

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. van Aken

Die Einflüsse auf die arteriovenöse
Carboxyhämoglobin (COHb) - Differenz im Blut
von chronisch instrumentierten Hunden im
Vergleich zum Menschen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des doctor medicinae
der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von
Wack, Johannes Michael
aus München
2005

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. T. P. Weber

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. U. R. Liljenqvist

Tag der mündlichen Prüfung: 23.03.05

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. van Aken-
Referent: Priv.-Doz. Dr. med. T. P. Weber
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. U. R. Liljenqvist

ZUSAMMENFASSUNG

Die Einflüsse auf die arteriovenöse Carboxyhämoglobin (COHb) - Differenz im Blut von chronisch instrumentierten Hunden im Vergleich zum Menschen

Wack, Johannes Michael

Beim Häm-Abbau durch das Enzym Hämoxygenase (HO) entsteht neben Biliverdin auch Kohlenmonoxid (CO). HO ist nicht nur ein Enzym, sondern auch ein Hitzeschockprotein (HSP 32), was u.a. auch bei entzündlichen Lungenerkrankungen vermehrt gebildet wird. Als Korrelat findet man daher eine Erhöhung des exhalierten CO und einen Anstieg des arteriellen COHb, im Vergleich zu gesunden Probanden. Auffällig ist jedoch, dass im Menschen das venös gemessene COHb immer niedriger ist im Vergleich zum arteriell bestimmten. Diese arteriovenöse COHb-Differenz kann Ausdruck einer pulmonalen CO-Produktion oder auch nur ein einfacher gerätebedingter Messfehler sein. Diese Hypothesen wurden in drei verschiedenen Untersuchungsansätzen überprüft:

1. Ist die arteriovenöse COHb-Differenz auch im chronisch instrumentierten Hund unter Allgemeinanästhesie reproduzierbar?
2. Führt eine Induktion eines hyperoxischen Lungenschadens durch eine Beatmung mit 100% O₂ und damit die Induktion von HSP 32 zu einem Anstieg der arteriovenösen COHb-Differenz?
3. Ist die arteriovenöse COHb-Differenz im Menschen auch mit der neuen Generation an Blutgaseanalytoren des Typs ABL 700 von Radiometer nachweisbar?

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigten eindeutig, dass die im Menschen beschriebene arteriovenöse COHb-Differenz auch im Tierversuch nachweisbar ist. Weiterhin kam es während der Beatmung mit 100% O₂, ebenfalls im chronisch instrumentierten Hund, zu einem Anstieg der arteriovenösen COHb-Differenz. Diese Differenz kam allerdings nicht durch den erwarteten, aber nicht entstandenen, arteriellen COHb-Anstieg zustande, sondern durch einen Abfall der COHb-Werte im venösen Blut. Dieser Abfall korrelierte direkt mit dem Abfall der venösen Sättigung. Mit der neuen Generation an Blutgaseanalytoren des Typs ABL 700 war die arteriovenöse COHb-Differenz im menschlichen Blut, nach spezieller SAT 100 Eichung durch die Firma Radiometer, nicht mehr nachweisbar. Die Instrumentierungen der Versuchstiere und die Versuche wurden durch die Bezirksregierung Münster (Aktenzeichen: 23.0835.1.0 (G 36/98) vom 6.11.1998 bzw. 23.0835.1.0 (G 59/99) vom 30.09.1999) genehmigt.

Aufgrund unserer Untersuchungen ist die in früheren Untersuchungen beschriebene arteriovenöse COHb-Differenz im Menschen am ehesten Ausdruck einer gerätebedingten Messungenauigkeit und beruht nicht auf einer vermuteten pulmonalen CO-Bildung.

Tag der mündlichen Prüfung: 23.03.05

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
HYPOTHESEN	7
2. METHODIK.....	9
2.1 ALLGEMEINE ÜBERSICHT.....	9
2.2 UNTERSUCHUNG I.....	10
2.2.1 <i>Untersuchungsdesign I</i>	10
2.2.2 <i>Untersuchungsvorbereitung I</i>	11
2.2.3 <i>Untersuchungsdurchführung I</i>	15
2.2.4 <i>Verwendete Messgeräte und Messprinzipien</i>	17
2.3 UNTERSUCHUNG II.....	24
2.3.1 <i>Untersuchungsdesign II</i>	24
2.3.2 <i>Untersuchungsvorbereitung</i>	24
2.3.2 <i>Untersuchungsvorbereitung</i>	25
2.3.3 <i>Untersuchungsdurchführung II</i>	25
2.3.4 <i>Verwendete Messgeräte und Messprinzipien</i>	29
2.4 UNTERSUCHUNG III.....	32
2.4.1 <i>Untersuchungsdesign III</i>	32
2.4.2 <i>Untersuchungsdurchführung III</i>	34
2.5 DATENERFASSUNG UND STATISTISCHE AUSWERTUNG	35
2.5.1 <i>Statistische Auswertung Untersuchung I und II</i>	35
2.5.2 <i>Statistische Auswertung Untersuchung III</i>	35
3. ERGEBNISSE	36
3.1 UNTERSUCHUNG I	36
3.1.1 <i>Hämodynamikparameter</i>	36
3.1.2 <i>COHb-Messwerte</i>	38
3.1.3 <i>Sauerstoffsättigung</i>	41
3.1.4 <i>CO-Gas-Bestimmungen</i>	43
3.2 UNTERSUCHUNG II.....	44
3.2.1 <i>Induktion eines hyperoxischen Lungenschadens</i>	44
3.2.2 <i>Hämodynamikparameter, Laborwerte und Temperatur</i>	44
3.2.3 <i>COHb-Werte</i>	44
3.2.5 <i>Sauerstoffsättigung</i>	49
3.4 UNTERSUCHUNG III.....	51
3.4.1 <i>Kohlenmonoxid-Hämoglobin in menschlichem Blut</i>	51
4. DISKUSSION	53
4.1 ALLGEMEINE DISKUSSION.....	53
4.2 DISKUSSION DES VERSUCHSABLAUFES	56
5. LITERATURVERZEICHNIS	61
LEBENS LAUF	69

1. Einleitung

Kohlenmonoxid ist ein farb- und geruchloses Gas, welches unter bestimmten Bedingungen sogar brennbar ist. Synonym für Kohlenmonoxid ist auch der Ausdruck Kohlenoxid oder die chemische Bezeichnung CO. Kohlenmonoxid entsteht sowohl auf natürliche Weise, als auch als künstliches Nebenprodukt bei unvollständigen Verbrennungsvorgängen. Natürlicherweise ist Kohlenmonoxid beispielsweise in Grubengasen und Vulkangasen enthalten. Künstliche Gase, die Kohlenmonoxid enthalten können, sind unter anderem Generatorabgase, Automobilabgase, Abgase von Kohlekraftwerken und Müllverbrennungsanlagen, Rauch von Schwelbränden und Ofenrauch. Das unsichtbare Gas Kohlenmonoxid hat seine hauptsächliche medizinische Bedeutung dadurch erlangt, dass es zu lebensbedrohlichen Intoxikationen beim Menschen führen kann. Die häufigsten Ursachen für Kohlenmonoxidvergiftungen sind unvollständige Verbrennungsvorgänge, bei gleichzeitig ungenügender Frischluftzufuhr. Lebensbedrohende Kohlenmonoxidintoxikationen können aber auch durch den Einsatz von Stromgeneratoren oder gasbetriebenen Heißwasserboilern in Badezimmern entstehen. Auffällig sind bei allen Todesopfern die typischen kirschroten Totenflecke. Pathophysiologische Ursache für die Toxizität von Kohlenmonoxid ist hauptsächlich, allgemein ausgedrückt, die Blockade der Sauerstoff (O₂)-Transportkapazität des Hämoglobins. Die Affinität von CO an Hämoglobin ist mindestens 300mal größer als die von Sauerstoff. CO-Gas ist bereits bei kleinsten Partialdrücken in der Lage, Hämoglobin in CO-Hämoglobin umzuwandeln: $\text{Hb} + \text{CO} \rightleftharpoons \text{COHb}$ [17]. Das Reaktionsgleichgewicht ist dabei stark auf die rechte Seite der Gleichung verlagert. Die hohe Affinität von CO zu Hämoglobin ist darauf zurückzuführen, dass CO sehr viel langsamer als O₂ aus der Hb-Bindung freigegeben wird [12]. Diese hohe Affinität ist auch die Ursache für die hohe Toxizität dieses farb- und geruchlosen Gases. Sehr geringe Kohlenmonoxidkonzentrationen in der Atemluft reichen aus um Sauerstoff aus der Hämoglobinbindung zu verdrängen und auf diese Weise den Blutfarbstoff für den O₂-Transport zu blockieren. Normalerweise liegt 1% des

Hämoglobins im Blut als Carboxyhämoglobin (COHb) vor; bei Rauchern findet man abends bis zu 15% COHb [67] in der Blutgasanalyse. Für die Toxizität des CO-Gases ist neben der Blockierung des Hämoglobins noch ein weiterer Faktor maßgebend, der die Sauerstoffbindungskurve betrifft. Wenn ein Teil des Hämoglobins in COHb umgewandelt ist, weist das noch unblockierte Hämoglobin eine nach links verlagerte Sauerstoffbindungskurve (Abbildung 1) auf [12]. Die Sauerstoffabgabe in den Geweben wird dadurch behindert, wodurch die O_2 -Partialdrücke in den Gewebekapillaren noch weiter absinken [53]. Es kommt zu einer Sauerstoffunterversorgung im Gewebe, d.h. zu einer Gewebshypoxie.

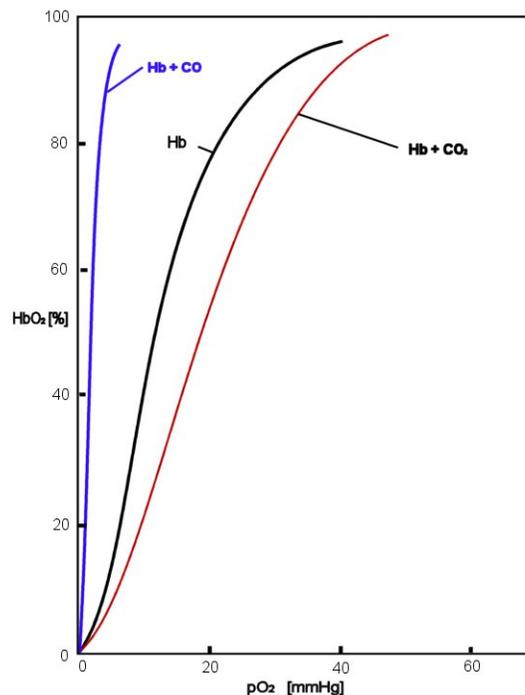


Abbildung 1: Sauerstoffbindungskurve für freies Hämoglobin (schwarz), Kohlendioxid-Hämoglobin (Hb+CO₂, rot) und Carboxyhämoglobin (Hb+CO, blau). Wenn ein Teil des Hämoglobins in COHb umgewandelt ist, weist das noch unblockierte Hämoglobin eine nach links verlagerte Sauerstoffbindungskurve auf

Daneben hat Kohlenmonoxid noch eine weitere medizinische Bedeutung. Bereits im späten 19. Jahrhundert war bekannt, dass CO im Blut gesunder Menschen und

Tiere vorkommt [22]. Allerdings konnte man sich damals die Herkunft des Gases im Blut nicht erklären. Unklar war, ob CO inhalativ über die Atemluft in den Körper aufgenommen würde oder ob evtl. CO im Körper selbst produziert wird. Erst 1962 gelang Coburn et al. der Beweis, dass Kohlenmonoxid im menschlichen Körper gebildet wird [11]. Coburn et al. ließen Versuchspersonen ihre eigene Luft (gereinigt von CO₂ und angereichert mit reinem O₂ < 0,00001% CO) über 2-5 Stunden einatmen. Coburn et al. beobachteten, dass im Laufe der Versuchsdauer der venöse COHb anstieg, obwohl kein CO von außen in das geschlossene Atmungssystem ihrer Versuchsanordnung eindringen konnte. Die Hypothese der endogenen Produktion von CO wurde später in zahlreichen Studien bestätigt [37]. 1968 deckten Tenhunen et al. [59] bei der Untersuchung des Häm-Stoffwechsels den Entstehungsmechanismus des endogenen CO auf. Kohlenmonoxid wird beim Abbau des Häm-Ringes freigesetzt. Katalysierendes Enzym bei diesem ersten Schritt des Häm-Abbaus ist die Hämoxygenase (HO) (Abbildung 2). Eisen und Kohlenmonoxid werden dabei in äquimolaren Mengen freigesetzt.

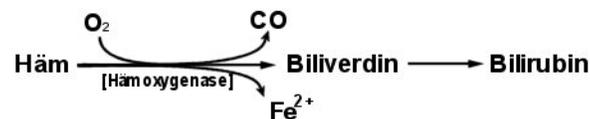


Abbildung 2: Häm wird unter CO-Freisetzung durch das Enzym Hämoxygenase zu Biliverdin katalysiert

Von der Hämoxygenase sind drei Isoenzyme identifiziert und geklont worden [37,39,41]. Das erste Isoenzym, die Hämoxygenase-1 (HO-1) ist als das Hitze-Schock-Protein 32 (HSP 32) identifiziert worden. HO-1 kann induziert werden durch Hämoglobin, Komplementaktivierung, oxidativen Stress [27], Hyperthermie [57], Interleukine [7], Tumor-Nekrose-Faktor α [7], durch Metallionen, durch Endotoxine [20], durch Zytokine, Interferon γ , NO und H₂O₂ und andere pathologische Zustände, wie z.B. thermische Schäden, Ischämien, ultraviolette Strahlung [28], Hypoxie und hyperoxische Zellschäden [5,8,38]. Die HO-Aktivität kann mit Steroiden [19,34] oder Prostaglandinen [21] gehemmt werden.

