

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Heinrich Heine Universität Düsseldorf
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. B. Pannen

**Vergleich von Indikatorverteilungs- und Transitzeitverfahren zur
Blutvolumenbestimmung.**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der medizinischen Fakultät der Heinrich Heine Universität Düsseldorf
vorgelegt von
Martina Emma Hanni Schüürmann
2009

Als Inauguraldissertation gedruckt
mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez:

Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Dekan

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Olaf Picker
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Axel Gödecke

Liste der Abkürzungen

| | |
|-----------------------------------|--|
| ADH | Adiuretin |
| ANP | Atriales natriuretisches Peptid |
| AT-I | Angiotensin I |
| AT-II | Angiotensin II |
| BNP | Brain natriuretisches Peptid |
| BV | Blutvolumen |
| BV _{EB} | Blutvolumen mittels Evans Blau |
| BV _{EB+Ery} | Blutvolumen mittels Evans Blau und Erythrozyten |
| BV _{MTT} | Blutvolumen mittels mittlerer Transitzeit |
| BV _{Telim} | Blutvolumen mittels Rückextrapolation zum Zeitpunkt der Elimination |
| BV _{Tinj} | Blutvolumen mittels Rückextrapolation zum Zeitpunkt der Injektion |
| c | Konzentration |
| c _(a-v) O ₂ | arterio-venöse Sauerstoffkonzentrationsdifferenz |
| CNP | natriuretisches Peptid vom C-Typ |
| CO | Cardiac output (kardialer Auswurf) |
| EB | Evans Blau |
| EKG | Elektrokardiogramm |
| EV | Erythrozytenvolumen |
| EZR | Extrazellulärraum |
| FITC | Fluorescein Isothiocyanat |
| GKF | Gesamtkörperflüssigkeit |
| Hkt | Hämatokrit |
| HF | Herzfrequenz |
| HZV | Herzzeitvolumen |
| ICG | Indozyanin-Grün |
| IZR | Intrazellulärraum |
| KG | Körpergewicht |
| Kg | Kilogramm |
| m | Menge |
| MAD | mittlerer arterieller Druck |
| MTT | Mean transit time (mittlere Transitzeit) |
| pCO ₂ | Kohlendioxidpartialdruck |
| pO ₂ | Sauerstoffpartialdruck |
| PV | Plasmavolumen |
| RAAS | Renin-Angiotensin-Aldosteron-System |
| SA | surface area (Körperoberfläche) |
| TZF | transzelluläre Flüssigkeit |
| VO ₂ | Sauerstoffverbrauch |
| ZVD | zentraler Venendruck |

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Einleitung | 5 |
| 1.1 | Kompartimentierung der Gesamtkörperflüssigkeit..... | 5 |
| 1.2 | Blutvolumenregulation..... | 8 |
| 1.2.1 | Kurzfristige Regulationsmechanismen..... | 8 |
| 1.2.2 | Langfristige Regulationsmechanismen..... | 8 |
| 1.3 | Bestimmung des Blutvolumens..... | 11 |
| 1.3.1 | Bestimmung des Plasmavolumens mit Evans Blau..... | 11 |
| 1.3.2 | Bestimmung des Plasmavolumens mit Indozyanin-Grün..... | 12 |
| 1.3.3 | Bestimmung des Erythrozytenvolumens mit fluoreszierenden Farbstoffen..... | 13 |
| 2 | Material und Methoden | 16 |
| 2.1 | Studienprotokoll..... | 16 |
| 2.2 | Bestimmung des Blutvolumens..... | 17 |
| 2.2.1 | Bestimmung des Blutvolumens mit Evans Blau (BV_{EB})..... | 17 |
| 2.2.2 | Bestimmung des Blutvolumens mittels Plasma- und Erythrozytenvolumina (BV_{EB+Ery})..... | 19 |
| 2.2.3 | Bestimmung des Blutvolumens durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der ICG-Injektion (BV_{Tinj})..... | 20 |
| 2.2.4 | Bestimmung des Blutvolumens durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der ICG-Elimination (BV_{Telim})..... | 22 |
| 2.2.5 | Bestimmung des Blutvolumens mit dem Transitzeitverfahren (BV_{MTT})..... | 22 |
| 2.3 | Datenanalyse und Statistik..... | 23 |
| 3 | Ergebnisse | 24 |
| 3.1 | Bestimmung des Blutvolumens mit Evans Blau (BV_{EB}) sowie der Plasma- und Erythrozytenvolumina (BV_{EB+Ery})..... | 24 |
| 3.2 | Bestimmung des Blutvolumens durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der ICG-Injektion (BV_{Tinj})..... | 25 |
| 3.3 | Bestimmung des Blutvolumens durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der ICG-Elimination (BV_{Telim})..... | 26 |
| 3.4 | Bestimmung des Blutvolumens durch Annäherung an die mittlere Transitzeit (BV_{MTT})..... | 27 |
| 3.5 | Vergleich der einzelnen Methoden..... | 28 |
| 3.6 | Hämodynamische Parameter..... | 29 |
| 4 | Diskussion | 30 |
| | Zusammenfassung | 36 |
| 5 | Literaturverzeichnis | 39 |
| 6 | Danksagungen | 42 |
| 7 | Lebenslauf | 43 |

1. Einleitung

Die Bestimmung des Blutvolumens, Plasmavolumens sowie des ErythrozytENVolumens als Basisgröße des Kreislaufs ist im klinischen Alltag insbesondere bei der Behandlung kritisch kranker Patienten auf der Intensivstation und während Operationen von erheblicher Bedeutung. Daher ist das Ziel zahlreicher Untersuchungen, Substanzen und Methoden zu entwickeln, die das zirkulierende Blutvolumen mit geringen Nebenwirkungen, ausreichender Genauigkeit, schneller Wiederholbarkeit und Durchführbarkeit sowie geringem personellen Aufwand messen. Bislang fand allerdings keine Methode weite Akzeptanz im klinischen Alltag, so dass der Füllungszustand des Kreislaufs indirekt durch einfach bestimmbare Messgrößen wie den arterielle Blutdruck, den zentrale Venendruck, das Herzzeitvolumen, den pulmonalarteriellen Verschlussdruck, den Hämatokrit und die Diurese abgeschätzt wird. Diese Parameter werden jedoch nicht nur vom Füllungszustand des Kreislaufs beeinflusst, sondern unter anderem maßgeblich von intrathorakalen Druckverhältnissen, der Herzfunktion, Compliance der Venen und der Körperposition verändert und sind daher nur sehr grob als Maß für das tatsächliche Blutvolumen geeignet. Ziel dieser Arbeit ist es daher, unterschiedliche Methoden, die in der Klinik zur Blutvolumenbestimmung verwandt werden, miteinander zu vergleichen.

1.1 Kompartimentierung der Gesamtkörperflüssigkeit

Die Gesamtkörperflüssigkeit ist in verschiedene Kompartimente unterteilt. Man unterscheidet den Intrazellulärraum (IZR) und den Extrazellulärraum (EZR). Der IZR beinhaltet die Summe aller intrazellulären Einzelkompartimente der gesamten menschlichen Körperzellen. Der EZR untergliedert sich in den interstitiellen Raum, das Blutplasma als Teil des Blutvolumens und die transzelluläre Flüssigkeit (Abb.1).

Abb. 1

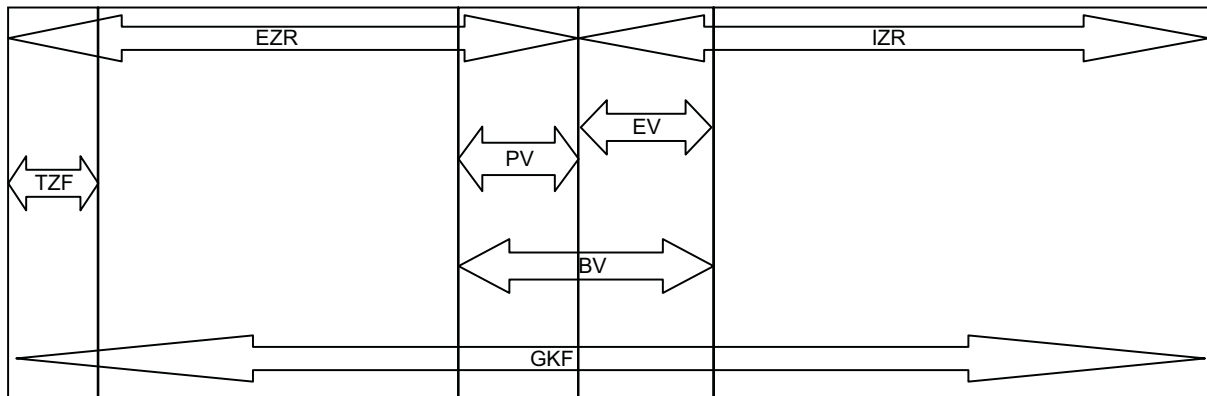


Abbildung 1: Schematische Darstellung der einzelnen Flüssigkeitskompartimente. BV = Blutvolumen, EV = ErythrozytENVolumen, EZR = Extrazellulärraum, GKF = Gesamtkörperflüssigkeit, IZR = Intrazellulärraum, PV = Plasmavolumen, TZV = Transzelluläre Flüssigkeit (modifiziert nach Schmidt, Thews³⁵).

Das Blutvolumen (BV) setzt sich aus dem Plasmavolumen (PV) und den intravaskulären, korpuskulären Bestandteilen zusammen. Hierbei repräsentiert der Hämatokrit (HKT) das prozentuale Verhältnis von korpuskulären Bestandteilen am gesamten Blutvolumen. Das BV entspricht ungefähr 7% des Gesamtkörpergewichts und wird u.a. vom Alter, dem Gewicht, der Körpergröße, dem Geschlecht und dem Trainingszustand beeinflusst. Darüber hinaus besteht eine enge Korrelation zwischen der Körperoberfläche und dem Blutvolumen²⁷. Auf dieser Basis wurden Blutvolumenreferenzwerte für Männer und Frauen erstellt (Abb.2).

Abb: 2

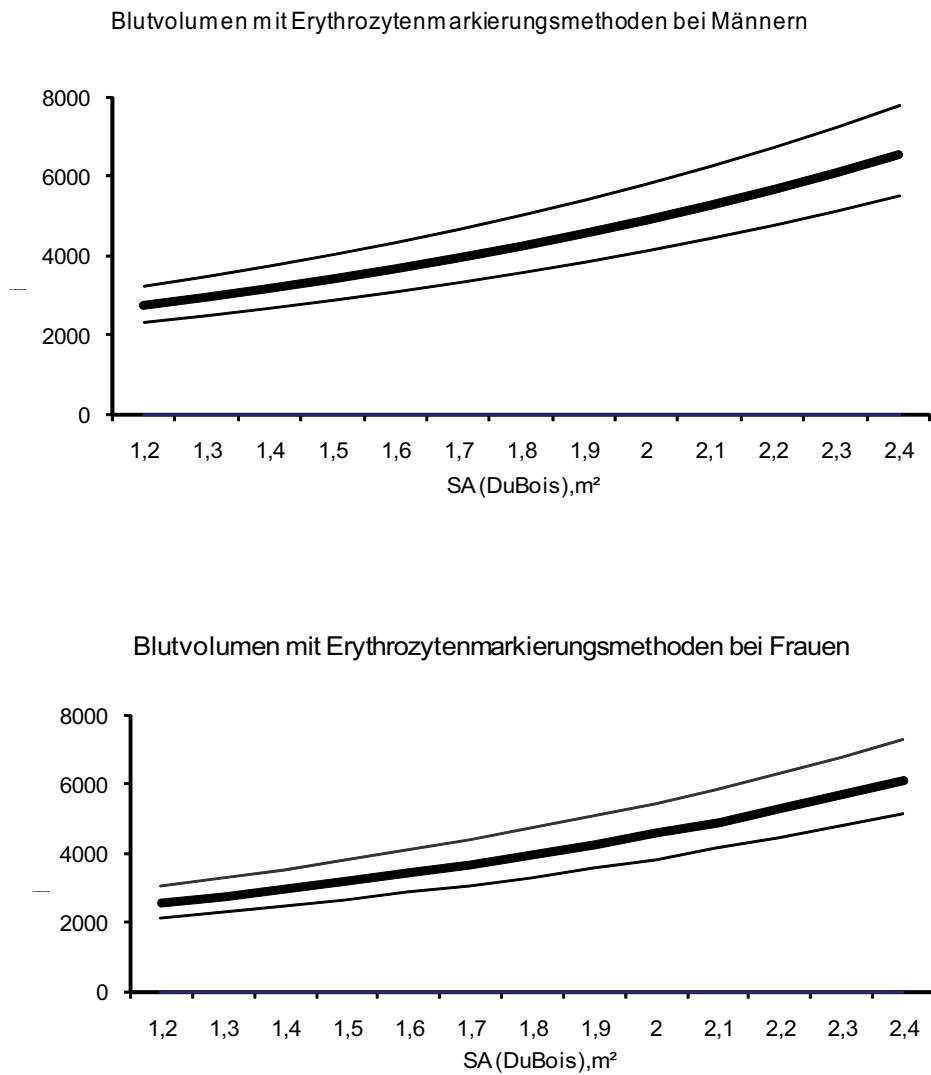


Abbildung 2: Normogramm des Blutvolumens

Zusammenhang zwischen der Körperoberfläche (SA) nach DuBois und dem zirkulierenden Blutvolumen bei Männern und Frauen modifiziert nach Lauer²⁷.

