluation of sentinel node procedures in 250 melanoma patients with a median follow-up of 6 years. *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 681-8.
67. Gommans GM, van Dongen A, van der Schors TG, Gommans E, Visser JF, Clarijs WW, de Waard JW, van de Bos J, Boer RO: Further optimisation of 99mTc-Nanocoll sentinel node localisation in carcinoma of the breast by improved labelling. *Eur J Nucl Med* 2001; 28: 1450-5.
68. Venneti S, Lopresti BJ, Wang G, Bissel SJ, Mathis CA, Meltzer CC, Boada F, Capuano S, 3rd, Kress GJ, Davis DK, Ruszkiewicz J, Reynolds IJ, Murphey-Corb M, Trichel AM, Wisniewski SR, Wiley CA: PET imaging of brain macrophages using the peripheral benzodiazepine receptor in a macaque model of neuroAIDS. *J Clin Invest* 2004; 113: 981-9.
69. Tanimoto A, Yuasa Y, Shinmoto H, Jinzaki M, Imai Y, Okuda S, Kuribayashi S: Superparamagnetic iron oxide-mediated hepatic signal intensity change in patients with and without cirrhosis: pulse sequence effects and Kupffer cell function. *Radiology* 2002; 222: 661-6.
70. Baccan GC, Oliveira RD, Mantovani B: Stress and immunological phagocytosis: possible nongenomic action of corticosterone. *Life Sci* 2004; 75: 1357-68.

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Claudius Kruse
Geburtsdatum	12.08.1972
Geburtsort	Bielefeld
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	verheiratet mit Astrid Kruse M.A., geb. Gottowik
Eltern	Prof. Dr. Dieter Kruse, Dipl.-Verwaltungsw.'in Doris Kruse, geb. Meier
Konfession	neuapostolisch

Schulausbildung

1979-1983	Buschkamp-Grundschule Bielefeld
1983-1992	Ratsgymnasium Bielefeld
19.06.1992	Abitur

Zivildienst

1992-1993	Franziskus-Hospital Bielefeld, Krankenpflegedienst
-----------	--

Berufsausbildung

1993-1999	Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität, Gießen, darin
1999-2000	Praktisches Jahr im Uniklinikum Münster
12.04.2000	Drittes Staatsexamen
01.05.2000	Arzt im Praktikum in der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin des Uniklinikums Münster (Direktor: Univ.-Prof. Dr. H. Van Aken)
seit 11.2001	Assistenzarzt in Weiterbildung und wissenschaftlicher Mitarbeiter der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin des Uniklinikums Münster (Direktor: Univ.-Prof. Dr. H. Van Aken)

11 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Heinz Neuhof für die Überlassung des Dissertationsthemas, die mir gegebene Möglichkeit zum experimentellen und wissenschaftlichen Arbeiten an diesem wichtigen Thema und die jederzeit freundliche und persönliche Unterstützung hierbei.

Herrn Prof. Dr. Dr. Richard Bauer, Frau Dr. Gallhofer, Herrn Dr. Maximilian Puille und Herrn Dr. rer. nat. Gerd-Ludwig Fängewisch aus der Klinik für Nuklearmedizin des Universitätsklinikums Giessen danke ich für die Unterstützung in Rat und Tat bei der theoretischen und praktischen Begleitung der Arbeit und durch die Möglichkeit, die Ressourcen der Klinik zu nutzen.

Herrn Prof. Dr. H. M. von Hattingberg danke ich für die ausführlichen Erläuterungen zum Thema Pharmakokinetik und seine Hilfe bei den erforderlichen Analysen.

Im Labor der Abteilung für Klinische Pathophysiologie und experimentelle Medizin der Medizinischen Klinik der Justus-Liebig-Universität Gießen wurde ich von Antje Weber, Harry Michnacs und Tizzy Wieth dankenswerter Weise jederzeit tatkräftig und engagiert unterstützt.

Meiner Frau Astrid und meinen Eltern danke ich für die unermüdliche Ermunterung und ausdauernde Geduld in der Begleitung dieser Arbeit.