Während HO-1, wie oben erwähnt, induzierbar ist, gilt dies nicht für HO-2 und das zuletzt entdeckte Isoenzym Hämoxigenase 3 (HO-3) [16]. Hämoxigenase wurde in fast allen Organen nachgewiesen, wobei sich erwartungsgemäß besonders hohe Konzentrationen von HO-1 in blutreichen Organen wie Leber und Milz befinden. Diese Organe sind für den Häm-Abbau des Hämoglobins aus den roten Blutkörperchen hauptsächlich verantwortlich. Weiterhin findet man HO-1 in Gehirn, Lunge und Niere [60]. Die höchsten Hämoxigenase-2 (HO-2) Konzentrationen sind im Gehirn, in bestimmten Zellen des autonomen Nervensystems, in Endothelzellen und Nerven der Adventitia von Blutgefäßen nachgewiesen worden [37,66]. HO-3 findet man vor allem in Milz, Leber, Thymus, Prostata, im Herz, im Gehirn und in den Hoden [41]. Bei vielen physiologischen und pathophysiologischen Vorgängen spielen CO und HO-1 eine wichtige regulierende Rolle, z. B. beim septischen Schock [47], bei der Blutdruckregulation [51], bei der Regulierung der organeigenen Gefäßwiderstände, als Neurotransmitter [44], als Regulator bei der zerebralen Durchblutung [29], bei der Plättchenaktivierung, bei der Relaxation weicher Muskelzellen [44,62], bei der Zellapoptose [55] und bei oxidativem Stress [44].

In klinischen Studien konnte nachgewiesen werden, dass bei bestimmten Erkrankungen CO-, HO-1- und COHb-Konzentrationen in Patienten nachweisbar erhöht sind. Asthmatische Patienten hatten beispielsweise höhere CO-Konzentrationen in der Ausatemluft als die Patienten der gesunden Kontrollgruppe [23,26,68]. Auch bei Patienten mit Bronchiektasien [24] und Mukoviszidose [49], sowie auch bei weniger schweren Krankheiten wie Infekten des oberen Respirationstraktes [65] und Heuschnupfen [43] konnte vermehrt CO in der Ausatemluft gemessen werden. Bei Intensivpatienten konnte nachgewiesen werden, dass diese Patientengruppe insgesamt mehr CO abatmet als Personen aus einer gesunden Vergleichsgruppe [52].

Daneben scheint nicht nur vermehrt anfallendes CO an sich, sondern auch das konsekutiv erhöhte COHb evtl. als Indikator bei kritisch kranken Patienten

einsetzbar zu sein. So konnten HUNTER et al. zeigen, dass arteriell gemessenes COHb bei schwerkranken Patienten mit erhöhtem APACHE II-Score (=ein Maß für den Schweregrad von physiologischem Stress [4]) erhöht ist [25], und der Anstieg der arteriellen COHb-Konzentration bei schwerkranken Patienten sowohl mit dem APACHE II-Score, als auch mit der Höhe der Leukozytenzahl direkt korreliert.

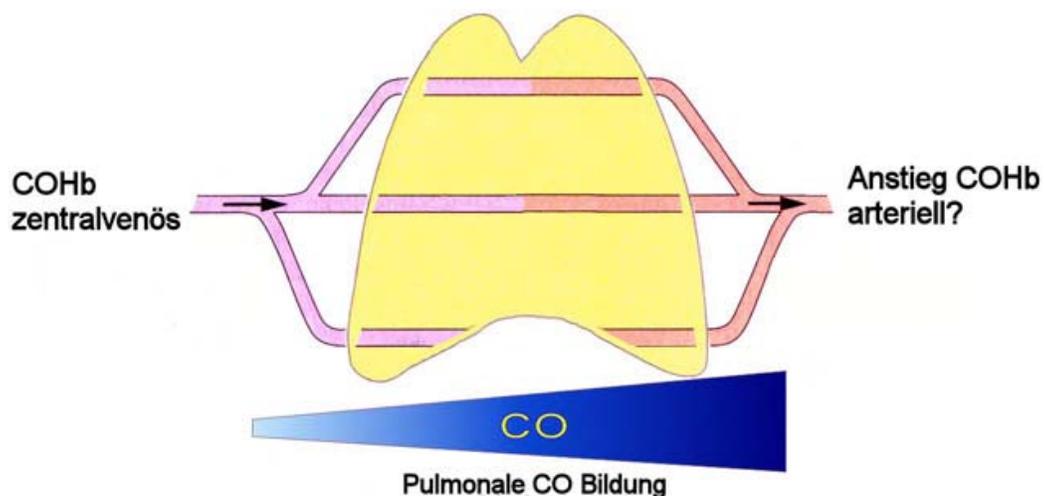
Viele Organe können CO produzieren, sogar die Lunge selbst. Die Induktion von HO-1 in der Lunge wurde in vielen Tiermodellen, bei denen experimentell ein Lungenschaden induziert wurde, nachgewiesen werden. In diesen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass Hyperoxie, Endotoxämie, das Zytostatikum Bleomycin, Asthma bronchiale, eine akute Komplementfaktor-Abhängige-Lungenentzündung und Schwermetalle eine HO-1 Produktion in der Lunge induzieren [6,46]. Die Arbeiten von MEYER et al. lassen vermuten, dass die pulmonale CO-Produktion so groß ist, dass sie mit normalen Blutgasanalysegeräten durch einen Anstieg von COHb indirekt messbar sein könnte. MEYER et al. konnten bei gesunden Patienten nachweisen, dass der venöse, rechtsatriale und damit präpulmonal gemessene COHb-Wert niedriger ist als der arterielle [42]. Die Autoren sahen die Ursache für diese arteriovenöse COHb-Differenz in einer pulmonalen CO-Produktion. LEE et al. konnten an der Rattenlunge [35] eine pulmonale CO-Produktion nachweisen. LEE et al. induzierten einen hyperoxischen Lungenschaden an der Ratte und untersuchten die Regulation der Hämoxxygenase-1-Expression. Sie stellten erhöhte HO-1-mRNA-Spiegel in der Rattenlunge nach Hyperoxie fest. Die erhöhte HO-1-mRNA-Expression korrelierte mit erhöhtem HO-1-Proteingehalt und erhöhter Enzymaktivität. Auch immunhistochemisch wurden die erhöhten HO-1-Konzentrationen in verschiedenen Zelltypen nachgewiesen, einschließlich von Zellen des Entzündungssystems, des Bronchoalveolarepithels und in interstitiellen Zellen.

Viele experimentell erhobene Daten, sowie auch Daten aus klinischen Studien, belegen die Hypothese, dass eine pulmonale CO-Bildung existiert. Dies scheint

anhand konsekutiv erhöhter COHb-Werte in der arteriellen BGA, d.h. nach der Lungenpassage gemessen, im Vergleich zu den etwas niedrigeren COHb-Werten im venösen Blut und damit präpulmonalen COHb-Konzentrationen zum Ausdruck zu kommen.

Hypothesen

1. **Die im zentralvenösen Blut gemessenen COHb-Werte sind niedriger, als die im linken Vorhof gemessenen COHb-Werte.** In der vorliegenden ersten Untersuchung wurde im tierexperimentellen Ansatz überprüft, ob im chronisch instrumentierten Hund diese von MEYER et al. beschriebene arteriovenöse Differenz ebenfalls nachweisbar ist.
2. **Eine pulmonale Schädigung ist durch einen arteriellen Anstieg der COHb-Werte quantitativ und qualitativ erfassbar.** In der zweiten Untersuchung wurde wiederum im tierexperimentellen Ansatz überprüft, ob im chronisch instrumentierten Hund ein hyperoxischer Lungenschaden zu einem Anstieg der arteriellen COHb-Werte führt und somit als quantitativer und qualitativer diagnostischer Marker des hyperoxischen Lungenparenchymschadens nutzbar gemacht werden kann.



3. **Die arteriovenöse COHb-Differenz zwischen zentralvenösem und arteriellem Blut im Menschen ist auch mit der neuen Generation der Blutgasanalytoren der Baureihe 700 der Firma Radiometer messbar.**
In der vorliegenden dritten retrospektiven klinischen Untersuchung im Menschen wurde die initiale Hypothese von Meyer et al. mit Hilfe einer neuen Generation von Blutgasanalytoren der Baureihe 700 der Firma Radiometer überprüft. Diese sind mit neuer Hard- und Software versehen, wodurch besonders exakte COHb-Messungen möglich sind.

2. Methodik

2.1 Allgemeine Übersicht

Es wurden insgesamt drei Untersuchungen durchgeführt. Bei den ersten beiden handelte es sich um tierexperimentelle Untersuchungen am chronisch instrumentierten Hund. Bei der dritten Untersuchung wurden Blutgasewerte, welche im Rahmen der routinemäßigen Versorgung von Patienten erhoben wurden, nachträglich anonym ausgewertet.

Untersuchung I:

Untersuchung am chronisch instrumentierten Hund

Fragestellung: Ist die post-pulmonale COHb-Erhöhung auch im Hund nachweisbar?

Untersuchung II:

Untersuchung am chronisch instrumentierten Hund

Fragestellung: Steigen die postpulmonal gemessenen COHb-Werte bei hyperoxisch bedingter pulmonaler Schädigung?

Untersuchung III:

Retrospektive klinische Untersuchung

Fragestellung: Sind die Ergebnisse am Menschen bei Untersuchungen mit einem Gerät der neueren Generation von Blutgaseanalytoren der ABL 700er Baureihe klinisch nachvollziehbar?

2. 2 Untersuchung I

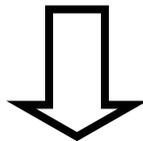
Es wurden je acht Mischlingshunde beiderlei Geschlechtes mit einem Gewicht zwischen 23 und 31 kg verwendet. Die im Folgenden dargestellte Instrumentierung und die tierexperimentellen Untersuchungen sind durch die zuständige Bezirksregierung Münster genehmigt worden (Aktenzeichen: G 59/99; 50.0835.1.0, G 86/2000)

2.2.1 Untersuchungsdesign I

Untersuchungsvorbereitung (2.2.2)

Operative Instrumentierung unter Allgemeinanästhesie

Postoperative Erholungszeit von mindestens 6 Tagen



Untersuchungsdurchführung (2.2.3)

Untersuchung I unter Allgemeinanästhesie

**Prä- und postpulmonale Bestimmung von COHb über einen
Zeitraum von 10 Stunden**

2.2.2 Untersuchungsvorbereitung I

2.2.2.1 Durchführung der Allgemeinanästhesie

Nach Nahrungskarenz von mindestens zehn Stunden wurden die Tiere zur Erleichterung der Narkoseeinleitung am Morgen der Instrumentierung jeweils mit einer intramuskulären Injektion von 15 mg Piritramid (Dipidolor®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) und 3 mg pro kg Körpergewicht S-Ketamin (Ketanest® S, Parke-Davis GmbH, Berlin) prämediziert. Als die Wirkung dieser Medikamente eingetreten war, wurde nach dem Legen einer peripheren Venenverweilkanüle (Insyte-W™, Becton Dickinson Vascular Access, Utah, USA) in die Vena Saphena die Allgemeinanästhesie mit einer intravenösen Injektion von 5 mg pro kg Körpergewicht Propofol (Disoprivan® 1%, Glaxo Smith Kline GmbH, Deutschland, München) und 0,4 mg Fentanyl (Fentanyl®-Janssen, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) eingeleitet. Bei ausreichender Narkosetiefe wurde das Tier oral endotracheal intubiert und an einen Respirator (AV1, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck) zur Beatmung angeschlossen. Die Anästhesie wurde dann durch inhalative Gabe des volatilen Anästhetikums Isofluran (Forene®, Abbott GmbH, Wiesbaden) in einem Sauerstoff-/Luftgemisch mit einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration (FiO_2) von 35% aufrechterhalten. Die Beatmungsparameter wurden so eingestellt, dass ein Kohlendioxidpartialdruck ($paCO_2$) von 37 ± 2 mmHg und mindestens ein Sauerstoffpartialdruck (paO_2) von 100 mmHg, gemessen in der regelmäßig durchgeführten Blutgasanalyse, erreicht wurden. Die intraoperative Analgesie wurde durch intermittierende bedarfsadaptierte intravenöse Applikation von Fentanyl (3-5 μ g/kg KG) (Fentanyl®-Janssen, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) gewährleistet. Zur Aufrechterhaltung der Normothermie während der Operation wurde das Tier auf dem Operationstisch auf einer elektrischen Heizmatte gelagert; die Körpertemperatur wurde mit einer rektalen Temperatursonde überwacht. Intraoperativ wurde eine antibiotische Prophylaxe durch einmalige Gabe von 30 mg pro kg Körpergewicht Cefamandol (Mandokef®, Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg) durchgeführt. Blutverluste

und Flüssigkeitsverluste wurden über die ganze Dauer der Instrumentierung durch die Infusion von isotoner Natriumchloridlösung (Isotone Kochsalzlösung 0,9% Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) bzw. Ringer-Laktat-Lösung (Ringer Laktat Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) ersetzt.