1.2 Blutvolumenregulation

Die Regulation des Blutvolumens hängt von einer Vielzahl verschiedener Faktoren ab, wobei die Größe des Blutvolumens dabei allem Anschein nach ausgesprochen konstant ist.

1.2.1 Kurzfristige Regulationsmechanismen

Volumenänderungen werden über Dehnungsrezeptoren in den Vorhöfen detektiert. Über zentralnervale Verschaltungen bewirken die Impulsänderungen der einzelnen Rezeptoren eine Aktivierung von Sympathikus oder Parasympathikus. Die arteriellen Pressorezeptoren und kardialen Dehnungsrezeptoren beeinflussen indirekt das Blutvolumen. Die durch Pressorezeptoren vermittelten vasomotorischen Reaktionen führen im Kapillarbett zu Änderungen der kapillären Filtration und bewirken dadurch Volumenverschiebungen zwischen dem interstitiellen und dem intravasalen Raum. Die Dehnungsrezeptoren beeinflussen über die Vasodilatation bzw. Vasokonstriktion der Nierengefäße die renale Flüssigkeitsausscheidung und haben somit auch langfristig einen Einfluss auf das Blutvolumen.

1.2.2 Langfristige Regulationsmechanismen

Die langfristigen Regulationsmechanismen des Kreislaufs beruhen in erster Linie auf der Modulation des Blutvolumens und werden durch humorale und renale Faktoren vermittelt (Abb.3).

Abb. 3

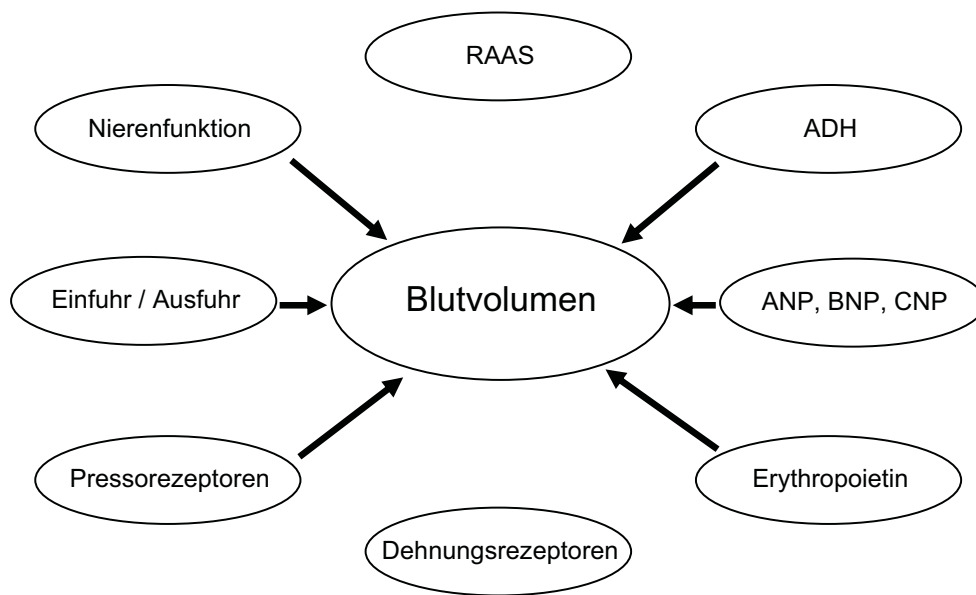


Abbildung 3: Einflussgrößen auf das Blutvolumen

Wesentliche Einflussfaktoren auf das Blutvolumen sind das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS), das Antidiuretische Hormon (ADH), die natriuretischen Peptide (ANP: atriales natriuretisches Peptid; BNP: Brain natriuretisches Peptid; CNP: natriuretisches Peptid vom C-Typ), Erythropoietin, die Dehnungs- und Pressorezeptoren, die Nierenfunktion sowie die Einfuhr und Ausfuhr von Flüssigkeit.

Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

Das RAAS ist ein wichtiges System zur Volumenregulation. Bei renaler Minderperfusion, Abnahme des Natriumbestandes im Körper sowie durch direkte sympathische Stimulation über β -adrenerge Zellen oder indirekt über α -adrenerg vermittelte Vasokonstriktion der Nierengefäße kommt es zur Ausschüttung von Renin aus den juxtaglomerulären Zellen der Nieren. Renin wirkt als Protease und spaltet von Angiotensinogen, welches in der Leber gebildet wird, Angiotensin I (AT-I) ab. Dieses ist zunächst biologisch inaktiv und wird unter Einwirkung vom Angiotensin-Converting-Enzyme zu Angiotensin II (AT-II) umgesetzt. Über eine stark vasokonstriktorische Wirkung des AT-II, insbesondere an den Arteriolen, steigt der periphere Widerstand. Die Tonuserhöhung im venösen System bewirkt eine Umverteilung des zirkulierenden Blutvolumens. Des Weiteren fördert AT-II die

Aldosteroninkretion aus der Nebennierenrinde. Aldosteron führt in den Nieren zu einer Natrium- und Wasserretention und über diesen Mechanismus zu einer systemischen Volumenzunahme. Zusätzlich steigert AT-II den zentralen Sympthotonus und fördert in der Peripherie die synaptische Übertragung des Sympthikus. Außerdem wird die Adiuretin-Ausschüttung begünstigt.

Adiuretin (ADH)

Adiuretin wird in makrozellulären Neuronen des vorderen Hypothalamus gebildet und in Granula der Neurohypophyse gespeichert. Die Freisetzung von ADH wird in erster Linie durch Stimulation hypothalamischer Osmorezeptoren sowie durch arterielle und kardiale Barorezeptoren gesteuert. Weitere Stimuli zur ADH-Ausschüttung sind unter anderem Gefäßverletzungen, Erbrechen, Schmerz, Stress, Kälte und Medikamente. ADH steigert die Permeabilität für Wasser an den distalen Tubuli und den Sammelrohren der Nieren. Durch die gesteigerte Wasserretention kommt es zur systemischen Volumenzunahme. Zusätzlich steigert ADH über eine Vasokonstriktion der Arteriolen den peripheren Widerstand.

Natriuretische Peptide

Das atriale natriuretische Peptid (ANP) bildet zusammen mit dem brain natriuretic peptid (BNP) und dem c-typ natriuretic peptid (CNP) die Gruppe der natriuretischen Hormone. ANP und BNP werden vor allem in den Myozyten der Vorhöfe synthetisiert und sind an der Langzeitregulation des Wasser- und Salzhaushaltes und damit an der Regulation des Blutvolumens und des Blutdrucks beteiligt. Eine verstärkte Vorhofdehnung, Sympthikusstimulation über Beta-Rezeptoren sowie Angiotensin II stellen einen adäquaten Reiz für die Ausschüttung von ANP und BNP dar. An den Nieren bewirken ANP und BNP eine Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate sowie eine Steigerung der Natriumausscheidung. Die Reninfreisetzung und somit die Aktivität des RAAS werden gesenkt. Zusätzlich hemmt ANP direkt die Aldosteron-ausschüttung aus der Nebennierenrinde.

1.3 Bestimmung des Blutvolumens

Im Laufe des letzten Jahrhunderts wurden unterschiedliche Methoden zur Blutvolumenbestimmung entwickelt. Das Grundprinzip dieser verschiedenen Messverfahren stellt die Indikatorverdünnung dar. Hierbei wird das Blutvolumen als das Verteilungsvolumen einer bekannten Indikatormenge in einem unbekanntem Raumvolumen nach dem Massenerhaltungsgesetz^{5,14,25,26} bestimmt. Dabei werden Indikatoren eingesetzt, die sich nach Möglichkeit ausschließlich im Intravasalraum verteilen und diesen nicht verlassen. So können entsprechend der physikochemischen Eigenschaften dieser Indikatoren unterschiedliche Verteilungsräume wie z.B.: das Plasmavolumen oder das ErythrozytENVolumen erfasst werden.

Bei der Bestimmung des Plasmavolumens wird die Verteilung von Plasmaproteinen, im wesentlichen Albumin, erfasst. Zur Markierung des Albumins werden Farbstoffe (Evans Blau^{11,12}, ICG^{5,17,32}), radioaktive Indikatorisotope (¹²⁵I-Albumin, ¹³¹I-Albumin^{12,14,18}) sowie fluoreszierende Farbstoffe verwendet.

Zur Bestimmung des ErythrozytENVolumens sind ebenfalls verschiedene Methoden geeignet. Hierzu zählen die Markierung von Erythrozyten mit radioaktiven Substanzen (³²P, ⁵¹Cr, ^{99m}Tc, ¹¹¹In, ^{113m}In¹⁴) mit fluoreszierenden Indikatoren (Fluorescein-Natrium^{26,28}) und Kohlenstoffmonoxid^{7,8}.

1.3.1 Bestimmung des Plasmavolumens mit Evans Blau (EB)

Der Farbstoff Evans Blau, auch T-1824 genannt, wurde bereits in den 30er Jahren von Gibson und Evans¹³ sowie von Gregersen et al¹⁵ zur Bestimmung des Plasmavolumens eingeführt. Der Einsatz dieses Indikators zur Plasmavolumenbestimmung ist eine allgemein anerkannte Methode und dient in vielen Untersuchungen als Referenzmethode.

Nach Injektion von EB binden freie Farbstoffanionen an Serumalbumine^{16,31}. Durch die Bindung an Serumalbumine entspricht der Verteilungsraum von EB dem

Plasmavolumen. Die Halbwertszeit von EB beträgt 330 Minuten. Dies kommt einer Eliminationsrate von 13%/Stunde gleich³². Hieraus ergibt sich, dass EB zu den Farbstoffen mit langer Halbwertszeit zählt und wiederholte Volumenbestimmungen innerhalb kurzer Zeitintervalle auf Grund von Akkumulation des Farbstoffes im Körper nicht möglich sind. Nach Injektion und ausreichender Durchmischungszeit des Farbstoffs im Organismus werden Blutproben entnommen und die plasmatische Evans Blau Konzentration photometrisch bei einer Wellenlänge von 610 nm gegen eine zuvor entnommene Leerprobe gemessen. Es ist zu beachten, dass Plasmaverunreinigungen, wie trübe Fettkomplexe und Hämoglobin, die photometrische Absorption von EB beeinflussen¹¹.

1.3.2 Bestimmung des Erythrozytenvolumens mit fluoreszierenden Farbstoffen

Fluoreszierende Farbstoffe werden schon seit Anfang des letzten Jahrhunderts in der Ophthalmologie zur Fluoreszenzangiographie der Retina eingesetzt. Für die Blutvolumenbestimmung mittels fluoreszierender Farbstoffe setzten Hansen et al erstmalig Fluoresceinisothiocyanat (FITC) im Tierversuch ein. Diese Substanz ist für Untersuchungen im Menschen nicht zugelassen, daher wird alternativ zu BV-Bestimmung Fluorescein-Natrium in der Humanmedizin eingesetzt.

Fluorescein-Natrium ist ein leicht lösliches Alkalisalz. In wässriger Lösung hat es eine gelbrötliche Farbe und weist eine intensive Fluoreszenz auf. Angaben über Verteilung und Bindungsverhalten von Fluorescein-Natrium nach Injektion sind noch nicht vollständig geklärt, wobei ein Großteil des applizierten Farbstoffs an Plasmaproteine und hier besonders an Albumin bindet. Die Eiweißbindung ändert hierbei nur unwesentlich die Fluoreszenzeigenschaften, das Absorptionmaximum sowie die Emission des Farbstoffes werden in den Bereich längerer Wellenlängen verschoben. Die Elimination erfolgt primär renal - in geringem Maße auch hepatisch.

1.3.3 Bestimmung des Plasmavolumens mit Indozyanin Grün (ICG)

Auf der Suche nach einem Indikator mit einer kurzen Halbwertszeit wurde Indozyanin Grün in der Mitte des letzten Jahrhunderts zur Herzzeitvolumenbestimmung von Fox et al. und zur Blutvolumenbestimmung von Bradley und Barr⁵ eingeführt.

ICG ist ein Farbstoff der Tricyanidgruppe, der auch in wässriger Lösung stabil existiert, und daher gut zur intravenösen Injektion geeignet ist. Im Organismus bindet der Farbstoff zu 95% an Plasmaalbumine, zu 2,4% an α_1 -Globuline, zu 2,0% an α_2 -Globuline, zu 0,6% an β -Globuline, womit eine ausschließliche intravasale Verteilung und damit eine Grundbedingung für die Blutvolumenbestimmung erfüllt ist. Eine Bindung an γ -Globuline findet nicht statt⁶. ICG wird ausschließlich hepatisch metabolisiert und biliär eliminiert. Eine Ausscheidung über den Urin konnte nicht nachgewiesen werden⁶. Die Halbwertszeit dieses Farbstoffes beträgt 8,0 Minuten, dies entspricht einer fraktionellen Eliminationsrate von 9%/Minute. Auf Grund der Tatsache, dass ICG ein Indikator mit kurzer Plasmahalbwertszeit ist, erfüllt er eine wichtige Voraussetzung zur wiederholten Blutvolumenbestimmung innerhalb kurzer Zeitintervalle. Darüber hinaus zeichnet sich ICG im Wesentlichen durch eine gute Verträglichkeit aus.

Zur Bestimmung der ICG Konzentration kommen unterschiedliche Messmethoden zum Einsatz, die alle auf dem Prinzip der Lichtabsorption und Extinktion beruhen. Die plasmatische Farbstoffkonzentration kann photometrisch bei einer Wellenlänge von 805 nm bestimmt werden. Außerdem kann die ICG Konzentration mittels Reflexionsdensitometrie in vivo gemessen werden.

Dabei wird über einen intravaskulär platzierten Fiberoptikkatheter die Farbstoffkonzentration des Indikators computergestützt gemessen, sowie zusätzlich der Temperaturverlauf aufgezeichnet. Hierfür wurde von der Firma Pulsion Medizintechnik München das COLD[®]-System (PV2024) entwickelt. Mit diesem System kann zum einen mittels Thermodilution unter Verwendung des Indikators Kälte nach dem modifizierten Stewart-Hamilton Algorithmus das HZV ermittelt werden. Zum anderen kann bei Verwendung eines Farbstoffs als Indikator der zeitliche Konzentrationsverlauf durch den Kreislauf detektiert werden. Neuere

Untersuchungen verwenden die Pulse Dye Densitometrie, um minimal invasiv die Farbstoffkonzentration transkutan über einen Finger- oder Nasensensor, analog zur Pulsoxymetrie, zu bestimmen²¹.

Da die intravaskuläre Konzentration von ICG nicht direkt gemessen werden kann, wird das aufgezeichnete Originalsignal (Reflexions/Zeit-Kurve) in eine Konzentrations/Zeit-Kurve überführt. Dies erfolgt in der Regel automatisch durch Kalibrierung gegen die simultan gemessene Temperatur/Zeit-Kurve (z. B. Messung des HZV durch Thermodilution). Aus den so ermittelten Konzentrations/Zeit-Kurven kann das Blutvolumen zum einen durch das klassische Massenerhaltungsgesetz durch Rückextrapolation der Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion bzw. Elimination nach der Formel $BV = m / c(0)$ ermittelt werden. Zum anderen kann durch Bestimmung der mittleren Transitzeit das Blutvolumen als Produkt des Herzzeitvolumens und der mittleren Transitzeit dieses Indikators durch den Kreislauf^{19,23} berechnet werden.

Das Indikatorverteilungsverfahren mittels ICG liefert Blutvolumina, welche gut übereinstimmen mit denen von Indikatoren mit langen Halbwertzeiten z. B. Evans blau²³. Bei der Blutvolumenbestimmung mit dem Transitzeitverfahren hingegen wurden ca. 40% geringere Blutvolumina ermittelt¹⁹. Eine mögliche Erklärung dieser Diskrepanzen könnte eine fehlerhafte Bestimmung der mittleren Transitzeit (MTT) sein. Somit könnte die Genauigkeit der HZV Messung, welches für die Kalibrierung der Reflexions/Zeit-Kurven herangezogen wird, entscheidend sein für die exakte Ermittlung des BV_{MTT} .

Zur Überprüfung der beschriebenen Diskrepanzen wurde in der vorliegenden Arbeit im Tierexperiment das Blutvolumen auf 4 unterschiedliche Arten bestimmt. Zum einen wurde das Blutvolumen mittels des klassischen Massenerhaltungsgesetzes mit (I) Evans Blau, (II) fluoreszierenden Erythrozyten und (III) Indozyanin-Grün bestimmt. Zum anderen wurde das Blutvolumen mittels der (IV) mittleren Transitzeit (MTT) des Indikators Indozyanin-Grün durch den Kreislauf berechnet. Die daraus resultierenden Blutvolumina wurden im Anschluss miteinander verglichen. Um die Messung des HZV als mögliche Fehlerquelle auszuschließen, wurde dieses durch hoch präzise

Ultraschallsonden bestimmt³⁰. So konnten die Reflexion/Zeit-Kurven präzise und unabhängig von der Thermodilutionskurve kalibriert werden.

Folgende Fragen sollen im Verlauf dieser Arbeit im Einzelnen geklärt werden.

1. Sind die Blutvolumina, die mit dem Massenerhaltungsgesetz mit Evans Blau und Indozyanin Grün sowie der Transitzeitmethode bestimmt wurden, miteinander vergleichbar?
2. Inwieweit hat der Zeitpunkt der Rückextrapolation einen Einfluss auf die Höhe des ermittelten Blutvolumens?
3. Worin liegen die Gründe für die unterschiedlich hoch ermittelten Blutvolumina?

2. Material und Methoden

2.1 Studienprotokoll

Die Daten wurden in 24 Experimenten mit 6 Hunden (Foxhounds, Gewicht 27-34 kg) erhoben. Jeder Hund wurde viermal untersucht, wobei zwischen den jeweiligen Experimenten mindestens ein Intervall von einer Woche lag. Alle Experimente wurden mit Genehmigung der Bezirksregierung Düsseldorf durchgeführt.

Mehrere Wochen vor den eigentlichen Experimenten wurden die Hunde unter Vollnarkose und aseptischen Bedingungen operiert. Zur Narkose wurden Enfluran, Lachgas (Abbott Laboratories, Illinois, USA) und Fentanyl (Janssen-Cilag, Neuss, Deutschland) verwendet. Beide Aa. Carotis internae wurden in Hautschlingen nach außen verlagert. Diese so genannten Karotisschlingen dienten dazu, im späteren Versuchsaufbau einen Fiberoptikkatheter für die Aufzeichnung der intravasalen ICG-Konzentration sowie einen arteriellen Katheter zur kontinuierlichen Blutdruckmessung und Entnahme von Blutproben einzuführen⁴¹. Zusätzlich wurde in einer zweiten Operation ein Ultraschallsensor (20-24 mm S-Serie mit Silikon abgeschirmten U-Reflektor, Transonic Systems, Ithaca, New York, USA) um die Pulmonalarterie durch eine linksseitige Thorakotomie implantiert, um das Herzzeitvolumen kontinuierlich³⁰ aufzeichnen zu können. Jeder Flussaufnehmer wurde in vitro vor der Implantation kalibriert und ebenfalls in vivo mindestens drei Wochen nach der Implantation durch das Fick'sche Prinzip des O₂-Verbrauch (VO₂) und der Differenz des arteriellen zum gemischt-venösen O₂-Gehalt ($C_{(a-v)}O_2$). Gemessen wurde mit einer galvanischen Zelle (Lex-O₂-Con-TI), mit hoch präzisen Ergebnissen, wie in vorausgehenden Studien dargestellt wurde³⁰.

Für die eigentlichen Experimente wurde die Anästhesie mit Phenobarbital (20-25 mg/kg) eingeleitet und aufrecht erhalten (2-4 mg/kg/h). Beide Karotisschlingen wurden punktiert und die Katheter wurden in der thorakalen Aorta plaziert. Über den einen Katheter wurde der arterielle Blutdruck gemessen, über den anderen wurde kontinuierlich die ICG Reflexion/Zeit-Kurve über einen 4-French Fiberoptik Katheter (PV 2024, Pulsion Medizintechnik, München, Deutschland) registriert. Die korrekte Position der Katheter wurde durch Kontrolle des reflektierten Lichtsignals und

radiologisch überprüft. Zusätzlich wurde eine periphere Vene punktiert, über die ein zentraler Venenkatheter (B. Braun, Melsungen, Deutschland) zur Injektion der Indikatoren und Messung des zentralen Venendrucks (ZVD) eingeführt wurde. Der arterielle Blutdruck sowie der zentralvenöse Druck wurde kontinuierlich elektromanometrisch über flüssigkeitsgefüllte Katheter, die an Druckaufnehmer angeschlossen (Statham P-231D, Gould, Cleveland, Ohio, USA) waren, registriert. Die Elektromanometer wurden auf den 7. Halswirbel adjustiert und vor jedem Versuch mit einer Quecksilbersäule bzw. Wassersäule (Eichwaage nach Gauer) geeicht. Die Herzfrequenz wurde über ein Standard-EKG mit Oberflächenelektroden abgeleitet. Zusätzlich wurden die arteriellen und gemischt-venösen Gasdrücke, die O₂-Sättigung und der pH-Wert (ABL3, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) gemessen. Alle Variablen wurden auf einem Acht-Kanal Polygraphen (Modell RS 3800, Gould, Cleveland, Ohio, USA) aufgezeichnet und gleichzeitig auf der Festplatte eines konventionellen Computers gespeichert. Für die weitere Bearbeitung und Auswertung wurde eine Analog-zu-digital Konvertierung bei einer Taktung von 400 Hz (Powerlab, Adinstruments, Castle Hill, Australien) vorgenommen. Die weitere Auswertung erfolgte über das Programm Chart 4,0 (Powerlab, Adinstruments, Castle Hill, Australien).

2.2 Bestimmung des Blutvolumens

Nach Einleitung der Narkose und vollständigem Versuchsaufbau wurde mit den Messungen begonnen. Nach einer 30 minütigen Wartezeit hatten alle Messvariablen konstante Werte erreicht und es konnte mit der Bestimmung des Blutvolumens begonnen werden. Hierzu wurden verschiedene Methoden eingesetzt, die in den folgenden Abschnitten beschrieben werden.

2.2.1 Bestimmung des Blutvolumens mit Evans Blau (BV_{EB})

Die Bestimmung des Blutvolumens mit Evans Blau basiert auf dem klassischen Prinzip der Massenerhaltung. Hierbei wird das Blutvolumen über das Verteilungsvolumen einer bekannten Indikatormenge in einem unbekanntem

Volumen definiert. Diese Methode diente in der vorliegenden Arbeit als Referenzmethode.

Vor der Injektion des Farbstoffes wurden venöse Blutproben als Leerproben entnommen. Danach wurden 6 mg EB (Sigma, Osterode am Harz, Deutschland) über den zentralen Venenkatheter injiziert. Im Anschluss wurden in den folgenden 64 Minuten acht Blutproben (nach 6, 8, 12, 16, 20, 24, 32 und 64 min) entnommen. Die plasmatische EB-Konzentration wurde photometrisch (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) bei einer Wellenlänge von 610 nm gegen die Leerproben gemessen.

Für die Elimination von EB wurde ein 2 Kompartiment-Modell angenommen und entsprechend die resultierenden Konzentrations/Zeit-Kurven für EB biexponentiell rückextrapoliert.

Gleichung 1

$$c(t) = a \cdot e^{-k_1 t} + b \cdot e^{-k_2 t}$$

Mit Hilfe der Gleichung 1 wurde die virtuelle Konzentration von EB zum Injektionszeitpunkt $c(0)$ bestimmt und BV_{EB} wie folgt berechnet.