2.2.2.2 Operative Instrumentierung

Die Instrumentierung wurde jeweils nach folgendem Schema unter aseptischen Bedingungen durchgeführt: Zunächst wurde nach Rasur und sterilem Abdecken ein operativer Zugang durch eine Thorakotomie im fünften Interkostalraum links geschaffen. Nach Freilegung des Herzens und der Aorta erfolgte die Implantation eines 18 Gauge Tygon®-Katheters (Norton Performance Plastics, Akron, Ohio, USA) über eine Stichinzision in die partiell tangential ausgeklemmte Aorta descendens. Der Katheter wurde mit einer vorher angelegten Tabaksbeutelnaht fixiert. Die Auswahl der implantierten Katheter erfolgte nach den Kriterien einer langen in-vivo Haltbarkeit, eines stabilen Blutflusses, nach geringem Gewicht und hoher Biokompatibilität, welche alle handelsüblichen Tygon®-Katheter erfüllen.

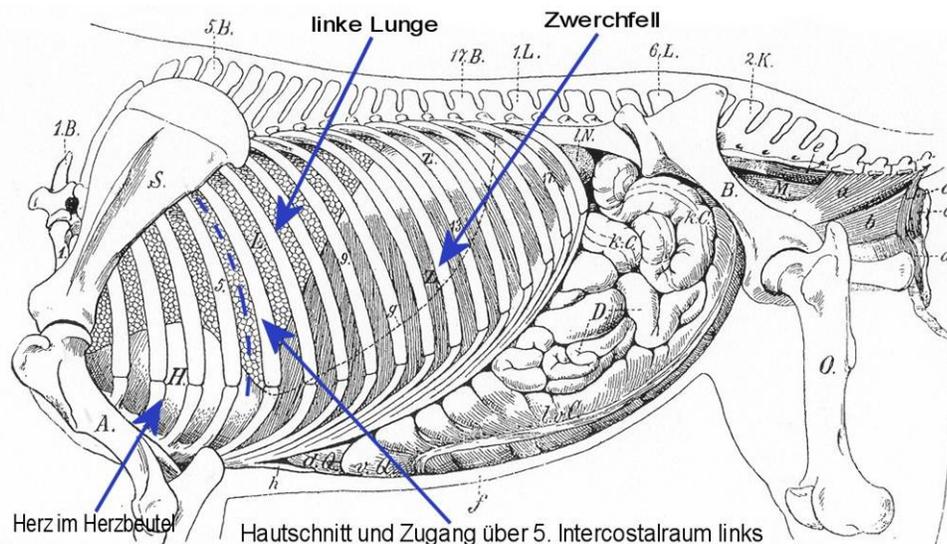


Abbildung 3: Operativer Zugangsweg, schematisch dargestellt

Anschließend wurde auf dieselbe Art und Weise nach Eröffnen des Perikardes das linke Herzohr punktiert und ebenfalls ein 18 G Tygon® Katheter (Norton Performance Plastics, Akron, Ohio, USA) eingelegt. Zusätzlich wurde zur Ableitung des Wundsekrets eine Thoraxdrainage in die linke Thoraxhälfte eingebracht. Daraufhin wurde der Thorax verschlossen und die Katheter subkutan bis medial zwischen den Schulterblättern getunnelt. Dort wurden sie dann nach außen geleitet und fixiert. Es wurde darauf geachtet, dass die Katheter, ohne mechanischen Zug ausüben zu können, frei in der Herzhöhle zum Liegen kamen. Zur Unterstützung der postoperativen Schmerztherapie wurden Leitungsanästhesien im Interkostalraum 4 bis 6 mit Bupivacain 0,125% (Carbostesin®, Astra GmbH, Wedel) durchgeführt (fraktionierte Gabe von insgesamt 10 ml). Abschließend wurde die Operationswunde schichtweise verschlossen und zusammen mit den Austrittsstellen der Sonden und Katheter mit Polyvidon-Iod-Salbe (Betaisodona®-Salbe, Mundipharma GmbH, Limburg/Lahn) behandelt. Danach wurde das Tier mit einer Textiljacke zum Wundschutz und einem sterilem Verband versorgt. Zuvor wurde jedoch noch einmal die Funktion des implantierten Materials überprüft. Nach Beendigung des Eingriffs wurde die Zufuhr des Inhalationsanästhetikums beendet und der Hund, nach Sicherstellung einer ausreichenden Spontanatmung und des Vorhandenseins von Schutzreflexen, extubiert und in die Haltebox zurückgebracht. Es wurde eine postoperative, bedarfsadaptierte Schmerztherapie durch intramuskuläre Injektion von Piritramid (Dipidolor®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) für mindestens 4 Tage nach dem Eingriff durchgeführt. Nach der Instrumentierung wurden die Wundverbände täglich gewechselt. Dabei wurden die Austrittsstellen der Sonden und die Operationswunde gereinigt und desinfiziert, sowie die Tygon®-Katheter mit heparinisierter 0,9%-Natriumchloridlösung gespült. In den ersten vier postoperativen Tagen wurde bei allen Tieren eine tägliche antibiotische Prophylaxe mit 30 mg pro kg Körpergewicht Cefamandol (Mandokef®, Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg) durchgeführt. Die Fütterung und sonstige Pflege der Hunde lag in den Händen ausge-

bildeter Tierpfleger der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) der Universität Münster. Dadurch war eine durchgehende Überwachung und Versorgung der Tiere gewährleistet.

2.2.3 Untersuchungsdurchführung I

Die Untersuchung I wurde erst nach einer Erholungszeit von mindestens sechs Tagen durchgeführt. Die Voraussetzungen waren normale Laborwerte, das Vorhandensein von entzündungsfreien Wundverhältnissen, Normothermie, sowie normale Hämodynamikparameter.

Während der Untersuchung I wurde bei allen Tieren eine Allgemeinanästhesie durchgeführt. Die Allgemeinanästhesie wurde eingeleitet mit einer Injektion von 5 mg pro kg Körpergewicht Propofol (Disoprivan[®] 1%, Glaxo Smith Kline GmbH, Deutschland, München) und 0,4 mg Fentanyl (Fentanyl[®]-Janssen, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) über den bereits liegenden linksatrialen Katheter. Bei ausreichender Narkosetiefe wurde das Tier oral endotracheal intubiert und an einen Respirator (AV1, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck) zur Beatmung angeschlossen. Die Allgemeinanästhesie wurde über eine periphere Venenverweilkanüle mit 6-12 mg/kg/KG/h Propofol und 0,045-0,3 µg/kg/KG/min Fentanyl, über einen Perfusor appliziert, aufrechterhalten. Alle Tiere wurden normoventiliert, d.h. mit einem in der arteriellen Blutgasanalyse bestimmten pCO₂ zwischen 33 und 35mmHg, mit einem PEEP von 5 cmH₂O und mit 21% O₂ in der Inspirationsluft beatmet. Vor jedem Experiment wurde der Atemkalk (Dräger DiveSorb[®] Atemkalk, Drägerwerk AG, Lübeck, Germany) des Gerätes erneuert.

Über die Vena jugularis externa wurde ein pulmonalarterieller Katheter (=PAK), über den rechten Ventrikel in die Arteria Pulmonalis eingeschwenkt. Die korrekte Lage des Swan-Ganz-Flow-Katheters wurde durch die typischen Druckkurven über einem Einmal-Druckkonverter (Baxter Healthcare Co., Deutschland, Unterschleißheim) kontrolliert.

Während der Untersuchung wurde die In-, sowie die Exhalationsluft in einen Gassammelbehälter abgezweigt und der CO-Gehalt mit einem CO-Gasmessgerät (Dräger Polytron 2, s. unten) bestimmt.

Der Katheter in der Aorta Descendens und der PAK wurde mit einem Drucktransducer (Baxter Healthcare, Unterschleißheim, Germany) verbunden. Die Null-Punkt-

Kalibration der Katheter erfolgte auf Höhe des rechten Vorhofes. Während des gesamten Versuchsablaufs wurden alle hämodynamischen Parameter unter bedarfsadaptierter Volumentherapie normal gehalten. Vasoaktive Substanzen wurden zu keinem Zeitpunkt eingesetzt.

Nach Abschluss der Untersuchung wurden die Tiere unter Beibehalten der Allgemeinanästhesie mit 40ml KCl i.v. getötet.

2.2.3.1 Blutgasanalysen und Erhebung der Hämodynamikparameter

Die Blutentnahmen zur Blutgasanalyse erfolgten bei Untersuchung I halbstündlich über einen Zeitraum von zehn Stunden, wobei COHb an der peripheren Venenverweilkanüle, im rechten Vorhof, präpulmonal in der Arteria Pulmonalis, postpulmonal im linken Vorhof und in der Aorta Descendens bestimmt wurde. Alle Blutproben wurden anaerob in heparinisierten Spritzen (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) entnommen.

Außerdem wurden der arterielle Blutdruck, die Herzfrequenz und der pulmonal-arterielle Druck kontinuierlich gemessen und halbstündlich über einen Zeitraum von zehn Stunden in Protokollbögen übertragen.

2.2.3.2 Kohlenmonoxidbestimmungen

Der inspiratorische CO-Gehalt und der expiratorische CO-Gehalt wurden ebenfalls über einen Zeitraum von 10 Stunden mit einem Intervall von 30 Minuten gemessen.

2.2.4 Verwendete Messgeräte und Messprinzipien

2.2.4.1 Blutgasmessgerät

Alle Blutproben wurden unmittelbar nach der Entnahme mit dem Blutgasmessgerät ABL 620/625 (Radiometer A/B, Copenhagen, Dänemark) analysiert.

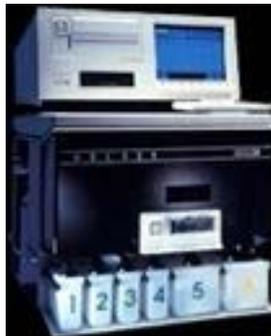


Abbildung 4: Blutgasmessgerät ABL 620

2.2.4.1.1 Messprinzip

Die in den Geräten der ABL-600-Serie (Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) verwendeten CO-Oximeter messen das Oxyhämoglobin und den reduzierten Hämoglobin-Anteil mittels Absorptions-Spektrophotometrie. Die prozentuale Sauerstoffsättigung wird aus den elektrochemisch gemessenen Parametern pH, pO_2 und pCO_2 errechnet.

Bei der Absorptions-Spektrophotometrie wird im optischen System die Lichtdurchlässigkeit der Proben bei bestimmten Wellenlängen gemessen: bei $\lambda_x=535, 560, 577, 622, 636$ und 670nm messen die Geräte der ABL 6xx-Reihe (die ABL 7xx-Reihe misst bei 128 verschiedenen Wellenlängen). Anhand des spezifischen Musters der erhaltenen Absorptionsspektren bei den genannten Wellenlängen kann man die Konzentrationen von RHb, $O_2\text{HB}$, COHb, MetHb, SHb und die Trübung

der Probelösung bestimmen, wobei das Gerät eine anhand von Standardwerten kalibrierte Eichkurve (Matrix) zugrunde legt.

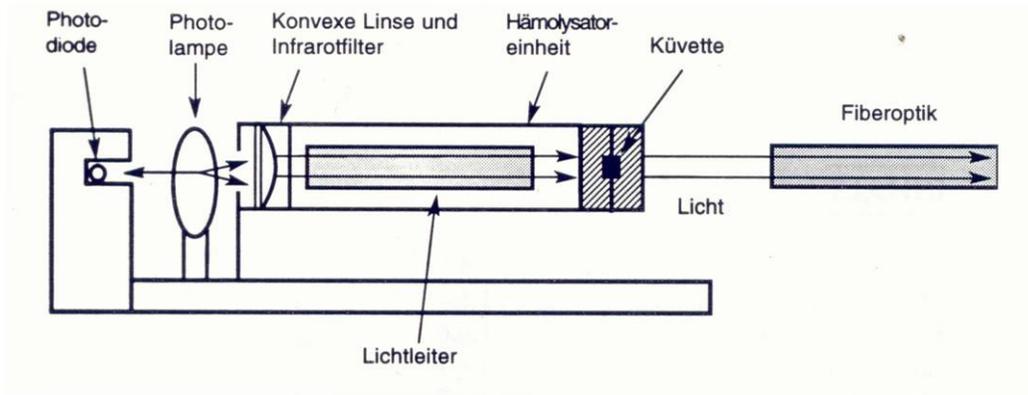


Abbildung 5: Schema des Funktionsprinzips der Faseroptikspektroskopie: Messeinheit

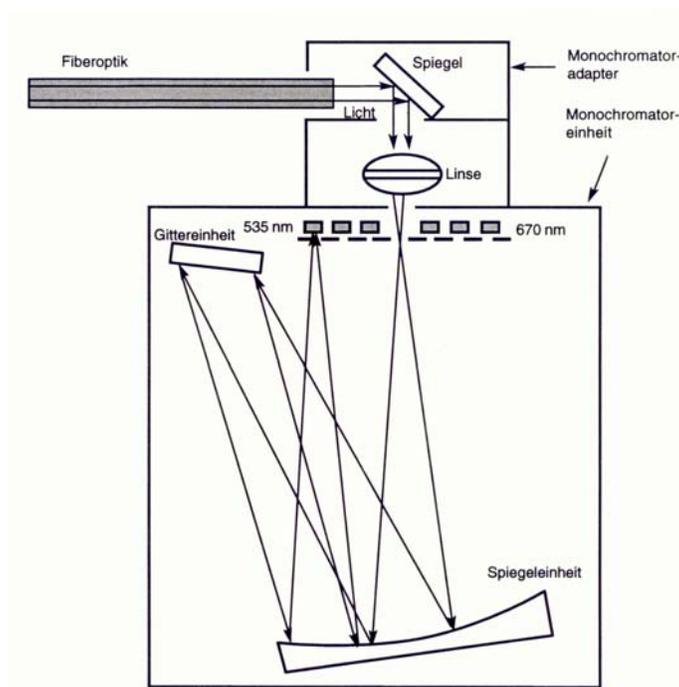


Abbildung 6: Messanordnung zur Faseroptikspektroskopie

Laut dem Gesetz von Lambert-Beer ist die gemessene Absorption für eine einzelne Substanz (in einer Lösung) der Dicke der Küvette (d.h. dem Lichtweg) und der Konzentration der jeweiligen Substanz proportional [2,31].

$$A_{\gamma}^{\lambda} = \varepsilon_{\gamma}^{\lambda} \times c_{\gamma} \times L$$

Abbildung 7: Lambert-Beer-Gesetz

Wobei:

A_{γ}^{λ} = Absorption der Substanz γ bei Wellenlänge λ

$\varepsilon_{\gamma}^{\lambda}$ = Proportionalitätsfaktor (molare Absorption) der Substanz γ bei Wellenlänge λ

c_{γ} = Konzentration der Substanz γ

L = Länge des Lichtweges

Dabei ist die molare Absorptionskonstante ε konstant, vorausgesetzt, die Messbedingungen (Wellenlängen und Temperatur) sind konstant, wie das in der Messküvette der Analysatoren der Fall ist.