Gleichung 2

$$BV_{EB} = \frac{m_{EB}}{c(0) \cdot (1 - Hkt) \cdot KG}$$

Das mit Evans Blau berechnete Blutvolumen (BV_{EB}) entspricht dem Quotienten aus der applizierte Menge Evans Blau (m_{EB}) und der virtuellen Konzentration zum Injektionszeitpunkt $c(0)$. Zusätzlich müssen das Körpergewicht (KG) und der Hämatokrit (Hkt) der Versuchstiere berücksichtigt werden.

2.2.2 Bestimmung des Blutvolumens mittels Plasma- und ErythrozytENVolumina (BV_{EB+Ery})

Zusätzlich wurde in 9 der 24 Experimente das Blutvolumen als Summe des ErythrozytENVolumens (EV) und des Plasmavolumens (PV) bestimmt. Hierdurch sollte eine mögliche Fehlbestimmung des Blutvolumens durch den Messparameter Hämatokrit (Gleichung 2)^{1,2} erkannt werden. Das Plasmavolumen wurde, wie oben beschrieben, mittels Evans Blau gemessen (2.2.1) und entsprechend der folgenden Formel berechnet.

Gleichung 3

$$PV = \frac{m_{EB}}{c(0) \cdot KG}$$

Das Plasmavolumen PV ergibt sich aus dem Quotienten der applizierte Menge Evans Blau (m_{EB}) und dem Produkt aus der virtuellen Konzentration zum Injektionszeitpunkt $c(0)$ und dem Körpergewicht (KG) der Versuchstiere.

Das ErythrozytENVolumen wurde durch die Verteilung von fluoreszierenden Erythrozyten mit Hilfe der Durchflusszytometrie gemessen. Diese Methode stellt ein optisches Messsystem für einzelne, in einem Flüssigkeitsstrom fokussierte Partikel, dar. Das Messprinzip beruht auf der quantitativen Fluorochromierung, d. h. die mit einem spezifischen Fluoreszenzfarbstoff markierten Partikel werden kontinuierlich hintereinander an einer Lichtquelle vorbeigeführt und auf Grund der Fluoreszenzanregung des Farbstoffs detektiert.

Zu diesem Zweck wurden 20 ml Blut mehrere Stunden vor dem Experiment entnommen und mit Fluorescein Isothiocyanat (FITC; F-7250, Sigma, Taufkirchen, Deutschland) inkubiert²⁴. Die so markierten Erythrozyten wurden in den Versuchen eine Minute vor dem EB injiziert. Anschließend wurden acht Blutproben in den folgenden 65 Minuten (nach 7, 9, 13, 17, 21, 25, 33 und 65 min.) entnommen. Die Konzentration der fluoreszierenden Erythrozyten wurde durchflusszytometrisch unter Einsatz eines Argonlasers gemessen (FACScan, Becton Dickinson, Heidelberg,

Deutschland). Jede Probe wurde vier Mal mit 50.000 Erythrozyten gezählt und der Mittelwert der vier Einzelbestimmungen wurde für die Konzentrations/Zeit-Kurve verwendet. Die hieraus resultierenden Kurven wurden, wie bereits für die EB-Technik beschrieben, an den biexponentiellen Verfall angepasst und die virtuelle Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion $c(0)$ berechnet (Gleichung 1). EV wurde bestimmt als.

Gleichung 4

$$EV = \frac{m_{Ery}}{c(0) \cdot Hkt \cdot KG}$$

Das Erythrozytenvolumen (EV) entspricht dem Quotienten aus der bekannten Menge fluoreszierender Erythrozyten (m_{Erys}) und dem Produkt aus der virtuellen Konzentration zum Injektionszeitpunkt $c(0)$, dem Hämatokrit und dem Körpergewicht der Versuchstiere (KG).

Daraus ergibt sich die Bestimmung des Blutvolumens (BV_{EB+Ery}) nach folgender Gleichung.

Gleichung 5

$$BV_{EB+Ery} = PV + EV$$

Das Blutvolumen (BV_{EB+Ery}) errechnet sich aus der Summe des bestimmten Plasmavolumens (PV) und des Erythrozytenvolumens (EV).

2.2.3 Bestimmung des Blutvolumens durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der ICG-Injektion (BV_{Tinj})

Die Bestimmung des Blutvolumens mit ICG beruht analog zu EB auf der Bestimmung des Verteilungsvolumens einer bekannten Indikatormenge in einem unbekanntem Volumen. Es bestehen jedoch bei dieser Methode im Vergleich zwei entscheidende

Unterschiede. Zum einem ist die Halbwertszeit von ICG im Verhältnis zu EB kleiner, zum anderen wird die Konzentration von ICG nicht direkt gemessen. Aus diesem Grund wird zunächst eine Reflexions/Zeit-Kurve aufgezeichnet und diese danach durch Kalibrierung gegen das simultan gemessene HZV in eine Konzentrations/Zeit-Kurve konvertiert.

ICG ($0,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 5 ml) wurde über einen zentralvenösen Katheter in das rechte Atrium injiziert. Im Anschluss wurde die ICG Reflexions/Zeit-Kurve kontinuierlich über einen Zeitraum von vier Minuten intravaskulär aufgezeichnet. Dies erfolgte über einen in der Aorta ascendens platzierten Katheter basierend auf der Reflexionsdensitometrie. Die so ermittelten Reflexions/Zeit-Kurven wurden nach der Untersuchung durch Kalibrierung gegen das simultan gemessene Herzzeitvolumen in eine Konzentrations/Zeit-Kurve konvertiert. Die daraus resultierenden Kurven für ICG wurden monoexponentiell rückextrapoliert, entsprechend der Elimination von ICG (Gleichung 6).

Gleichung 6

$$c(t) = a \cdot e^{-k \cdot t}$$

Hieraus konnte die virtuelle Konzentration zum Injektionszeitpunkt ($t=0$) berechnet werden.

Gleichung 7

$$BV_{\text{ICG}} = \frac{m_{\text{ICG}}}{c(0) \cdot \text{KG}}$$

Das Blutvolumen, das mittels ICG (BV_{ICG}) bestimmt wurde, ergibt sich aus dem Quotienten der applizierten Menge Indozyanin-Grün (m_{ICG}) und dem Produkt aus der virtuellen Konzentration zum Injektionszeitpunkt $c(0)$ und dem Körpergewicht (KG) der Versuchstiere.

2.2.4 Bestimmung des Blutvolumens durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der ICG-Elimination (BV_{Elim})

Da bei kurzer Halbwertszeit die Eliminationsrate von ICG groß ist, verläuft der Anfangsteil der Konzentrations/Zeit-Kurve steil. So könnte der korrekte Zeitpunkt für die Rückextrapolation von besonderem Interesse sein. Daher wurde ergänzend zur Rückextrapolation zum Injektionszeitpunkt das Blutvolumen zum Zeitpunkt des Beginns der ICG-Elimination bestimmt. Dieser wurde definiert als das erstmalige Eintreffen des ICGs in der Leber. Der Zeitraum zwischen der Injektion und dem Beginn der Elimination wurde als die Hälfte der mittleren Transitzeit ($T_0+1/2$ MTT) betrachtet³⁶.

2.2.5 Bestimmung des Blutvolumens mit dem Transitzeitverfahren (BV_{MTT})

Das Transitzeitverfahren bestimmt das Blutvolumen als das Produkt des Herzzeitvolumens und der mittleren Transitzeit des ICGs durch den Kreislauf. Das Herzzeitvolumen wurde hierbei kontinuierlich und mit hoher Präzision durch eine Ultraschall-Fluss-Sonde, die um die Pulmonalarterie implantiert war, gemessen³⁰. Die MTT durch den Kreislauf wurde mit ICG ($0,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 5ml) bestimmt, welches in den rechten Vorhof injiziert wurde. Parallel zu BV_{Tinj} und BV_{Elim} , wurde die Konzentrations/Zeit-Kurve von ICG kontinuierlich über die Dauer von 4 min. über den in der thorakalen Aorta platzierten Fiberoptikkatheter aufgezeichnet (Abb.4). Im Gegensatz zu BV_{Tinj} und BV_{Elim} wurde die MTT hauptsächlich aus dem Anfangsteil der Konzentrations/Zeit-Kurve berechnet¹⁹. BV_{MTT} wurde anschließend als das Produkt des Herzzeitvolumens und der MTT berechnet.

Abb.4

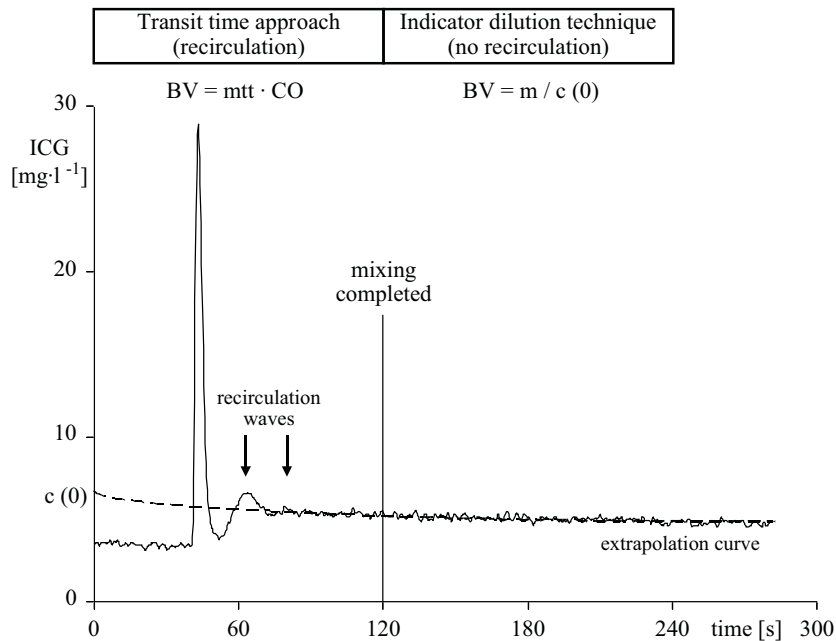


Abbildung 4: Indozyanin-Grün Dilutionskurve

Indikatordilutionskurve für ICG während der Durchmischungszeit, aufgezeichnet mittels des in der Aorta platzierten Fiberoptikkatheters. Die mittlere Durchgangszeit (MTT) wurde mit Hilfe der Rezirkulationswellen (Pfeile) berechnet. Vom Zeitpunkt der vollständigen Durchmischung des Indikators wurde die Konzentrations/Zeit-Kurve für die Rückextrapolation der virtuellen ICG Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion (c_0) oder zum Zeitpunkt der Elimination ($c_{mtt1/2}$) verwendet.

2.3 Datenanalyse und Statistik

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm der Standardabweichung des Mittelwertes dargestellt. Diese wurden verglichen mittels einer Kovarianzanalyse ANOVA, gefolgt von einem Scheffé' post hoc Test. Ein p-Wert von $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet. Der Vergleich zwischen zwei Methoden wurde unter Anwendung der Methodik von Bland und Altman durchgeführt³. Des Weiteren wurde als Mittel der Reproduzierbarkeit der intraindividuelle Variationskoeffizient berechnet.

3. Ergebnisse

3.1 Bestimmung des Blutvolumens mit Evans Blau (BV_{EB}) sowie der Plasma- und Erythrozytenvolumina (BV_{EB+Ery})

Um zu überprüfen inwieweit die separate Bestimmung des Blutvolumens aus Erythrozytenvolumen und Plasmavolumen zu unterschiedlichen Ergebnissen führt als die alleinige Bestimmung des Blutvolumens über das Plasmavolumen wurde es in 9 von 24 Versuchen separat bestimmt. Die Bestimmung des Blutvolumens mittels Evans Blau als Referenzmethode ergab im Durchschnitt $75 \pm 2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($n = 24$). Für den Vergleich mit der Bestimmung des separat gemessenen Erythrozyten- und Plasmavolumen (BV_{EB+Ery}) wurde das Volumen in 9 der 24 Versuche mit einem Mittelwert von $71,6 \pm 2,1 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ bestimmt und war hiermit mit dem ermittelten BV_{EB} , im Mittel $71,4 \pm 1,9 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$, vergleichbar (Abb. 9). Der mittlere Unterschied zwischen diesen beiden Methoden betrug nur $0,2 \pm 2,6 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Abb. 5). Aufgrund der guten Übereinstimmung sowie der einfacheren Durchführung wurde deshalb in den weiteren Versuchen lediglich das BV_{EB} bestimmt.