Die Absorptionen für COHb (eingesetzt als γ_3) sind bei jeder der sechs Wellenlängen $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \lambda_4, \lambda_5$ und λ_6):

$$A_{\gamma_3}^{\lambda_1} = \varepsilon_{\gamma_3}^{\lambda_1} \times L \times c_{\gamma_3}; \quad A_{\gamma_3}^{\lambda_2} = \varepsilon_{\gamma_3}^{\lambda_2} \times L \times c_{\gamma_3}; \quad \dots; \quad A_{\gamma_3}^{\lambda_6} = \varepsilon_{\gamma_3}^{\lambda_6} \times L \times c_{\gamma_3};$$

Die Absorption A ist ein logarithmisches Verhältnis zwischen der Lichtdurchlässigkeit durch die Probe und der durch eine klare Lösung bei Wellenlänge λ . Absorption ist eine additive Eigenschaft. Da der Analysator bei jeder der sechs Wellenlängen Absorptionen misst, und bei jeder der gemessenen Wellenlängen auch außer dem zu untersuchenden COHb noch andere Hämoglobine vorliegen, die die

Absorption beeinflussen, legt man für die Berechnung der Konzentrationen jeweils eine Matrix zugrunde, die bei definierten Standardlösungen empirisch gewonnene Daten enthält.

Der Lichtweg und die molaren Absorptionskoeffizienten sind konstant. Die bei sechs Wellenlängen gemessenen Konzentrationen lassen sich folgendermaßen beschreiben:

$$c_{y1} = \sum_{i=1}^6 K_{yi} \times A^{\lambda_i}$$

K_{yi} sind Konstanten der empirisch gewonnenen Matrix ($K_{1,1}; K_{1,2}; \dots; K_{6,6}$)

$$K_{yi} = \begin{vmatrix} -24.637 & +19.350 & +9.680 & -12.396 & +26.514 & -16.792 \\ -4.344 & -9.258 & +16.837 & +0.540 & -1.918 & -1.041 \\ +25.962 & -2.170 & -20.752 & +14.964 & -40.064 & +16.539 \\ +0.192 & -0.410 & +0.121 & -22.819 & +61.851 & -42.491 \\ +0.148 & -0.246 & -0.036 & +9.857 & -10.381 & +0.152 \\ +5.460 & -4.181 & -2.423 & +1.036 & -9.243 & +51.109 \end{vmatrix}$$

Da sich das tierische Hämoglobin und das menschliche Hämoglobin unterscheiden, muss auch die Matrix für K_{yi} entsprechend angepasst werden. Bei den hier durchgeführten Untersuchungen wurde eine mit Hundeblood geeichte Matrix zugrunde gelegt.

Da es sich bei den hier untersuchten Tieren um erwachsene Hunde handelte, war eine Verschiebung des Spektrums aufgrund verfälschter Messungen durch fötales Hämoglobin nicht gegeben [33,69].

Die Kalibrierung des optischen Systems wurde durch den Nullpunkt-Status des Photometers und den Kalibrierfaktor erreicht:

Der Nullpunkt-Status drückt den durchschnittlichen Photodiodenstrom über allen sechs Wellenlängen einer klaren Lösung (Elektroden-Kalibrierlösung) aus.

Aufgrund der bei sechs Wellenlängen gemessenen Größen berechnet der Analyser ABL-620 die unkorrigierten COHb-Werte folgendermaßen:

$$FCO\text{Hb} = \frac{c\text{COHb}}{ct\text{Hb}''} \times 100(\%)$$

wobei

FCO_{Hb} = die (errechnete) Fraktion an Kohlenmonoxidhämoglobin ist
 cCO_{Hb} = die mittels Lambert-Beer-Gesetz und Messungen bei sechs Wellenlängen erhaltene Konzentration an Kohlenmonoxidhämoglobin und ctHb'' der ebenfalls so gewonnene Wert an unkorrigiertem Gesamt-Hämoglobin sind.

Die hier beschriebenen Messungen mittels Multiwellenlängen-Analyse („CO-Oximeter“) werden heute zur Routine-Bestimmung von Hämoglobin-Sauerstoffsättigungen (sO₂) und zur Bestimmung der anderen Hämoglobin-Derivate (wie COHb) in Blutproben eingesetzt. Die Sauerstoffsättigung wird jedoch nicht direkt gemessen, sondern aus dem Gesamt-Hb, das wie oben beschrieben photometrisch bestimmt wird, und dem Blutgasstatus, der über elektrochemische pH, pCO₂ und pO₂-Sonden gemessen wird, errechnet.

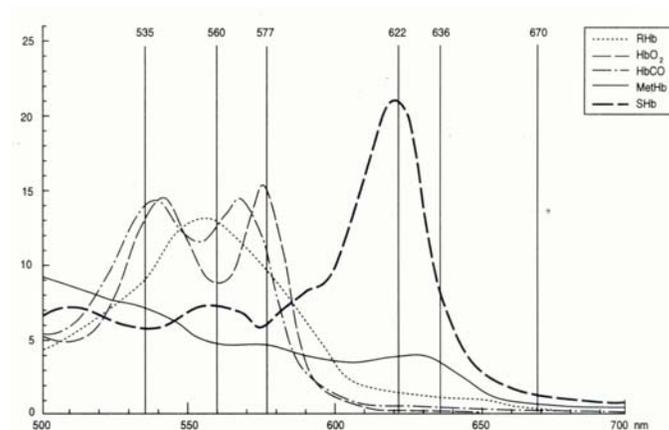


Abbildung 8: Absorptionsspektren des sichtbaren Lichtes der Hämoglobin-Subtypen nach Tremper und Barker, dazu eingezeichnet die sechs Wellenlängen, bei denen der ABL 625 die Hämoglobinfraktionen absorptionsphotometrisch bestimmt

2.2.4.2 CO-Gasmessgerät

Der inspiratorische CO-Gehalt und der expiratorische CO-Gehalt wurde in einem Intervall von 30 Minuten mit dem CO-Gasmessgerät Dräger Polytron 2 (Dräger AG, Lübeck, Polytron 2 Messkopf, Nr. 8312998, Fabrikations-Nr.: ARKL-027 mit elektrochemischen CO-Sensor und Ansaugereinheit, Nr. 8313680) gemessen.



Abbildung 9: Dräger Polytron 2 mit elektrochemischer CO-Messsonde

2.2.4.2.1 Messprinzip

Bei dem Dräger Polytron 2 handelt sich um ein Gasmessgerät für die kontinuierliche Überwachung von toxischen Gasen und Sauerstoff in der Umgebungsluft, aus geschlossenen Gasbehältern oder Gassystemen. Der Transmitter verwendet Mikroprozessortechnologie, um das Signal von einem elektrochemischen Sensor in ein 4 - 20 mA Analogsignal umzusetzen. Als Detektionssonde wurde die spezifische CO-Messsonde des Herstellers (DrägerSensor CO – Best. Nr. 68 09 605, DrägerWerke AG, Lübeck, Germany) verwendet.

Der DrägerSensor für CO ist ein elektrochemischer Drei-Elektroden Sensor für die kontinuierliche Echtzeit-Überwachung von Kohlenmonoxid-Gas in Umgebungsluft. An der Elektrodenspitze der Messeinheit wird zunächst CO zu CO₂ oxidiert und H₂O reduziert. Dabei werden zwei Protonen und zwei Elektronen freigesetzt, welche als messbarer Strom abgegriffen werden.



Zur CO-Gas Messung wurde sowohl Gas aus dem Inspirationssystem der Beatmungsmaschine als auch aus dem Expirationssystem der Beatmungsmaschine abgeleitet. Es sollte sichergestellt werden, dass kein CO-Gas von den Untersuchungstieren inhaliert wurde und überprüft werden, ob die Tiere CO-Gas exhalieren.

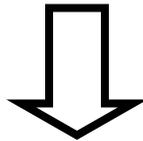
2.3 Untersuchung II

2.3.1 Untersuchungsdesign II

Untersuchungsvorbereitung (2.3.2)

Operative Instrumentierung unter Allgemeinanästhesie

Postoperative Erholungszeit von mindestens 6 Tagen



Untersuchungsdurchführung (2.3.3)

Untersuchung II unter Allgemeinanästhesie

Beatmung mit 100% Sauerstoff über 120 Stunden zur

Induktion einer hyperoxisch bedingten pulmonalen

Schädigung und

prä- und postpulmonale Bestimmung von COHb über einen

Zeitraum von 120 Stunden

2.3.2 Untersuchungsvorbereitung

Die Untersuchungsvorbereitung glich im Bezug auf die operative Instrumentierung im Wesentlichen dem ersten Versuch I. Als Untersuchungstiere wurden wiederum je acht Mischlingshunde beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht zwischen 24 und 30 kg verwendet. Die im Folgenden dargestellte Instrumentierung und die tierexperimentellen Untersuchungen sind durch die zuständige Bezirksregierung Münster genehmigt worden (Aktenzeichen: G 59/99; 50.0835.1.0, G 86/2000).

2.3.3 Untersuchungsdurchführung II

Die Untersuchung II wurde erst nach einer Erholungszeit von mindestens sechs Tagen durchgeführt. Die Voraussetzungen waren normale Laborwerte, das Vorhandensein von entzündungsfreien Wundverhältnissen, Normothermie, sowie normale Hämodynamikparameter. Die Untersuchungsdauer betrug im Gegensatz zur ersten Untersuchung insgesamt 120 Stunden.

Während der Untersuchung II wurde bei allen Tieren eine Allgemeinanästhesie durchgeführt. Die Allgemeinanästhesie wurde mit einer Injektion von 5 mg pro kg Körpergewicht Propofol (Disoprivan[®] 1%, Glaxo Smith Kline GmbH, Deutschland, München) und 0,4 mg Fentanyl (Fentanyl[®]-Janssen, Janssen-Cilag GmbH, Neuss), über den bereits liegenden linksatrialen Katheter eingeleitet. Bei ausreichender Narkosetiefe wurde das Tier oral endotracheal intubiert und an einen Respiратор (AV1, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck) zur Beatmung angeschlossen. Die Allgemeinanästhesie wurde über eine periphere Venenverweilkanüle mit 6-12 mg/kg/KG/h Propofol und 0,045-0,3 µg/kg/KG/min Fentanyl, über einen Perfusor appliziert, aufrechterhalten. Alle Tiere wurden normoventiliert, d.h. mit einem in der arteriellen Blutgasanalyse bestimmten pCO₂ zwischen 33 und 35 mmHg, mit einem PEEP von 5 cmH₂O und mit 100% O₂ in der Inspirationsluft. Vor jedem Experiment wurde der Atemkalk (Dräger DiveSorb[®] Atemkalk, Drägerwerk AG, Lübeck, Germany) des Gerätes erneuert. Es wurde weiterhin, während des gesamten Experimentes alle sechs Stunden der Atemkalk (Dräger DiveSorb[®] Atem-

kalk, Drägerwerk AG, Lübeck, Germany) erneuert, d.h. mindestens viermal pro Tag.

Über die Vena jugularis externa wurde ein pulmonalarterieller Katheter (=PAK), über den rechten Ventrikel in die Arteria Pulmonalis eingeschwenkt. Die korrekte Lage des Swan-Ganz-Flow-Katheters wurde durch die typischen Druckkurven über einem Einmal-Druckkonverter (Baxter Healthcare Co., Deutschland, Oberschleißheim) kontrolliert.

Eine normale Körpertemperatur der Tiere wurde durch eine Heizmatte aufrechterhalten. Eine ausgeglichene Flüssigkeitsbilanz wurde mit Hilfe von Ringerlösung und Anpassung an die Ausscheidungsmenge, gemessen über einen transurethral gelegten Blasendauerkatheter, erreicht. Weiterhin wurden eine Magensonde, sowie eine rektale Temperatursonde angelegt. Trachealsekret wurde in regelmäßigen Abständen abgesaugt und kontrolliert. Es erfolgten regelmäßige Blähmanöver und Lagerungsmaßnahmen. Ernährt wurden die Tiere mit 3-4 g/kg/d Glukoselösung für die gesamte Zeit des Experiments. Zur Infektionsprophylaxe bekamen die Untersuchungstiere Imipenem in einer Dosierung von 50 mg/kg KG/d und Tobramycin® in einer Dosierung 5 mg/kg KG/d.