Abb.5

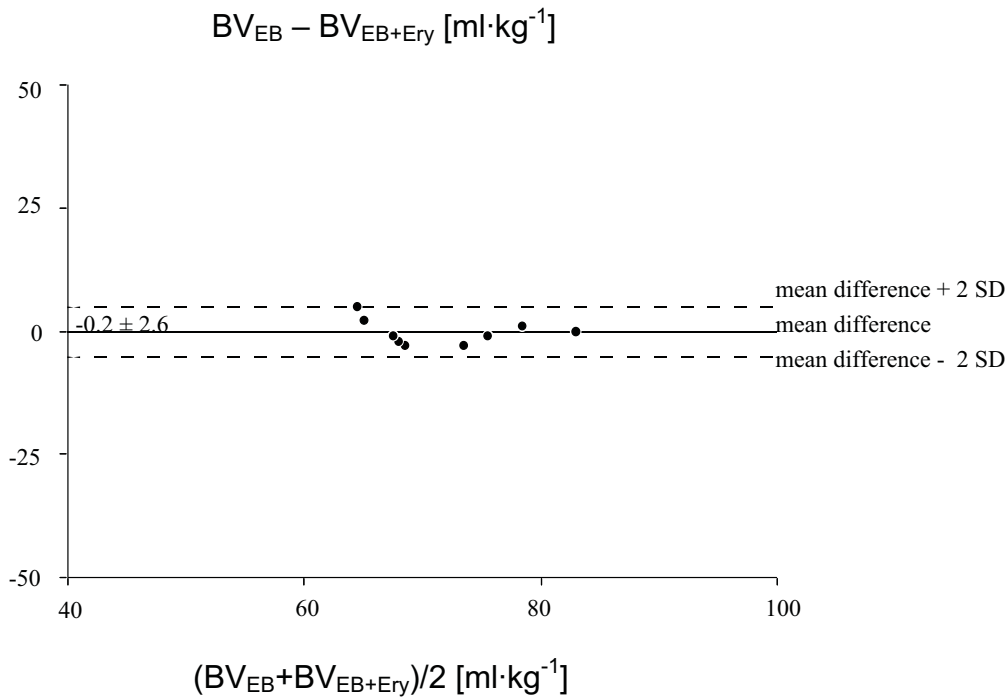


Abbildung 5: Vergleich zwischen BV_{EB} und BV_{EB+Ery}

Dargestellt ist die durchschnittliche Übereinstimmung der Messwerte (Bias) sowie derer Standardabweichung (2SD) nach Bland und Altman. Diese zeigt für die Blutvolumenbestimmung mittels Evans Blau (BV_{EB}) verglichen mit der Summe aus dem separat gemessenen Plasma- und Erythrozytenvolumen (BV_{EB+Ery}) einen mittlere Unterschied von $0,2 \pm 2,6 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$.

3.2 Bestimmung des Blutvolumens durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der ICG-Injektion (BV_{Tinj})

Wurde das Blutvolumen durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der Injektion des Indikators ICG bestimmt, ergab sich im Mittel ein Wert von $49 \pm 2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Abb. 9). Diese Methode zeigte mit einem mittleren Unterschied von $25,4 \pm 10,3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ einen signifikanten Unterschied zu der Referenzmethode BV_{EB} (Abb. 6). Verglichen mit dem Transitzeitverfahren BV_{MTT} ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Blutvolumina (Abb. 9).

Abb.6

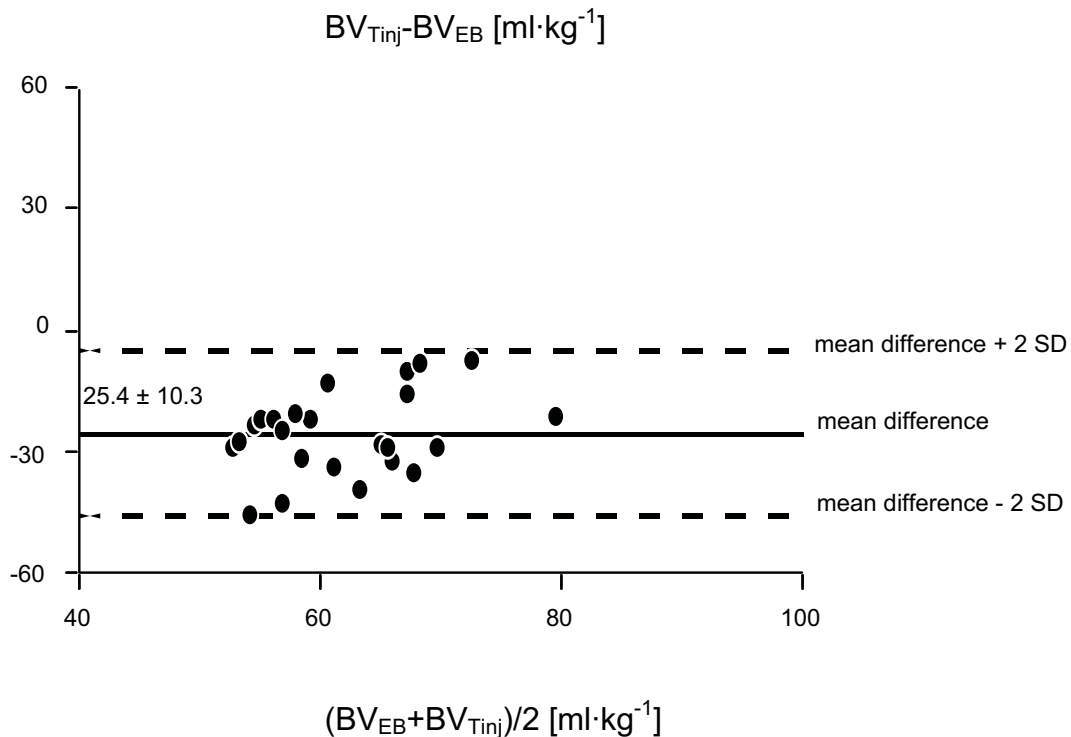


Abbildung 6: Vergleich zwischen BV_{EB} und BV_{Tinj}

Dargestellt ist die durchschnittliche Übereinstimmung der Messwerte (Bias) sowie derer Standardabweichung (2SD) nach Bland und Altman. Diese zeigt für die Blutvolumenbestimmung mittels BV_{EB} und BV_{Tinj} einen mittleren Unterschied von $25,4 \pm 10,3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$.

3.3 Bestimmung des Blutvolumens durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der ICG-Elimination (BV_{Telim})

Wurde das Blutvolumen nicht durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der Injektion, sondern zum Zeitpunkt der ICG-Elimination ermittelt, zeigte sich mit einem durchschnittlichen Blutvolumen von $54 \pm 2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ ebenfalls ein deutlicher Unterschied zur Referenzmethode BV_{EB} (Abb. 9).

3.4 Bestimmung des Blutvolumens mit dem Transitzeitverfahren (BV_{MTT})

Die Bestimmung des Blutvolumens durch die mittlere Transitzeit des Indikators ICG durch den Kreislauf war signifikant verschieden von der Bestimmung des Blutvolumens mittels Evans Blau ($48 \pm 2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ vs. $75 \pm 2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$). Der mittlere Unterschied betrug $26,7 \pm 9,3 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Abb.7).

Abb.7

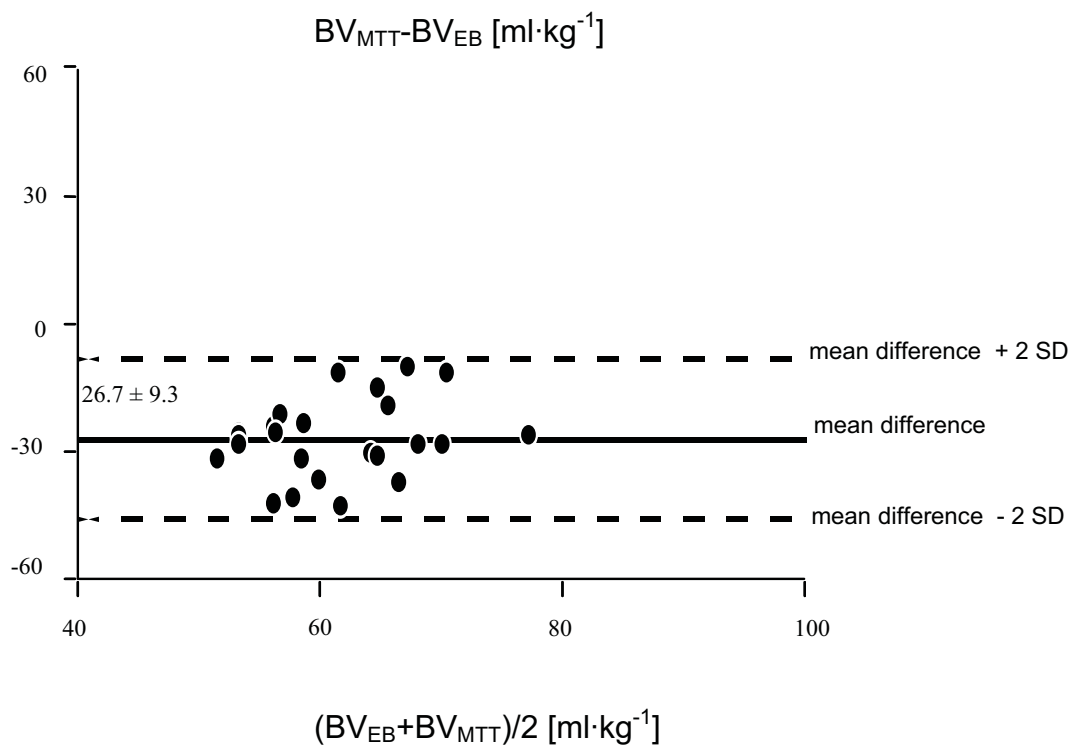


Abbildung 7: Vergleich zwischen BV_{EB} und BV_{MTT}

Dargestellt ist die durchschnittliche Übereinstimmung der Messwerte (Bias) sowie deren Standardabweichung (2SD) nach Bland und Altman. Diese zeigt für die Blutvolumenbestimmung mittels BV_{EB} und BV_{MTT} einen mittleren Unterschied von $26,7 \pm 9,3 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Die mittlere Transitzeit von ICG betrug in unseren Versuchen $33 \pm 1\text{s}$. Wurde sie aus dem Quotienten des Blutvolumens ($BV_{EB} 75 \pm 1 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$) und dem Herzzeitvolumen ($88 \pm 3 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) ermittelt, betrug die MTT $52 \pm 2\text{s}$. Die gemessene Transitzeit unterschied sich von der berechneten um ca. 40%.

Beide Methoden, BV_{MTT} und BV_{Tinj} , bei denen der Indikator ICG eingesetzt wurde, zeigen vergleichbare Ergebnisse in der Bestimmung des Blutvolumens. Die mittlere Differenz beträgt nur $1,3 \pm 2,7 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Abb. 8

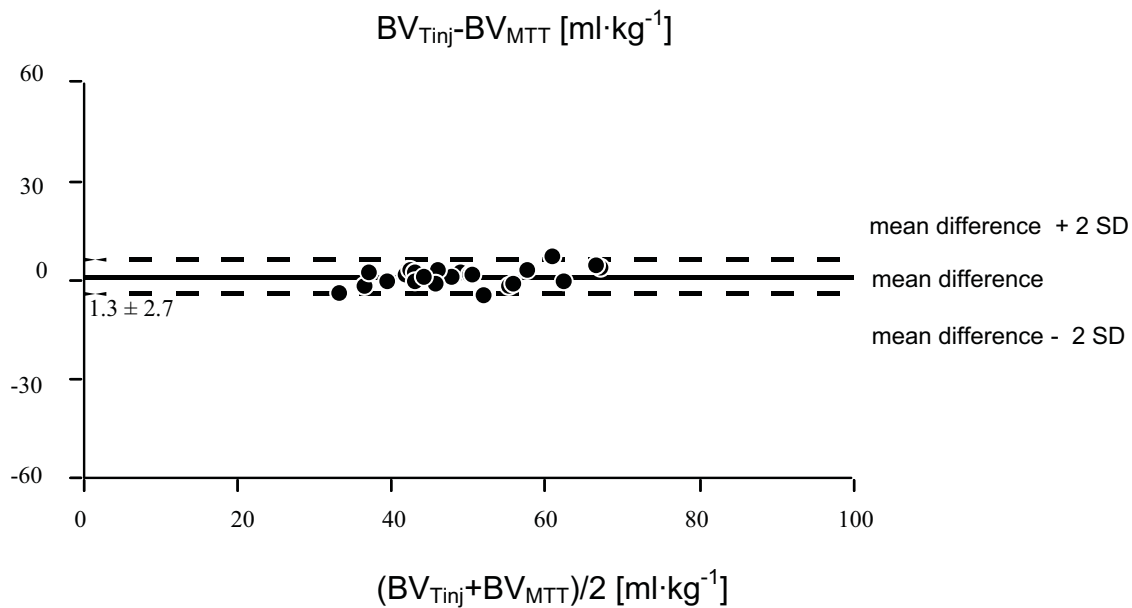


Abbildung 8: Vergleich zwischen BV_{Tinj} und BV_{MTT}

Dargestellt ist die durchschnittliche Übereinstimmung der Messwerte (Bias) sowie derer Standardabweichung (2SD) nach Bland und Altman. Diese zeigt für die Blutvolumenbestimmung mittels BV_{Tinj} und BV_{MTT} unter Verwendung von ICG einen mittleren Unterschied von $1,3 \pm 2,7 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$.

3.5 Vergleich der einzelnen Methoden

Der Vergleich der einzelnen Methoden zur Blutvolumenbestimmung zeigt eine gute Übereinstimmung der Volumina, die mittels Massenerhaltungsgesetz unter Verwendung von ICG durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der Injektion (BV_{Tinj}) resultieren, sowie denen aus dem Transitzeitverfahren (BV_{MTT}). Verglichen mit der Referenzmethode (BV_{EB}) unterschätzen diese beiden Methoden das Blutvolumen signifikant um ca. 40%. Erfolgt die Rückextrapolation zum Zeitpunkt der ICG-Elimination (BV_{Telim}) hält die Unterschätzung des Blutvolumens an, wenn auch um 10% reduziert.

Abb. 9

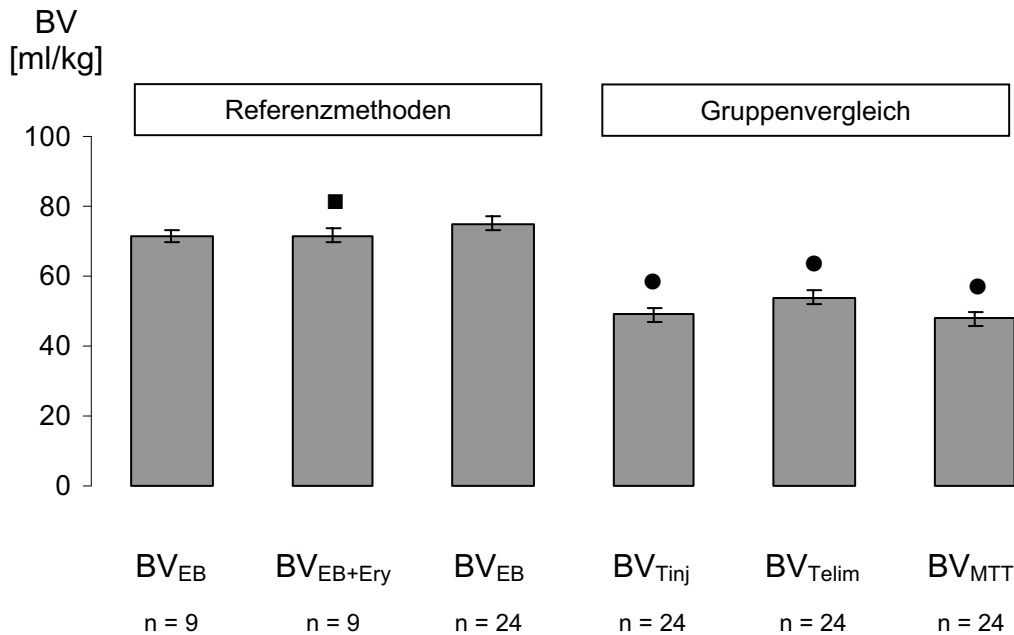


Abbildung 9: Vergleich der Blutvolumenbestimmungen

Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Methoden zur Blutvolumenbestimmung, dargestellt als Mittelwert \pm der Standardabweichung. Hierbei bedeutet ■ keinen signifikanten Unterschied zu BV_{EB} (n = 9), ● einen signifikanten Unterschied zu BV_{EB} (n = 24).

3.6 Hämodynamische Parameter

Die wesentlichen hämodynamischen (Blutdruck, Herzfrequenz, zentraler Venendruck, Hämatokrit) und metabolischen Parameter (pO₂, pCO₂, pH) waren während der gesamten Versuche im physiologischen Bereich (Tab.1).

| N | MAD [mmHg] | HF [min ⁻¹] | ZVD [mmHg] | pO ₂ [mmHg] | pCO ₂ [mmHg] | Hkt [%] | pH |
|----|---------------|----------------------------|---------------|---------------------------|----------------------------|------------|-----------------|
| 24 | 91 \pm 3 | 92 \pm 3 | 3 \pm 0,3 | 85 \pm 3 | 45 \pm 1 | 39 \pm 1 | 7,27 \pm 0,01 |

Tabelle 1: Hämodynamische Variablen

Hämodynamische Variablen mit mittlerem arteriellem Druck (MAD), zentraler Venendruck (ZVD), Herzfrequenz (HF) sowie partielle Blutgasdrücke (pO₂, pCO₂), Hämatokrit (Hkt) und pH während der Blutvolumenbestimmungen(mean \pm SEM).

4. Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die Blutvolumina, bestimmt mit ICG und Rückextrapolation (BV_{Tinj} und BV_{Telim}), sowie der mittleren Transitzeit (BV_{MTT}), gut miteinander korrelieren. Beide Methoden unterschätzen jedoch das Gesamtblutvolumen, verglichen mit dem Referenzverfahren (BV_{EB}), um annähernd den gleichen Betrag. Diese Beobachtungen legen nahe, dass die Ursachen für die Unterschätzung zum einen zu kurz bestimmte Transitzeiten (BV_{MTT}) und zum anderen falsch zu hoch berechnete Plasmakonzentrationen des verwendeten Plasmamarkers (BV_{Tinj} und BV_{Telim}) sind. Möglicher Grund hierfür kann die unvollständige Durchmischung des Indikators, insbesondere in langsam perfundierten Kompartimenten, während der 4 minütigen Registrierungszeit sein (zu hohe Plasmakonzentrationen). Ebenfalls tragen diese Kompartimente nicht signifikant zur mittleren Transitzeit bei (zu kurze Transitzeiten). Die Schlussfolgerungen aus den vorliegenden Ergebnissen beruhen in erster Linie auf der Annahme, dass die Blutvolumenbestimmung über die Verteilung von Evans Blau eine geeignete Referenzmethode darstellt und dass das Herzzeitvolumen mittels Ultraschallflussmessung ausreichend präzise bestimmt wurde.

Üblicherweise wird das Blutvolumen über die Verteilung geeigneter Plasma - und Erythrozytenmarker mit Hilfe des Hämatokrits berechnet. Eine mögliche Fehlerquelle dieser Methoden liegt in der Bestimmung des Hämatokrits. Dieser wird in der Regel aus Blutproben ermittelt, die aus einer großen Vene stammen. Hierbei wird jedoch der Gesamtkörperhämatokrit überschätzt. Der Unterschied zwischen venösem Hämatokrit und Körperhämatokrit erklärt sich dadurch, dass insbesondere in kleinen Gefäßen (Arteriolen, Kapillaren, Venolen) der Plasmaanteil prozentual höher ist als in größeren Blutgefäßen⁹. Überdies kann es zusätzlich bei der Zentrifugation der Blutproben zu Indikatorverlusten kommen, und zwar in dem Maße, in dem Farbstoffanteile zwischen den zentrifugierten Erythrozyten eingeschlossen sind und bei der anschließenden Konzentrationsmessung nicht mehr zur Verfügung stehen. Beide Ursachen zusammen können zu einer Überschätzung des Blutvolumens um bis zu 10% mittels Plasmamarker führen. Um diese Fehlerquellen zu eliminieren sollten sowohl das Plasmavolumen als auch das Erythrozytenvolumen unabhängig voneinander bestimmt werden. Dazu wurden in der vorliegenden Arbeit in 9 von 24

Experimenten die Volumina unabhängig voneinander ermittelt, d. h. durch separate Messung der ErythrozytENVOLUMEN und Plasmavolumen (BV_{EB+ERY}). Die daraus resultierenden Blutvolumina zeigten eine hohe Übereinstimmung zwischen BV_{EB} und BV_{EB+ERY} . Weiterhin stimmte das Verteilungsvolumen von Evans Blau gut mit denen, in der Literatur beschriebenen, überein^{4,34} und korrespondierte mit den Ergebnissen aus Ausblutungsexperimenten³⁸. Daher erschien es in den nachfolgenden Versuchen gerechtfertigt, anstelle von BV_{EB+ERY} als Referenzmethode ausschließlich BV_{EB} zu bestimmen.

Da die ICG-Konzentration nicht direkt intravasal gemessen werden kann, wird die Reflexions/Zeit-Kurve in eine Konzentrations/Zeit Kurve überführt. Dies erfolgt in der Regel gegen die simultan gemessene Thermodilutionskurve. Hieraus ergibt sich, dass die Bestimmung des Herzzeitvolumens ein weiterer wesentlicher Einflussfaktor für die Blutvolumenbestimmung mittels Massenerhaltungsgesetz ist. Obwohl die Thermodilution eine anerkannt und ausreichend präzise Methode zur Herzzeitvolumenmessung darstellt²², konnte in mehreren Untersuchungen gezeigt werden, dass hiermit das reale HZV unter verschiedensten Bedingungen nicht nur beim Menschen^{10,40}, sondern auch im Tierversuch^{20,39} überschätzt wird. Zu den methodenabhängigen Fehlerquellen der Thermodilution gehören zum einen Kälteverluste über die Katheterwand ins Blut während der Passage des Indikators durch den Katheter. Dies tritt insbesondere dann auf, wenn der Katheter über die Hinterläufe eines Versuchstieres vorgeschoben wurde. Ebenfalls ist die Applikationsgeschwindigkeit, Raumtemperatur sowie die Temperatur des applizierten Kältebolus entscheidend für die Höhe des ermittelten HZVs. Zum anderen sind es versuchstierabhängige Einflussfaktoren wie Herzklappendefekte, mechanische Beatmung oder ein erhöhtes HZV, beispielsweise unter körperlicher Betätigung²². Um diese möglichen Fehlerquellen auszuschließen, wurden in der vorliegenden Arbeit die Reflexions/Zeit-Kurven gegen das, mittels hochpräziser Ultraschallsensoren, simultan gemessene, HZV kalibriert. Die Sensoren wurden vor der Implantation und 3 Wochen nach der Implantation auf der Grundlage des Fick'schen Prinzips aus dem Sauerstoffverbrauch und der Differenz des arteriellen zum gemischt-venösen Sauerstoffgehalt kalibriert. In vorausgegangenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Ultraschallsensoren nach Implantation das HZV über mehrere Jahre präzise messen³⁰.

Weiterhin muss unter methodenkritischen Gesichtspunkten beachtet werden, dass während einer Aufzeichnungsperiode von 4 Minuten eine exakte Bestimmung des Blutvolumens nicht möglich sein sollte, da hierbei die grundsätzlichen Annahmen der Massenerhaltung verletzt werden. Grundvoraussetzung für die Anwendung des Massenerhaltungsgesetzes ist eine vollständige Durchmischung des Indikators in den Einzelkompartimenten und daraus folgend eine zu jedem Zeitpunkt, an jeder Stelle gleiche Konzentration. Veränderungen der Konzentration, wie z. B. durch Elimination einer Substanz, bewirken die Einstellung eines erneuten homogenen Gleichgewichtes und daraus resultierend anderen Blutvolumina.