Der Katheter in der Aorta Descendens und der PAK wurden mit einem Drucktransducer (Baxter Healthcare, Unterschleißheim, Germany) verbunden. Die Null-Punkt-Kalibration der Katheter erfolgte auf Höhe des rechten Vorhofes. Während des gesamten Versuchsablaufs wurden alle hämodynamischen Parameter unter bedarfsadaptierter Volumentherapie normal gehalten. Vasoaktive Substanzen wurden zu keinem Zeitpunkt eingesetzt.

Nach Abschluss der Untersuchung wurden die Tiere unter Beibehalten der Allgemeinanästhesie mit 40ml KCl i. v. getötet.

2.3.3.1 Induktion eines hyperoxischen Lungenschadens

Bei einer Beatmung mit 100% Sauerstoff wird das Lungenparenchym, u.a. durch Schädigung der Pneumozyten 2 oder Alveolarendothelzellen 2, die für die Bildung des Lungensurfactant verantwortlich sind, nachhaltig geschädigt. Es entsteht ein hyperoxischer Lungenschaden, der nach einiger Zeit irreversibel wird. Zur Induktion dieses hyperoxischen Lungenschadens wurden die Tiere über 120 Stunden mit 100%igem Sauerstoff beatmet [9,48,54].

2.3.3.2 Blutgasanalysen und Erhebung der Hämodynamikparameter

Die Blutentnahmen zur Blutgasanalyse erfolgten bei Untersuchung II alle drei Stunden über einen Zeitraum von 120 Stunden, wobei folgende Parameter gemessen wurden: Messung von COHb an der peripheren Venenverweilkanüle, im rechten Vorhof, präpulmonal in der Arteria Pulmonalis, postpulmonal im linken Vorhof und in der Aorta Descendens (Tabelle 3). Alle Blutproben wurden anaerob in heparinisierten Spritzen (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) entnommen und sofort nach der Entnahme mit dem Blutgasanalysegerät ABL 625 (Radiometer A/B, Kopenhagen, Dänemark) analysiert (s. 2.2.4.1.1).

Außerdem wurden der arterielle Blutdruck, die Herzfrequenz und der pulmonal-arterielle Druck kontinuierlich gemessen und alle drei Stunden in Protokollbögen übertragen. Ebenso wie andere Laborwerte, wie pH Wert, Bikarbonatgehalt, BE, Elektrolyte, Hämoglobingehalt und Hämatokritgehalt des Blutes und die permanent gemessene Körpertemperatur. Alle Werte waren zu jeder Zeit normal, bzw. wurden im Bedarfsfalle ausgeglichen.

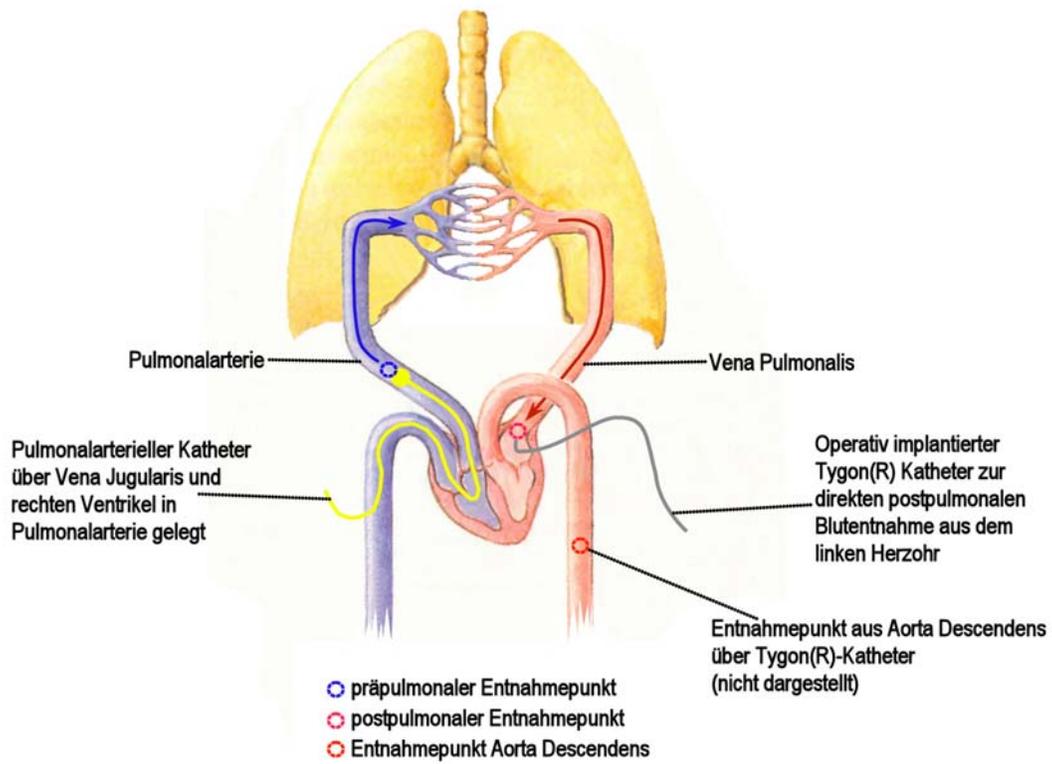


Abbildung 10: Schematische Darstellung der direkten prä- und postpulmonalen Blutentnahmepunkte. Zusätzlich wurde noch Blut über eine periphere Vene abgenommen

2.3.3.4 Quotientenbildung

Um die individuell unterschiedlich hohen COHb-Ausgangswerte vergleichen zu können, wurde das Verhältnis aus präpulmonalem COHb und postpulmonalem COHb gebildet und als Quotient angegeben. Dies war notwendig, da für jedes Tierhämoglobin spezielle mathematische Faktoren in die Blutgasanalysen mit eingehen. Die individuellen Besonderheiten des jeweiligen zu analysierenden Hämoglobins bestimmen die absoluten Zahlen (die beim Hund höher erscheinen), nicht aber deren relative Beziehung zu einander, so dass ein Quotient hier praktikabler ist.

$$\text{Quotient(COHbRatio)} = \frac{\text{COHb.präpulmonal}}{\text{COHb.postpulmonal}} = \frac{\text{COHbPulmonalarterie(PA)}}{\text{COHbLinkerVorhof(LA)}}$$

2.3.4 Verwendete Messgeräte und Messprinzipien

Als Messgeräte wurden die bereits bei Untersuchung I erörterten Messgeräte eingesetzt. Siehe Punkt 2.2.4

2.3.4.1 Blutgasmessgerät

siehe Punkt 2.2.4.1 und Punkt 2.2.4.1.1

2.3.4.2 Histopathologische Verifikation des hyperoxischen Lungenschadens

Sofort nach dem Ende der Untersuchung II wurden aus jedem Lungenlappen Gewebestücke entnommen und in flüssigem Stickstoff fixiert. Danach wurde das Gewebe geschnitten und eine Hämatoxylin-Eosin Färbung (HE-Färbung) durchgeführt. Als Kontrolle dienten Gewebeproben gleich alter Tiere aus anderen Versuchsreihen ohne pulmonale Schädigung (durch die zuständige Bezirksregierung Münster genehmigt, Aktenzeichen: 23.0835.1.0, G 36/98). Die Kontrolltiere zeigten erwartungsgemäß intaktes Pulmonalgewebe. Die Alveolen waren gut abgrenzbar, bei komplett erhaltener Lungengerüststruktur. Es waren keine Anzeichen einer Entzündung erkennbar.

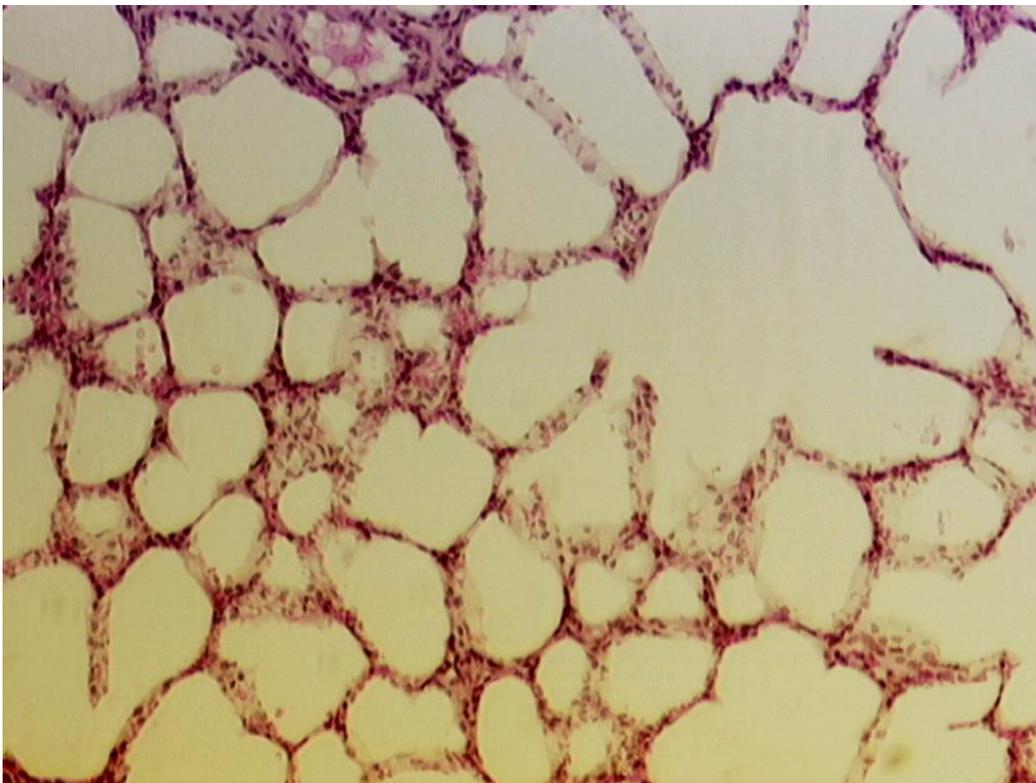


Abbildung 11: Pulmonales Gewebe mit histologischer Hämatoxylin-Eosin (HE) –Färbung der Kontrolltiere. Es sind keinerlei Zeichen einer Entzündung erkennbar. Die Alveolen sind gut abgrenzbar und die Lungengerüststruktur ist erhalten.

Die Gewebeproben aller Lungenabschnitte der Tiere, die über 120 Stunden mit 100% Sauerstoff beatmet wurden, zeigten die typischen Zeichen eines hyperoxischen, degenerativen Lungenschadens. Zahlreiche Entzündungszellen und in Auflösung begriffene Lungengerüststrukturen prägen das Bild.

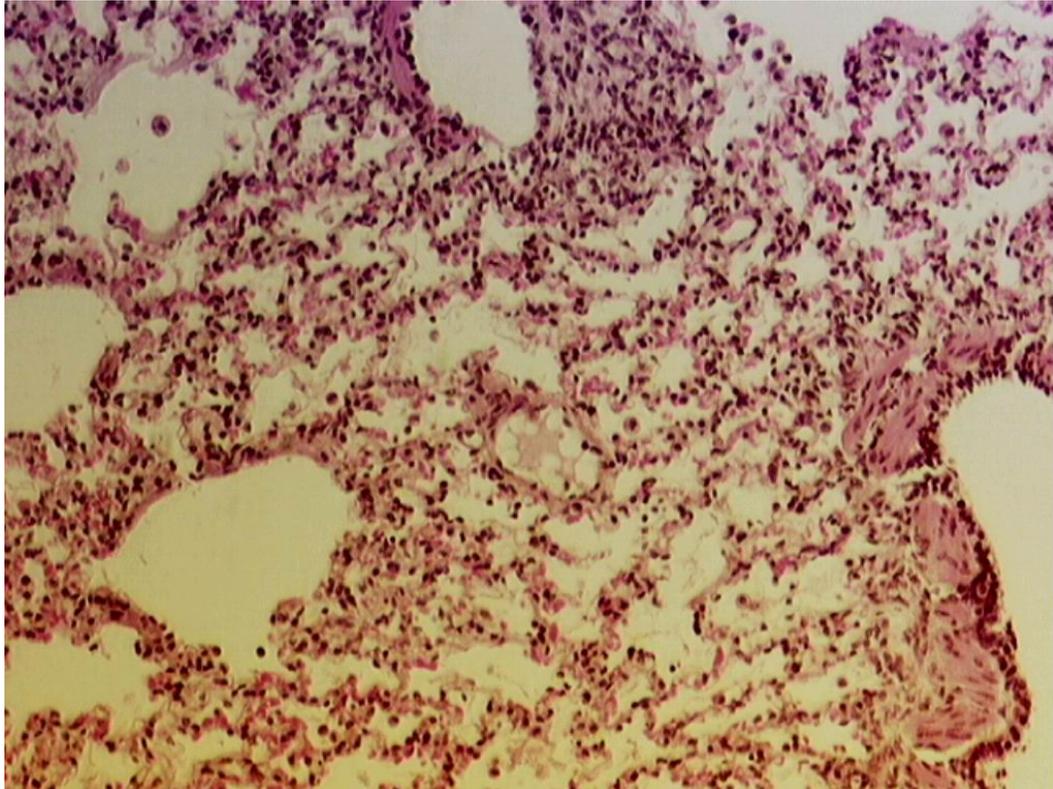


Abbildung 12: Histopathologischer Befund mit Hämatoxylin-Eosin (HE) –Färbung der Tiere der Untersuchung II, nach 120 Stunden Beatmung mit 100% Sauerstoff. Erkennbar ist ein mit einem hyperoxischen Lungenschaden vereinbarer histologischer Befund. Man erkennt deformierte Alveolen, Leukozyteninfiltration und Ödembildung.

2.4 Untersuchung III

Alle Untersuchungen wurden im Rahmen der Routineversorgung der Patienten durchgeführt.

2.4.1 Untersuchungsdesign III

Die Blutentnahmen erfolgten im Rahmen der üblichen Patientenversorgung. Alle Blutproben wurden anaerob in heparinisierten Spritzen (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) entnommen und sofort nach der Entnahme gleichzeitig mit dem Blutgasanalysegerät ABL 625 (Radiometer A/B, Kopenhagen, Dänemark; s. 2.2.4.1.1) und dem ABL 725 (Radiometer A/B, Kopenhagen, Dänemark) analysiert. Später wurden die Proben anonym miteinander verglichen und statistisch ausgewertet.

Die Patienten waren 20 gesunde Nichtraucher, ASA-Score I-II (American Society of Anaesthesiologists physical status), beiderlei Geschlechts die sich einer elektiven Operation unterziehen mussten. Alle Patienten waren zum Zeitpunkt der Entnahme der Blutproben normotherm. Es wurden nur solche Patienten in die Beobachtungsuntersuchung mit eingeschlossen, die nicht transfusionspflichtig waren und deren Elektrolythaushalt und Volumenbilanz ausgeglichen war. Das Durchschnittsalter betrug 33 ± 4.6 Jahre. Alle Patienten waren klinisch gesund. Bei keinem Patienten lagen Hinweise für einen Atemwegsinfekt vor, weder vier Wochen vor der Operation, noch am Operationstag. Keiner der Patienten benötigte eine regelmäßige Medikation.

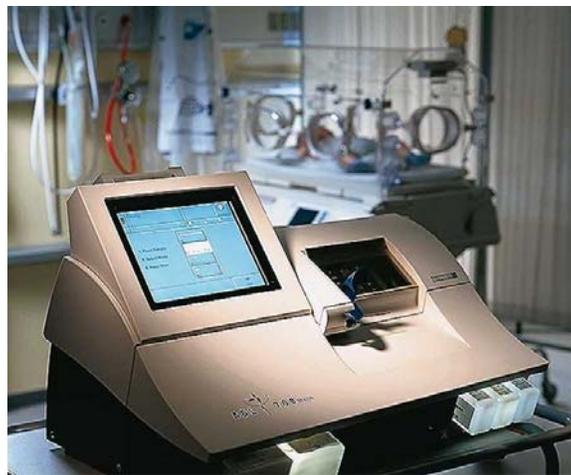


Abbildung 13: Der ABL 725 der Firma Radiometer AB Kopenhagen. Bei diesem Gerät wird Hämoglobin bei 128 verschiedenen Wellenlängenbereichen gemessen, bei den Vorgängergeräten der ABL 500 und 600er Reihe nur bei 6 verschiedenen Wellenlängen

2.4.2 Untersuchungsdurchführung III

Während der Operation wurden mindestens sechs Blutproben bei jedem Patienten entnommen, je drei zentralvenöse und je drei arterielle. Die Kohlenmonoxydhämoglobinkonzentrationen (COHb) wurde im arteriellen (COHba) und zentralvenösen Blut (COHbv) gemessen und die Differenz errechnet (COHba-COHbv).

2.4.2.1 Blutgasmessung

Die Blutproben wurden mit heparinisierten Einmalentnahmeröhrchen (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) entnommen und sofort, gleichzeitig mit den Blutgasanalysegeräten **ABL 625** und dem **ABL 725** der Firma Radiometer AB, Kopenhagen, Dänemark, analysiert.

2.4.2.2 Kalibrierung

Die Routinekalibration der Spektrophotometer besteht aus zwei Vorgängen: Erstens die automatische Nullpunktkalibration (Teil jeder Kalibration) und zweitens die manuelle tHb-Kalibration [40] die alle drei Monate durchgeführt werden sollte. Für wissenschaftliche Zwecke ist eine zusätzliche Kalibrationsprozedur der Wellenlängen (SAT100 adjustment, SAT=short turn around time) empfohlen [30]. Die Einstellung erfordert heparinisiertes Blut von gesunden Spendern (Nichtraucher). Das Blut muss komplett mit Sauerstoff gesättigt sein. Weiterhin müssen alle gemessenen Werte, wie beispielsweise der pH, pCO₂, pO₂, ctHb, FCOHb und FMetHb absolut normal bei diesen Personen sein. Die gesamte Prozedur wurde vom Hersteller der Geräte durchgeführt.

2.5 Datenerfassung und statistische Auswertung

2.5.1 Statistische Auswertung Untersuchung I und II

Die gewonnenen Daten der beschriebenen Messungen im Rahmen der Untersuchung I und II wurden in Echtzeit aufgezeichnet und verarbeitet. Die benutzte Hardware war ein Apple Power Macintosh 8500/120 (Apple Inc., Cupertino, USA) mit erforderlicher Erweiterung zur Online-Datenerfassung. Die eingesetzte Software war Labview 4.0 (National Instruments Germany GmbH, München), die erfassten Daten wurden auf CD-ROM dauerhaft gesichert. Die Auswertung erfolgte mit kommerziell erhältlicher Software (Microsoft Excel™, Statview™).

Bei Vergleichen innerhalb einer Gruppe (d. h. in demselben Tier) wurde ein ANOVA, gefolgt von einem gepaarten T-Test mit Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Für Vergleiche zwischen verschiedenen Tieren kam ein ungepaarter T-Test zur Anwendung. Ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt. Die Werte sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung (SD) dargestellt.

2.5.2 Statistische Auswertung Untersuchung III

Bei Vergleichen innerhalb einer Gruppe (d. h. in demselben Patienten) wurde ein ANOVA, gefolgt von einem gepaarten T-Test mit Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Für Vergleiche zwischen verschiedenen Tieren kam ein ungepaarter T-Test zur Anwendung. Ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde festgelegt. Die Werte sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung (SD) dargestellt

3. Ergebnisse

3.1 Untersuchung I

Die erhobenen Daten konnten in vollem Umfang ausgewertet werden. Keines der Versuchstiere musste wegen Erkrankungen oder Funktionsstörungen des implantierten Materials von der Analyse ausgeschlossen werden.

3.1.1 Hämodynamikparameter

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes von zehn Stunden waren die hämodynamischen Messparameter im vorgegebenen Toleranzbereich, so lag der arterielle Mitteldruck durchgehend zwischen 80 und 110 mmHg, die Herzfrequenz im Bereich von 90-120/Min (Tabelle 1).

Hämodynamikparameter Untersuchung I				
n=8				
<i>Zeit in Stunden:Minuten</i>	<i>MAD [mmHg]</i>	<i>SD +/-</i>	<i>HF [min⁻¹]</i>	<i>SD +/-</i>
00:00	88	13	111	12
00:30	91	11	113	9
01:00	90	9	109	17
01:30	87	19	110	20
02:00	82	22	99	21
02:30	102	20	97	16
03:00	100	13	113	11
03:30	99	16	114	12
04:00	101	12	108	8
04:30	87	18	111	15
05:00	86	15	112	21
05:30	95	16	102	11
06:00	96	18	99	8
06:30	93	11	97	12
07:00	95	8	98	16
07:30	102	12	112	18
08:00	86	13	114	12
08:30	88	10	110	11
09:00	92	9	104	15
09:30	93	18	108	17
10:00	91	14	107	9
Aritm. Mittel (SD)	92,6	(5,8)	107,0	(6,0)

Tabelle 1 Verlauf des mittleren arteriellen Blutdruckes (MAD) und der Herzfrequenz (HF) während des Untersuchungszeitraumes von 10 Stunden (Untersuchung I).

3.1.2 COHb-Messwerte

Die erhobenen COHb-Messwerte waren präpulmonal, d.h. in der peripheren Vene (PV), rechtsatrial (RA) und pulmonalarteriell (PA), im Vergleich zu den postpulmonal arteriell gemessenen Werten in der Aorta (AO), bzw. im linken Vorhof (LA, Tabelle 2) immer signifikant niedriger. Die postpulmonal arteriell gemessenen Werte sind dementsprechend im Mittel 1.9 Prozentpunkte höher. Im Verlauf der Untersuchung waren alle COHb-Werte, bezogen auf die jeweiligen Entnahmepunkte, während des gesamten Untersuchungszeitraums unverändert gleich.

Untersuchung I - Messung von COHb über 10 Stunden am chronisch instrumentierten Hund (n=8). COHb als Anteil vom Gesamt Hb in %										
Zeit	präpulmonal						postpulmonal			
	Periphere Vene	SD +/-	Rechter Vorhof	SD +/-	Arteria Pulmonalis	SD +/-	Linker Vorhof	SD +/-	Aorta descendens	SD +/-
00:00	6,9	0,4	7,0	0	7,0	0,4	8,9*	0,4	8,9*	0,2
00:30	6,8	0,5	6,9	0,1	7,1	0,0	8,8*	0,2	8,7*	0,3
01:00	6,6	0,1	6,7	0,4	6,7	0,2	9,0*	0,1	9,0*	0,4
01:30	6,9	0,3	6,8	0,5	7,0	0,1	8,7*	0,1	8,8*	0,1
02:00	6,5	0,4	6,4	0,2	6,7	0,5	8,7*	0,2	8,6*	0,4
02:30	6,6	0,4	6,6	0,1	6,7	0,2	8,7*	0,1	8,7*	0,2
03:00	6,4	0,4	6,5	0,3	6,9	0,3	8,8*	0,4	8,9*	0,2
03:30	6,4	0,5	6,3	0,3	6,6	0,3	8,7*	0,3	8,7*	0,3
04:00	7,1	0,1	7,0	0,4	7,1	0,2	8,4*	0,2	8,5*	0,4
04:30	6,7	0,3	6,9	0,5	6,8	0,5	8,4*	0,2	8,3*	0,5
05:00	6,6	0,4	6,6	0,3	6,7	0,3	8,7*	0,4	8,6*	0,1
05:30	6,8	0,1	6,7	0,1	6,9	0,5	8,7*	0,5	8,7*	0,4
06:00	6,7	0,4	6,6	0,4	6,7	0,3	8,6*	0,2	8,7*	0,3
06:30	7,0	0,3	7,1	0,3	7,0	0,2	8,6*	0,1	8,5*	0,5
07:00	6,1	0,5	6,0	0,3	6,1	1,2	8,7*	0,2	8,6*	0,4
07:30	6,9	0,4	7,0	0,4	7,1	0,3	8,7*	0,3	8,7*	0,3
08:00	7,1	0,3	7,0	0,1	6,9	0,2	8,7*	0,2	8,7*	0,4
08:30	7,0	0,3	6,9	0,4	6,8	0,2	8,6*	0,3	8,8*	0,4
09:00	7,0	0,4	7,2	0,3	7,3	0,3	8,8*	0,1	8,6*	0,5
09:30	7,0	0,5	7,1	0,4	7,1	0,3	8,7*	0,3	8,6*	0,1
10:00	6,8	0,1	6,9	0,3	6,8	0,6	8,4*	0,2	8,5*	0,2
AM (SD)	6,8	(0,26)	6,8	(0,30)	6,9	(0,25)	8,7*	(0,15)	8,7*	(0,16)

Tabelle 2: COHb-Werte der Untersuchung I im Verlauf. Dargestellt sind die gemessenen COHb-Werte bestimmt an den jeweiligen Entnahmepunkten (Periphere Vene=PV, Rechter Vorhof=RA, Arteria Pulmonalis=PA, Linker Vorhof=LA, Aorta descendens=AO). Die Werte sind in Anteilen von 100 des Gesamthämoglobins dargestellt, d.h. in % Gesamt-Hb. AM=Arithmetisches Mittel. SD=Standardabweichung. *= signifikant höher im Vergleich zu den präpulmonalen COHb Werten, $p < 0,05$.