Bereits während der 4-minütigen Registrierungsphasen wird der Indikator (ICG) eliminiert. Durch Rückextrapolation der virtuellen Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion soll diesem Indikatorverlust entgegengewirkt werden. Trotzdem führt auch die Rückextrapolationsmethode zu inkorrekten Werten und daraus resultierend, zu falsch niedrigen Blutvolumina. Insbesondere dann, wenn der verwendete Indikator eine kurze Halbwertszeit aufweist und schnell eliminiert wird³⁷. Unter diesen Voraussetzungen ist der Zeitpunkt, auf den rückextrapoliert wird, von besonderem Interesse (Zeitpunkt der Injektion oder Beginn der Elimination). Besonders während der steil abfallenden Anfangskonzentrationen des Farbstoffes (siehe Abb.4) führen geringe Änderungen des Rückextrapolationszeitpunktes zu beträchtlich anderen Farbstoffkonzentrationen und damit anderen Blutvolumen.

Unter der Annahme, dass der Indikatorverlust durch hepatische Elimination von ICG vor erstmaliger Leberpassage nur in geringem Maße auftritt, erfolgte in der vorliegenden Arbeit zusätzlich die Blutvolumenbestimmung durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der Elimination ($BV_{T_{elim}}$). Der Zeitpunkt der erstmaligen Leberpassage wurde definiert als $T_0 + 1/2$ MTT. Hierbei zeigte sich ebenfalls eine Unterschätzung des Blutvolumens im Vergleich zur Referenzmethode (BV_{EB}), wenn auch um etwa 10% reduziert.

So kann die Unterschätzung des Blutvolumens nicht ausschließlich durch die Rückextrapolation erklärt werden. Vielmehr ist davon auszugehen, dass die Verteilung des Indikators ICG in dem Beobachtungszeitraum von 4 Minuten in den

einzelnen Kompartimenten nicht homogen ist. Dies führt zu falsch hohen Plasmakonzentrationen und, daraus folgend, zu einem zu niedrig ermitteltem Blutvolumen.

In einer Studie, die die Durchmischungszeit und Eliminationsgeschwindigkeit von EB in unterschiedlichen Stadien des Schocks untersuchte, wurde bei der gesunden Kontrollgruppe im Mittel eine Durchmischungszeit von 8,9 Minuten gefunden²⁹. Je nach Trauma und Schockstadium verlängerte sich diese Zeit auf bis zu 14 Minuten. Wenn man diese Durchmischungszeiten auf ICG überträgt, ist davon auszugehen, dass am Ende der von uns gewählten 4-minütigen Registrierungsphase eine homogene Durchmischung des Indikators nicht angenommen werden kann. Dies gilt insbesondere für kleine in der Peripherie gelegene Blutgefäße. Durch diese unzureichende Durchmischung resultieren im zentralen Kreislauf hohe Plasmakonzentrationen mit daraus folgender Unterschätzung des gesamten Blutvolumens.

Weiterhin überrascht es, dass die Volumina, die mit dem Massenerhaltungsgesetz bei Schweinen ermittelt wurden²³, sich deutlich unterscheiden von denen, die in dieser Arbeit bei Hunden gemessen wurden. In der angegebenen Studie wurde das Blutvolumen mittels integriertem Fiberoptikkatheter und ICG als Plasmamarker verglichen mit der Standardmethode der Blutvolumenbestimmung, mittels photometrischer Messung der Konzentration von EB und ICG. Analog zur vorliegenden Arbeit wurde die plasmatische Konzentration von ICG über einen Zeitraum von 4 Minuten mit dem Fiberoptikkatheter registriert. Die Konzentrationen wurden nach der Standardmethode von EB über 17 Minuten und ICG über 16 Minuten gemessen. Somit können methodische Unterschiede bei den Registrierdauern diese Unterschiede nicht erklären. Das HZV zur Kalibrierung der Konzentrations/Zeit-Kurven wurde über das Thermodilutionsverfahren bestimmt. Der hierfür notwendige Katheter wurde über die Hinterläufe der Versuchstiere vorgeschoben. Eine mögliche Ursache für die Diskrepanz der ermittelten Blutvolumina könnte daher ein Wärmeverlust während der Passage des Kältebolus durch den Katheter, mit einer daraus resultierenden Überschätzung des HZVs, sein. So werden die ICG-Konzentrations/Zeit-Kurven fehlerhaft kalibriert und daraus ergeben sich *höhere* Blutvolumina. Dies erklärt größtenteils die Differenz von ca.

15% der ICG-Konzentration (Blutvolumina) zwischen intravaskulären und in vitro Messungen²³. Da in der vorliegenden Arbeit die Reflexions/Zeit-Kurven gegen das simultan gemessene HZV, mittels hoch präziser Ultraschallsensoren, kalibriert wurden, liegt der Hauptgrund für die Unterschätzung des Gesamtblutvolumens durch das Massenerhaltungsgesetz in erster Linie an der unvollständigen Durchmischung des Indikators während der initialen 4-minütigen Registrierungsphasen und nicht an der fehlerhaften Kalibrierung der Reflexions/Zeit-Kurven. Dies führt zu höheren ICG Plasmakonzentrationen im zentralen Kreislauf und entsprechend *kleineren* Blutvolumina.

Ähnlich wie das Massenerhaltungsgesetz unterschätzt die Transitzeitmethode im Tierversuch das Blutvolumen um ca. 40%, derselben Menge, wie sie beim Menschen beobachtet wurde¹⁹. Die Gründe für diese Fehleinschätzung liegen hauptsächlich an der Bestimmung der Transitzeit. In der vorliegenden Arbeit betrug sie nur 32s. Sie sollte jedoch nach Berechnungen aus dem Quotienten von BV_{EB} und der Bestimmung des HZV mittels Ultraschallsensoren 52s betragen. Weiterhin beträgt, sowohl in diesen Experimenten als auch in der Literatur das Blutvolumen von Hunden immer ca. $80\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ ⁴ und das HZV während einer Narkose ca. 80-100 $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ ^{30,33}. Wird dies alles berücksichtigt, sollte die MTT ca. 60s betragen und nicht nur 32s.

Diese eher zu kurzen Transitzeiten dürften ebenfalls aus der unvollständigen Durchmischung langsam perfundierter Kompartimente resultieren, da diese nicht signifikant zur Transitzeit beitragen, insbesondere während der ersten Minuten. Tatsächlich müssen längere Transitzeiten z.B. für den Gastrointestinaltrakt erwartet werden, da dies der einzige Bereich des Kreislaufs ist, bei dem zwei Organpassagen und zwei Kapillarbetten in Serie geschaltet sind.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass mit dem Indikator ICG sowohl die Transitzeitmethode als auch die Blutvolumenbestimmung nach dem Massenerhaltungsgesetz zu einer Unterschätzung des Blutvolumens um etwa 40% führt. Ursächlich hierfür sind zum einen zu kurz berechnete Transitzeiten (BV_{MTT}), sowie falsch zu hoch bestimmte Plasmakonzentrationen (BV_{Tinj}) des Indikators. Dies liegt an der unvollständigen Durchmischung des Indikators während der 4-minütigen

Registrierungszeit, so dass es unabhängig vom Analyseverfahren zu einer signifikanten Unterschätzung des gesamten Blutvolumens kommt. Das so ermittelte Volumen entspricht dem so genannten „zirkulierendem Blutvolumen“ und dieses repräsentiert nicht das Gesamtblutvolumen.

Zusammenfassung

Anhand von Experimenten am anästhesierten Hund sollte die Frage beantwortet werden, inwieweit das Blutvolumen mittels Massenerhaltungsgesetz unter Verwendung des Plasmamarkers Indozyanin Grün (ICG) durch Rückextrapolation der Konzentrations/Zeit-Kurve auf den Zeitpunkt der Injektion (BV_{Tinj}) und Elimination (BV_{Telim}) mit dem Transitzeitverfahren (BV_{MTT}) verglichen werden kann. Um mögliche Gründe für die Unterschiede beider Methoden besser identifizieren zu können, wurde das Herzzeitvolumen (HZV) sowie die mittlere Transitzeit (MTT) unabhängig voneinander bestimmt und die Ergebnisse mit den Blutvolumina, die aus der Dilution von Evans Blau (BV_{EB}) resultieren, verglichen.

Dazu wurden insgesamt 24 Versuche an 6 chronisch instrumentierten, anästhesierten, spontan atmenden Hunden durchgeführt. Vor Beginn der Versuchsreihe wurde den Tieren für die kontinuierliche Messung des Herzzeitvolumens Ultraschallsensoren um die Pulmonalarterie implantiert. Beide Carotisarterien wurden in Hautschlingen vorverlagert. Hierüber wurde ein Katheter zur kontinuierlichen Messung des arteriellen Blutdrucks und intermittierenden Blutentnahme, sowie ein Fiberoptikkatheter zur Registrierung der Reflexions/Zeit-Kurven plaziert.

Die Aussagen stützen sich auf die Analyse der Reflexions/Zeit-Kurven, die über 4 Minuten nach Injektion von ICG aufgezeichnet und gegen das simultan gemessene HZV in Konzentrations/Zeit-Kurven überführt wurden. Aus diesen Kurven erfolgte durch Rückextrapolation der virtuellen Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion (BV_{Tinj}) sowie Elimination (BV_{Telim}) die Blutvolumenbestimmung. Für das Transitzeitverfahren (BV_{MTT}) wurde aus den Kurven die mittlere Transitzeit des Indikators durch den Körper ermittelt und mit Hilfe des Herzzeitvolumens das Blutvolumen berechnet. Zusätzlich wurde als Referenz das Blutvolumen nach Injektion von Evans Blau bestimmt. Photometrisch wurde hierfür die Plasmakonzentration des Indikators ermittelt, welche aus Blutproben stammen, die über 64 Minuten (6, 8, 16, 20, 24, 32 und 64 Minuten) entnommen wurden. Die daraus resultierenden Konzentrations/Zeit-Kurven wurden durch Rückextrapolation der virtuellen Konzentration zum Zeitpunkt der Injektion zur Volumenbestimmung

verwendet. Um mögliche Fehler durch die Hämatokrit-Bestimmung zu eliminieren, wurde das Blutvolumen zusätzlich in 9 von 24 Experimenten als Summe des Plasmavolumen und Erythrozytenvolumen bestimmt. Hierfür wurden Erythrozyten mit Fluorescein Isothiocyanat markiert und der Konzentrationsverlauf über einen Zeitraum von 65 Minuten (7, 9, 13, 17, 21, 25, 33 und 65 Minuten) mit Hilfe der Durchflusszytometrie ermittelt. Die Konzentrations/Zeit-Kurven wurden wie für EB auf den Zeitpunkt der Injektion rückextrapoliert.

Es konnte gezeigt werden, dass die Blutvolumina, die mittels Massenerhaltungsgesetz unter Verwendung von Evans Blau ($BV_{EB} 71,4 \pm 1,9 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$) bestimmt wurden, gut mit denen übereinstimmen, die aus der Summe des separat gemessenen Plasmavolumen und Erythrozytenvolumen ($BV_{EB+Ery} 71,6 \pm 2,1 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$) resultierten. Unter Verwendung von ICG ergaben beide Analyseverfahren annähernd gleiche Volumina ($BV_{Tinj} 49 \pm 2$ vs $BV_{MTT} 48 \pm 2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$). Im Vergleich zu Evans Blau resultierte eine signifikante Unterschätzung ($P < 0,05$) des Blutvolumens um etwa 40%. Erfolgte die Rückextrapolation auf den Zeitpunkt der Elimination ($BV_{Telim} 54 \pm 2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$) hielt die Unterschätzung, wenn auch reduziert um 10%, an.

Die wesentlichen Ergebnisse sind folgende:

1. Die Blutvolumina, bestimmt mittels Massenerhaltungsgesetz, unter Verwendung von ICG durch Rückextrapolation zum Zeitpunkt der Injektion (BV_{Tinj}) sind übereinstimmend mit denen, aus dem Transitzeitverfahren (BV_{MTT}).
2. Verglichen mit der Referenzmethode (BV_{EB}) unterschätzen beide Methoden das Blutvolumen um ca. 40%.
3. Erfolgt die Rückextrapolation auf den Zeitpunkt der ICG-Elimination, zeigt sich ebenfalls eine Unterschätzung des Blutvolumens, wenn auch um 10% reduziert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass mit dem Indikator ICG sowohl die Transitzeitmethode als auch die Blutvolumenbestimmung mit dem Massenerhaltungsgesetz zu einer signifikanten Unterschätzung des Gesamtblutvolumens führt. Verantwortlich hierfür sind zum einen zu kurz berechnete

Transitzeiten sowie zu hohe Plasmakonzentrationen des Indikators in dem Beobachtungszeitraum von 4 Minuten. Auch wenn die Rückextrapolation auf den Zeitpunkt der Elimination erfolgt, hält die Unterschätzung an, wenn auch reduziert um 10%. Ursächlich für diese Diskrepanz sind langsam perfundierte Kompartimente, in denen sich der Indikator während der 4-minütigen Registrierungsphase nicht homogen verteilt. Dies führt zu falsch hohen Plasmakonzentrationen im zentralen Kreislauf und, daraus resultierend, zu einer Unterschätzung des Blutvolumens. Ebenfalls tragen diese Kompartimente nicht wesentlich zur mittleren Transitzeit bei, was zu falsch niedrig bestimmten Transitzeiten führt.