Untersuchung I: Vergleich aller COHb Werte an den verschiedenen Abnahmeorten

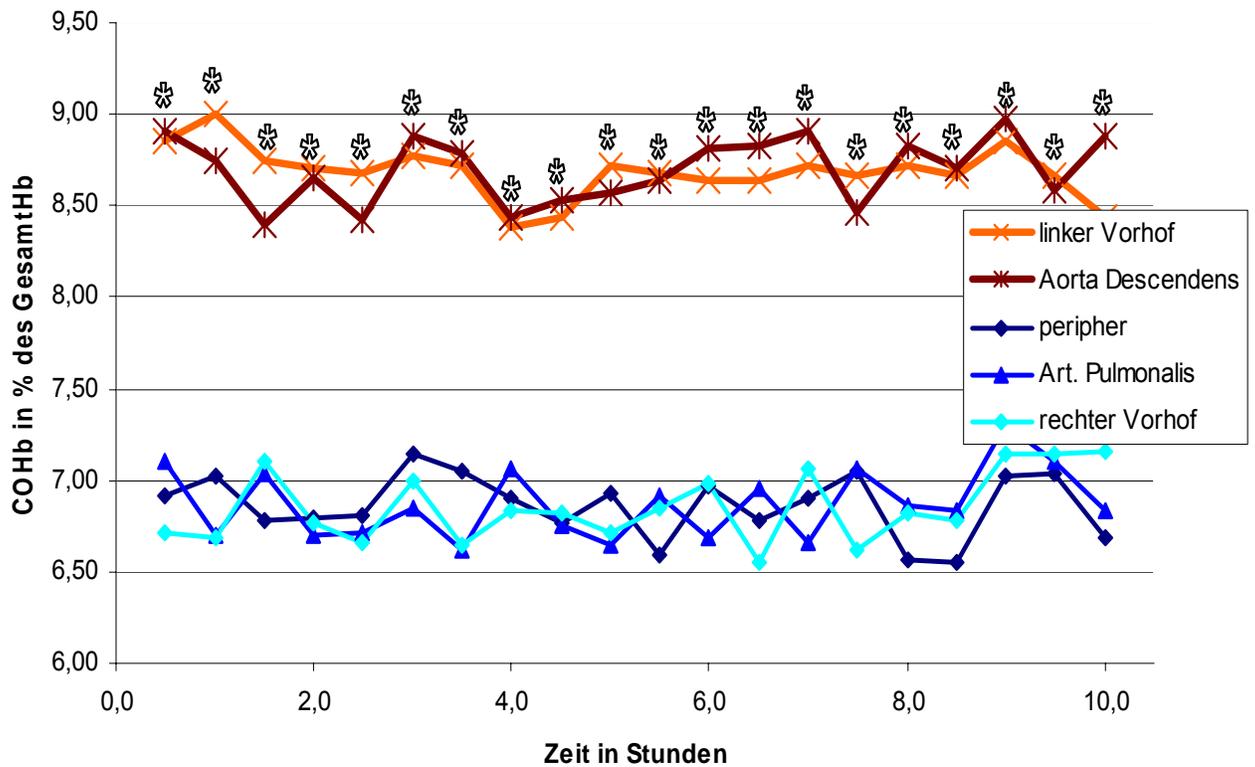


Abbildung 14: Graphische Darstellung aller COHb-Werte, bestimmt an den jeweiligen Entnahmeorten (Periphere Vene, Rechter Vorhof, Arteria Pulmonalis, Linker Vorhof, Aorta descendens). Die Werte sind in Anteilen von 100 des Gesamthämoglobins dargestellt, d.h. in % Gesamt-Hb. Alle präpulmonalen Werte (PV, PA, RA) sind, verglichen mit allen postpulmonalen Werten (LV, AO), signifikant höher $p < 0.05$ (=*, gilt sowohl für LA als auch AO).

3.1.3 Sauerstoffsättigung

Die erhobenen Sauerstoffsättigungen waren präpulmonal (PV,RA,PA) im Vergleich zu den postpulmonal (LA,AO) arteriell gemessenen Werten immer signifikant niedriger (Tabelle 3). Die postpulmonal arteriell gemessenen Werte sind dementsprechend im Mittel 32,0 Prozentpunkte höher. Im Verlauf der Untersuchung waren alle Sauerstoffsättigungen, bezogen auf die jeweiligen Entnahmepunkte, während des gesamten Untersuchungszeitraums unverändert, d. h. es konnte weder ein Anstieg, noch ein Abfall der Sättigungen an den entsprechenden Entnahmeorten festgestellt werden.

Untersuchung I - Sauerstoffsättigung O ₂ Hb über 10 Stunden am chronisch instrumentierten Hund (n=8). Angaben in Prozent										
Zeit in h	<i>präpulmonal</i>						<i>postpulmonal</i>			
	<i>Periphere Vene</i>	<i>SD +/-</i>	<i>Rechter Vorhof</i>	<i>SD +/-</i>	<i>Arteria Pulmonalis</i>	<i>SD +/-</i>	<i>Linker Vorhof</i>	<i>SD +/-</i>	<i>Aorta descendens</i>	<i>SD +/-</i>
0,0	66	0,3	65	0,3	71	0,4	100*	0,1	100*	0,4
0,5	65	0,1	68	0,4	70	0,5	99*	0,2	100*	0,1
1,0	66	0,1	69	0,3	72	0,1	100*	0,1	99*	0,1
1,5	68	0,1	66	0,1	69	0,2	100*	0,2	100*	0,4
2,0	66	0,3	64	0,3	70	0,6	99*	0,1	100*	0,3
2,5	63	0,2	65	0,1	68	0,5	100*	0,2	100*	0,1
3,0	66	0,3	66	0,1	69	0,1	100*	0,3	99*	0,4
3,5	66	0,3	63	0,3	68	0,6	100*	0,1	100*	0,2
4,0	68	0,1	68	0,2	71	0,2	99*	0,4	100*	0,2
4,5	66	0,1	65	0,1	74	0,4	100*	0,3	100*	0,1
5,0	63	0,1	68	0,1	73	0,2	100*	0,1	100*	0,1
5,5	66	0,5	69	0,2	68	0,4	100*	0,4	100*	0,2
6,0	68	0,2	66	0,1	67	0,4	100*	0,3	99*	0,3
6,5	66	0,3	71	0,2	72	0,5	99*	0,1	100*	0,1
7,0	68	0,4	68	0,1	73	0,4	100*	0,1	100*	0,4
7,5	64	0,3	69	0,2	74	0,1	100*	0,3	100*	0,3
8,0	63	0,1	66	0,1	69	0,1	100*	0,1	99*	0,1
8,5	66	0,1	70	0,1	70	0,2	99*	0,4	100*	0,1
9,0	62	0,4	68	0,3	68	0,4	100*	0,3	100*	0,2
9,5	63	0,2	69	0,5	74	0,5	100*	0,1	100*	0,2
10,0	68	0,4	66	0,3	75	0,4	100*	0,4	100*	0,3
AM (SD)	65,6	(1,9)	67,1	(2,1)	70,7	(2,4)	99,8*	(0,4)	99,8*	(0,4)

Tabelle 3: Sauerstoffsättigungen der Untersuchung I im Verlauf. Dargestellt sind die gemessenen Sauerstoffsättigungen, bestimmt an den jeweiligen Entnahmepunkten (PV, RA, PA, LV, AO). Die Werte sind in Prozent angegeben. 100 entspricht der maximalen Sauerstoffsättigung. AM=Arithmetisches Mittel. SD=Standardabweichung. *=signifikant im Vergleich zu den präpulmonalen Sättigungswerten. p<0.05.

3.1.4 CO-Gas-Bestimmungen

Die CO-Gas Bestimmungen mit dem Messgerät (siehe 2.2.4.2) mit dem aus dem Inspirationsschenkel des Beatmungsgerätes abgezweigtem Gasmisch enthielt maximal 0,1ppm (=parts per million) CO-Gas. Expiratorisch lagen die Werte aufgrund der physiologischen CO-Produktion in den Untersuchungstieren zwischen 2,6 ppm und maximal 8,1 ppm.

CO-Gas-Konzentrationen im Inspirationsgemisch		
	<i>Inspirationsgemisch</i>	<i>Expirationsgemisch</i>
<i>Tier Nummer</i>	<i>CO [ppm]</i>	<i>CO [ppm]</i>
1	0,0	2,6 *
2	0,0	6,7 *
3	0,1	7,2 *
4	0,0	3,7 *
5	0,0	8,1 *
6	0,1	4,8 *
7	0,0	6,6 *
8	0,1	4,8 *
Aritm. Mittel	0,0	5,6 *

Tabelle 4: CO-Konzentrationen im Inspirations- und Expirations-Gasmisch der beatmeten Tiere bei der Untersuchung I im Verlauf. Dargestellt sind die gemessenen CO-Konzentrationen bestimmt im Inspirations- und Expirationsschenkel des Beatmungsgerätes. Ursache für die höheren expiratorischen CO-Werte ist die CO-Produktion im Organismus. ppm=parts per million. *=signifikant erhöht im Vergleich zu den im Inspirationsschenkel gemessenen CO Werten. $p < 0.05$

3.2 Untersuchung II

Die erhobenen Daten konnten in vollem Umfang ausgewertet werden. Keines der Versuchstiere musste wegen Erkrankungen oder Funktionsstörungen des implantierten Materials von der Analyse ausgeschlossen werden.

3.2.1 Induktion eines hyperoxischen Lungenschadens

Der hyperoxische Lungenschaden wurde post mortem histologisch gesichert (s. 2.3.4.2)

3.2.2 Hämodynamikparameter, Laborwerte und Temperatur

Während des gesamten Versuchsablaufs wurden alle hämodynamischen Parameter im Normbereich gehalten (mittlerer arterieller Blutdruck von 70mmHg bis 110mmHg, Herzfrequenz von 90 bis 120 min⁻¹, pulmonaler Druck, Laborwerte, Körpertemperatur) zeigten keine pathologischen oder auffälligen Parameter (Daten nicht abgebildet).

3.2.3 COHb-Werte

Bei den dreistündlichen Blutentnahmen wurde präpulmonal (pulmonalarteriell entnommen, PA) und postpulmonal (entnommen im linken Atrium, LA) die COHb-Fraktion bestimmt (Tabelle 3). Wie in Untersuchung I lagen die postpulmonalen (LA) COHb-Werte höher als die präpulmonalen (PA). Im Untersuchungsverlauf, nahm die Differenz der prä- und postpulmonalen COHb-Werte zu (Abbildung 15).

zeitpunkt in Stunden	COHb pulmonal- arteriell	SD +/-	COHb linksatrial	SD +/-
0	6,87	0,18	7,17*	0,16
12	6,82	0,22	7,34*	0,27
24	6,43	0,29	7,17*	0,25
36	6,46	0,24	7,33*	0,24
48	6,13 [§]	0,24	6,91*	0,35
60	5,90 [§]	0,25	7,03*	0,16
72	5,30 [§]	0,22	6,70*, [§]	0,18
84	5,63 [§]	0,44	7,04*	0,28
96	5,17 [§]	0,19	7,14*	0,18
108	4,75 [§]	0,37	7,00*	0,24
120	4,52 [§]	0,42	6,90*	0,34

Tabelle 3: Absolute COHb-Werte entnommen aus der Pulmonalarterie, d.h. präpulmonal und linksatrial, d.h. postpulmonal, während 120-stündiger Beatmung mit 100% Sauerstoff. SD=Standardabweichung. *=signifikanter Unterschied im Vergleich zur PA, §=signifikant im Vergleich zum Ausgangswert

COHb prä- und postpulmonal bei 120 Stunden Beatmung mit 100% Sauerstoff

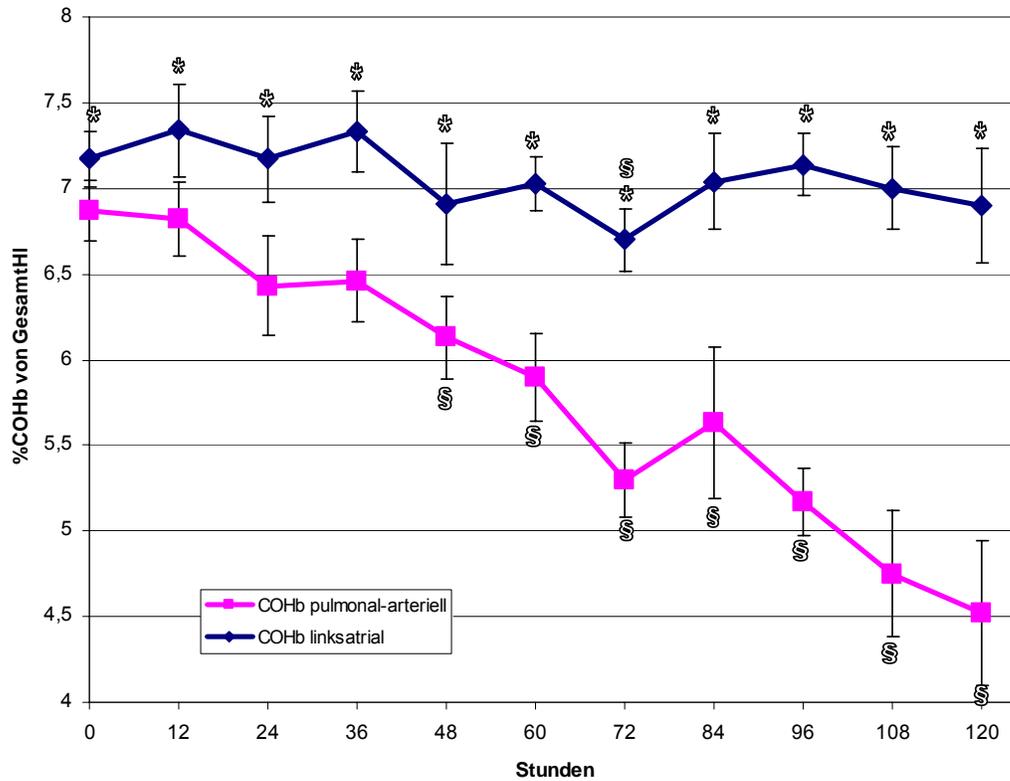


Abbildung 15: Graphische Darstellung der absoluten COHb-Werte, bestimmt in der Pulmonalarterie und im linken Atrium, während der Untersuchung über einen Zeitraum von 120 Stunden. Bereits nach 12 Stunden sanken die pulmonalarteriellen COHb-Werte. Nach 48 Stunden war der pulmonalarteriell COHb-Abfall signifikant. *=Signifikante arteriovenöse COHb-Differenz; §=Signifikant bezogen auf den Ausgangswert gemessen zum Zeitpunkt 0 ($p < 0,05$).

Während der Beatmung mit 100% O₂ nahm die arteriovenöse COHb-Differenz, bestimmt in der Pulmonalarterie und dem linken Vorhof, zu (Tabelle 3). Entsprechend verkleinerte sich der errechnete Quotient von pulmonalarteriellem COHb% dividiert durch das im linken Herzvorhof bestimmte COHb% (Tabelle 5 und Punkt 2.3.3.4). In den ersten 36 Stunden nahm die Differenz nur tendenziell zu, bzw. verkleinerte sich der Quotient nur tendenziell. Erst nach 48 Stunden wurde die Differenz signifikant (Tabelle 4).