Priv.-Doz. Dr. med. Olaf Picker

5. Literaturverzeichnis

1. Recommended methods for measurement of red-cell and plasma volume: International Committee for Standardization in Haematology. *J Nucl Med.* 1980;21:793-800.
2. Standard techniques for the measurement of red-cell and plasma volume. A report by the International Committee for Standardization in Hematology (ICSH): Panel on Diagnostic Applications of Radioisotopes in Haematology. *Br J Haematol.* 1973;25:801-14.
3. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet.* 1986;1:307-10.
4. Bonnycastle D. CR. A study on the blood volume of a group of untrained normal dogs. *American Journal of Physiology.* 1942:380-383.
5. Bradley EC, Barr JW. Determination of blood volume using indocyanine green (cardio-green) dye. *Life Sci.* 1968;7:1001-7.
6. Cherrick GR, Stein SW, Leevy CM, Davidson CS. Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *J Clin Invest.* 1960;39:592-600.
7. Christensen P, Waever Rasmussen J, Winther Henneberg S. Accuracy of a new bedside method for estimation of circulating blood volume. *Crit Care Med.* 1993;21:1535-40.
8. Dingley J, Foex BA, Swart M, Findlay G, DeSouza PR, Wardrop C, Willis N, Smithies M, Little RA. Blood volume determination by the carbon monoxide method using a new delivery system: accuracy in critically ill humans and precision in an animal model. *Crit Care Med.* 1999;27:2435-41.
9. Dissmann T, Gotzen R, Neuber K, Offermann B, Schwab M. [Erythrocyte and plasma volume as well as the relationship between body hematocrit and venous hematocrit in various stages of essential and renovascular hypertension]. *Klin Wochenschr.* 1971;49:915-27.
10. Espersen K, Jensen EW, Rosenborg D, Thomsen JK, Eliassen K, Olsen NV, Kanstrup IL. Comparison of cardiac output measurement techniques: thermodilution, Doppler, CO₂-rebreathing and the direct Fick method. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1995;39:245-51.
11. Farjanel J, Denis C, Chatard JC, Geysant A. An accurate method of plasma volume measurement by direct analysis of Evans blue spectra in plasma without dye extraction: origins of albumin-space variations during maximal exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1997;75:75-82.
12. Freinkel N, Schreiner GE, Athens JW. Simultaneous distribution of T-1824 and I¹³¹ labelled human serum albumin in man. *J Clin Invest.* 1953;32:138-48.
13. Gibson J, Evans W. Clinical studies of the blood volume: application of a method employing the azo dye Evans blue and the spectrophotometer. *J Clin Invest.* 1937;16:301.
14. Gray SJ, Sterling K. Determination of circulating red cell volume by radioactive chromium. *Science.* 1950;112:179-80.
15. Gregersen M, Gibson J, Stead E. Plasma volume determination with dyes; errors in calorimetry; use of the blue dye T-1824. *Am J Physiol.* 1935;133:54.
16. Gregersen MI, Rawson RA. The disappearance of T-1824 and structurally related dyes from the blood stream. *Am J Physiol.* 1942;113:698-707.

17. Haller M, Akbulut C, Brechtelsbauer H, Fett W, Briegel J, Finsterer U, Peter K. Determination of plasma volume with indocyanine green in man. *Life Sci.* 1993;53:1597-604.
18. Haruna M, Kumon K, Yahagi N, Watanabe Y, Ishida Y, Kobayashi N, Aoyagi T. Blood volume measurement at the bedside using ICG pulse spectrophotometry. *Anesthesiology.* 1998;89:1322-8.
19. Hoefft A, Schorn B, Weyland A, Scholz M, Buhre W, Stepanek E, Allen SJ, Sonntag H. Bedside assessment of intravascular volume status in patients undergoing coronary bypass surgery. *Anesthesiology.* 1994;81:76-86.
20. Hsia CC, Herazo LF, Ramanathan M, Johnson RL, Jr. Cardiac output during exercise measured by acetylene rebreathing, thermodilution, and Fick techniques. *J Appl Physiol.* 1995;78:1612-6.
21. Iijima T, Iwao Y, Sankawa H. Circulating blood volume measured by pulse dye-densitometry: comparison with (131)I-HSA analysis. *Anesthesiology.* 1998;89:1329-35.
22. Jansen JR. The thermodilution method for the clinical assessment of cardiac output. *Intensive Care Med.* 1995;21:691-7.
23. Kisch H, Leucht S, Lichtwarck-Aschoff M, Pfeiffer UJ. Accuracy and reproducibility of the measurement of actively circulating blood volume with an integrated fiberoptic monitoring system. *Crit Care Med.* 1995;23:885-93.
24. Kuhnle GE, Leipfinger FH, Goetz AE. Measurement of microhemodynamics in the ventilated rabbit lung by intravital fluorescence microscopy. *J Appl Physiol.* 1993;74:1462-71.
25. Lassen N. PW. Tracer kinetic methods in medical physiology. *Raven, New York.* 1979.
26. Lauer mann I. [A new method for the determination of circulating blood volume-erythrocyte marking with sodium fluorescein]. *Infusionstherapie.* 1991;18:130-6.
27. Lauer mann I, Hecker, H., Kirchner, E. Erstellung von Blutvolumenreferenzwerten für erythrozytenmarkierende Indikatorverdünnungsmethoden anhand von Literaturdaten. *Infusionsther Transfusionsmed.* 1999;26:360-366.
28. Lauer mann I, Wilhelm G, Kirchner E. Blood volume determination with sodium fluorescein and radioactive chromium--a clinical comparison of methods. *Infusionsther Transfusionsmed.* 1994;21:138-42.
29. Noble RP, Gregersen MI, Porter PM, Buckman A. Blood Volume in Clinical Shock. I. Mixing Time and Disappearance Rate of T-1824 in Normal Subjects and in Patients in Shock; Determination of Plasma Volume in Man from 10-Minute Sample. *J Clin Invest.* 1946;25:158-71.
30. Picker O, Schindler A, Scheeren TW. Accuracy and reproducibility of long-term implanted transit-time ultrasound flow probes in dogs. *Intensive Care Med.* 2000;26:601-7.
31. Rawson RA. The binding of T-1824 and structurally related diazo dyes by the plasma proteins. *Am J Physiol.* 1942;138:708-717.
32. Schad H, Haider M, Brechtelsbauer H. [Determination of plasma volume with indocyanine green]. *Anaesthesist.* 1987;36:608-14.
33. Scheeren TW, Schwarte LA, Arndt JO. Metabolic regulation of cardiac output during inhalation anaesthesia in dogs. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1999;43:421-30.
34. Schmidt. Das Blutvolumen. *Ergeb Inneren Med Kinderheilkd.* 1968;27:153-249.
35. Schmidt T. Physiologie des Menschen. 1995;26.Auflage:780.

36. Schorn B. Untersuchungen zum perioperativen intra- und extravaskulären Volumenstatus herzchirurgischer Patienten. *Habilitationsschrift, Universität Göttingen*. 1995:27-32.
37. Schroder T, Rosler U, Frerichs I, Hahn G, Ennker J, Hellige G. Errors of the backextrapolation method in determination of the blood volume. *Phys Med Biol*. 1999;44:121-30.
38. Steiner J. Blut und Blutbewegungen. *Steiner J Physiologie des Menschen*. 1898:31-79.
39. Tournadre JP, Chassard D, Muchada R. Overestimation of low cardiac output measured by thermodilution. *Br J Anaesth*. 1997;79:514-6.
40. van Grondelle A, Ditchey RV, Groves BM, Wagner WW, Jr., Reeves JT. Thermodilution method overestimates low cardiac output in humans. *Am J Physiol*. 1983;245:H690-2.
41. van Leersum E. Eine Methode zur Erleichterung der Blutdruckmessung bei Tieren. *Pflügers Arch*. 1911;142:377-395.

6. Danksagung

Ich danke Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Olaf Picker, Klinik für Anästhesiologie der Universitätsklinik Düsseldorf, für seine Unterstützung während aller Phasen der Entstehung dieser Dissertation.

Ebenfalls gilt mein Dank Frau Birgitt Berke und Frau Antje Nebert für die Anleitung in die Registrier- und Auswerttechniken, sowie der Hilfe während der Durchführung der Experimente und der späteren Auswertung.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern, von denen ich während des Studiums positive Bestärkung, Rückhalt sowie Unterstützung erhalten habe.

7. Lebenslauf

Martina Emma Hanni Schüürmann
Gladbacherstraße 10
40219 Düsseldorf
Deutschland

Düsseldorf, 18.09.2008

05.02.1971 geboren in Nordhorn

Schulbildung

| | |
|-------------|-------------------------------|
| 1977 – 1981 | Waldschule in Nordhorn |
| 1981 – 1982 | Orientierungsstufe |
| 1982 – 1987 | Freiherr-vom-Stein Realschule |
| 1987 – 1990 | Fachgymnasium Hauswirtschaft |
| 1990 | Abitur |

Ausbildung zur Krankenschwester

| | |
|-------------|--|
| 1990 – 1993 | Marienkrankenhaus Nordhorn |
| 1993 | Berufsabschluss Staatlich examinierte Krankenschwester |

Hochschulausbildung

| | |
|-------------|---|
| 1997 – 2003 | Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf |
| 03/1999 | Ärztliche Vorprüfung |
| 03/2000 | Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| 09/2002 | Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |
| 10/2003 | Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung |

Beruflicher Werdegang

| | |
|-------------|--|
| 1993 – 1996 | Städtische Kliniken Osnabrück |
| 1996 – 2003 | Marienhospital Düsseldorf |
| 2004 – 2008 | Klinikum Krefeld, Neurologie |
| 2008 – lfd. | St. Alexius Krankenhaus Neuss, Psychiatrie |

Martina Schüürmann

Vergleich von Indikatorverteilungs- und Transitzeitverfahren zur Blutvolumenbestimmung

Anhand von Experimenten am anästhesierten Hund sollte die Frage beantwortet werden, inwieweit das Blutvolumen mittels Massenerhaltungsgesetz unter Verwendung von Indozyanin Grün (ICG) durch Rückextrapolation der Konzentrations/Zeit-Kurve zum Zeitpunkt der Injektion (BV_{Tinj}) und Elimination (BV_{Telim}) mit dem Transitzeitverfahren (BV_{MTT}) verglichen werden kann. Um mögliche Gründe für die Unterschiede beider Methoden besser identifizieren zu können, wurde das HZV sowie die MTT unabhängig bestimmt und die Ergebnisse mit den Blutvolumina, die aus der Dilution von Evans Blau (BV_{EB}) resultieren, verglichen.

Die Ergebnisse stammen von insgesamt 24 Versuchen, durchgeführt an 6 chronisch instrumentierten, anästhesierten, spontan atmenden Hunden, welche wiederholt untersucht wurden.

Die Aussagen stützen sich auf die Analyse der ermittelten Konzentrations/Zeit-Kurven für ICG und EB, dem Hämatokrit, der mittleren Transitzeit und dem Herzzeitvolumen.

Es konnte gezeigt werden, dass mit dem Indikator ICG sowohl die Transitzeitmethode ($BV_{MTT} 48 \pm 2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$) als auch die Blutvolumenbestimmung nach dem Massenerhaltungsgesetz ($BV_{Tinj} 49 \pm 2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$) zu einer Unterschätzung des Blutvolumens, verglichen mit dem Referenzverfahren ($75 \pm 2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$), führt. Ursächlich hierfür sind zum einen zu kurz berechnete Transitzeiten (BV_{MTT}) sowie falsch zu hoch bestimmte Plasmakonzentrationen (BV_{Tinj}) des Indikators. Dies liegt an der unvollständigen Durchmischung des Indikators während der 4-minütigen Registrierungszeit, so dass es unabhängig vom Analyseverfahren zu einer signifikanten Unterschätzung des gesamten Blutvolumens kommt.

Priv.-Doz. Dr. med. Olaf Picker