Entnahmezeitpunkt in Stunden	<i>Quotient COHbLA/COHbPA</i>	<i>Standard- abweichung</i>
0	0,959	0,034
12	0,930	0,036
24	0,889	0,033
36	0,889	0,031
48	0,879*	0,023
60	0,859*	0,013
72	0,819*	0,011
84	0,799*	0,021
96	0,758*	0,029
108	0,719*	0,020
120	0,698*	0,028

Tabelle 4: Der Quotient, gebildet aus postpulmonalem (entnommen aus dem LA) COHb dividiert durch präpulmonalem COHb (entnommen aus der PA). Absolute Werte in **Tabelle 3**, nimmt unter Beatmung mit 100% Sauerstoff ab. Erst nach 48 Stunden ist die Verkleinerung des Quotienten signifikant (*), p<0,05

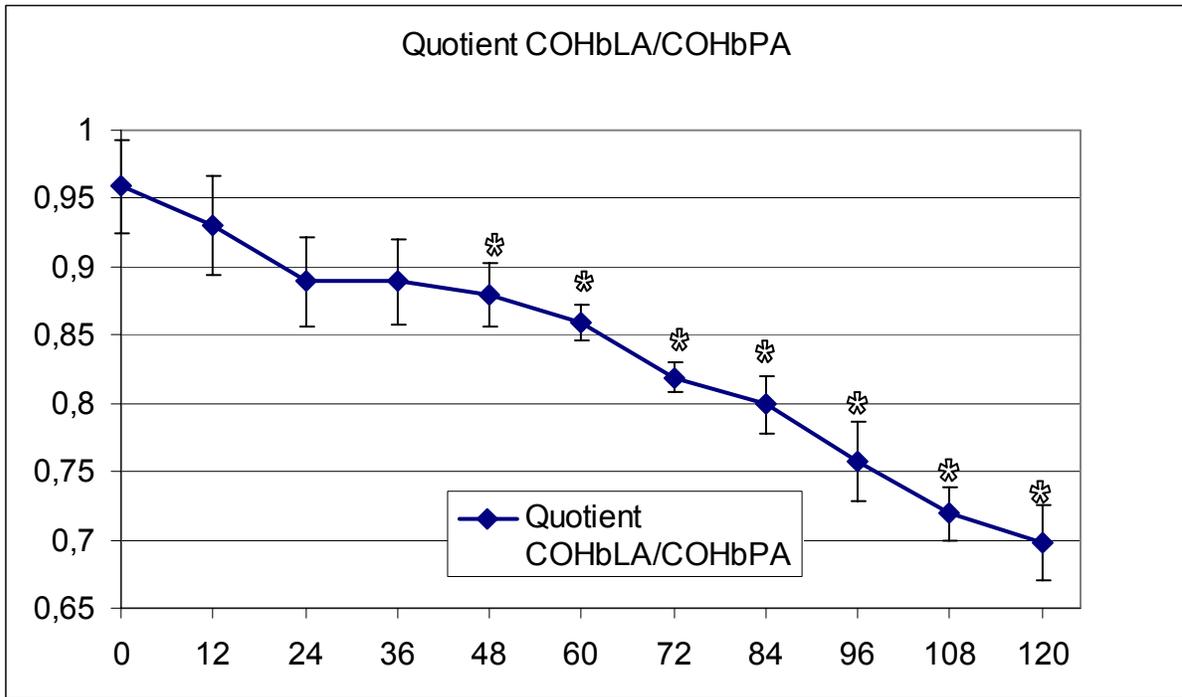


Abbildung 16: Die postpulmonalen (Entnahmeort LA) COHb-Werte dividiert durch die präpulmonalen COHb-Werte (Entnahmeort PA) dargestellt als Grafik (Zum Vergleich siehe Tabellen 3 und 4). Der Quotient, gebildet aus postpulmonalem (LA) COHb dividiert durch präpulmonales COHb (PA)(Absolute Werte in **Tabelle 3**), nimmt unter Beatmung mit 100% Sauerstoff ab. Erst nach 48 Stunden ist die Verkleinerung des Quotienten signifikant (*), $p < 0,05$

3.2.5 Sauerstoffsättigung

Während der Untersuchung fielen die in der Pulmonalarterie bestimmten Sauerstoffsättigungen tendenziell ab. Die im linken Vorhof bestimmten Sauerstoffsättigungen fielen nicht ab. Die übrigen Blutgaswerte lagen während der Untersuchung im Normbereich.

Entnahmezeitpunkt in Stunden	<i>O₂ Sättigung pulmonalarteriell</i>	<i>O₂ Sättigung linksatrial</i>
0	59,96	99,62
12	60,34	98,72
24	58,87	98,72
36	58,27	98,17
48	58,65	98,12
60	57,44	98,60
72	57,20	99,98
84	56,11	98,68
96	56,41	98,76
108	55,06	98,63
120	54,68	99,12

Tabelle 5: Sauerstoffsättigungen im Verlauf der Untersuchung II. Die venöse Sauerstoffsättigung nimmt im Verlauf der Untersuchung tendenziell ab.

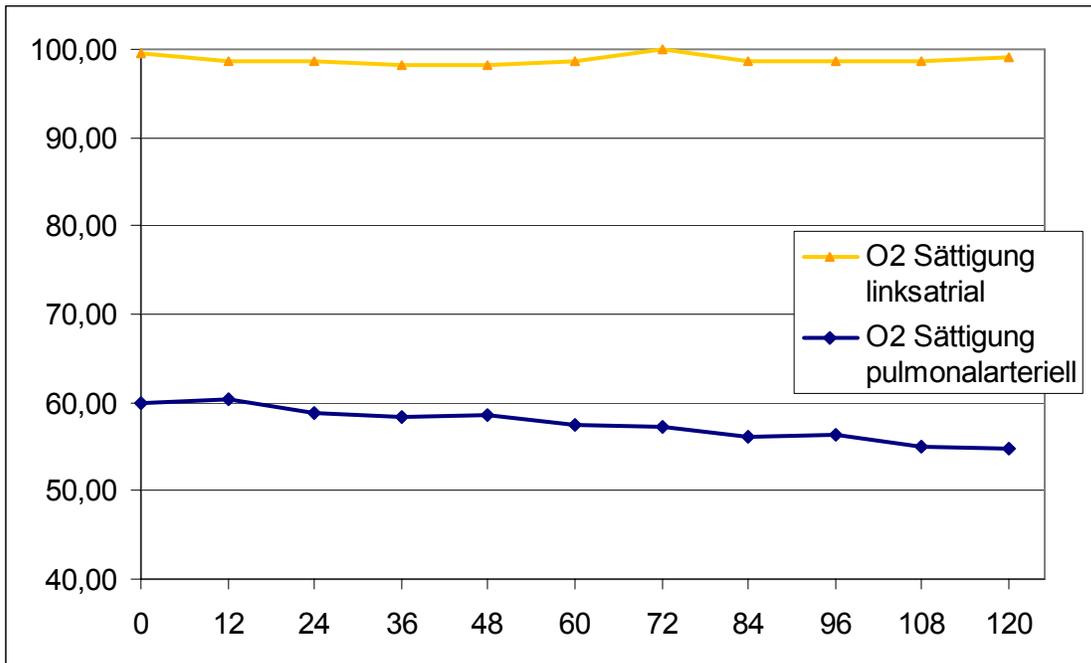


Abbildung 17: Pulmonalarterielle und linksatriale Sauerstoffsättigungen im Verlauf von 120 Stunden unter Beatmung mit 100% Sauerstoff. Während der Untersuchung fielen die in der Pulmonalarterie bestimmten Sauerstoffsättigungen tendenziell ab. Die im linken Vorhof bestimmten Sauerstoffsättigungen fielen nicht ab. Die übrigen Blutgaswerte lagen während der Untersuchung im Normbereich

3.4 Untersuchung III

3.4.1 Kohlenmonoxid-Hämoglobin in menschlichem Blut

Mit dem speziell geeichten ABL 625 (SAT 100, siehe 2.4.2.2) betragen die durchschnittlichen absoluten COHb-Werte, bestimmt im zentralvenösen Blut $1.07 \pm 0.36\%$ und $1.05 \pm 0.46\%$ im arteriellen Blut. Eine arteriovenöse Differenz zwischen zentralvenös und arteriell bestimmtem COHb, bestimmt mit dem ABL 625, war demnach auch nach der SAT 100 Kalibrierung nachweisbar. Der Unterschied von 0.09 war allerdings nicht signifikant. Mit dem speziell geeichten ABL 725 (SAT 100, siehe 2.4.2.2) betragen die durchschnittlichen absoluten COHb-Werte $1.04 \pm 0.38\%$ im zentralvenösen und $1.07 \pm 0.38\%$ im arteriellen Blut. Eine arteriovenöse Differenz zwischen zentralvenös und arteriell bestimmtem COHb, bestimmt mit dem ABL 725, war demnach auch nach der SAT 100-Kalibrierung nachweisbar. Der Unterschied von -0.03 war allerdings nicht signifikant.

ABL 625	n=20	
Zentralvenös COHb	AM	1,07
	SD +/-	0,36
Arteriell COHb	AM	1,05
	SD +/-	0,46

ABL 725	n=20	
Zentralvenös COHb	AM	1,04
	SD +/-	0,38
Arteriell COHb	AM	1,07
	SD +/-	0,38

Tabelle 6: Intraoperativ mit den ABL625 und ABL725 von Radiometer bestimmte arterielle und zentralvenöse COHb-Werte bei 20 gesunden Patienten. Eine SAT100-Kalibrierung wurde bei beiden Geräten durchgeführt. AM=Arithmetisches Mittel, SD=Standardabweichung

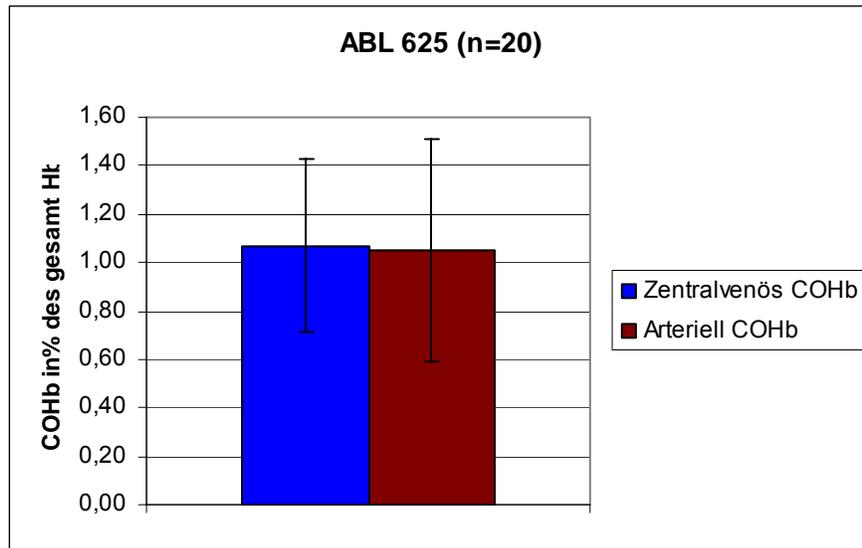


Abbildung 18: Intraoperativ mit dem ABL625 von Radiometer bestimmte absolute arterielle und zentralvenöse COHb-Werte bei 20 gesunden Patienten. Eine SAT100-Kalibrierung wurde durchgeführt.

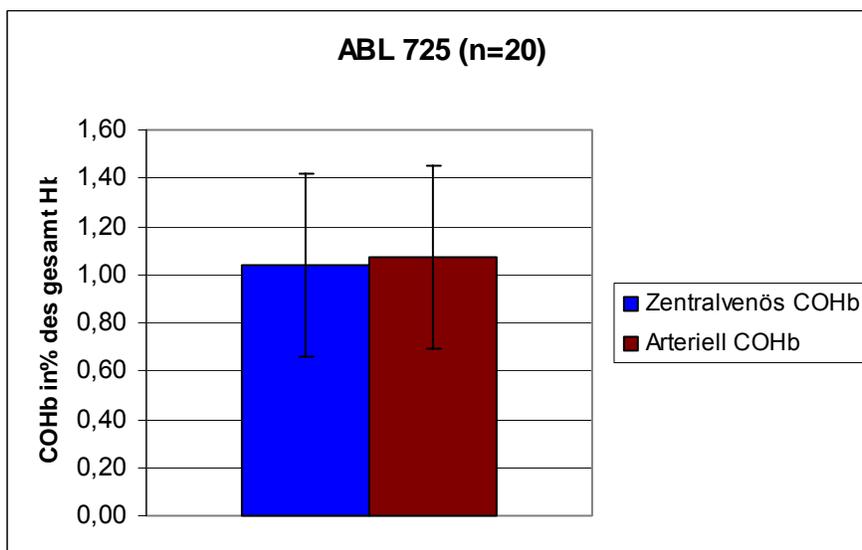


Abbildung 19: Intraoperativ mit den ABL725 von Radiometer bestimmte absolute arterielle und zentralvenöse COHb-Werte bei 20 gesunden Patienten. Eine SAT100-Kalibrierung wurde durchgeführt.

4. Diskussion

4.1 Allgemeine Diskussion

Die meisten neueren Blutgasanalysegeräte ermöglichen die Bestimmung von Kohlenmonoxidhämoglobin. Dies ist in erster Linie nötig bei Patienten mit Verdacht auf Kohlenmonoxidvergiftungen. Kohlenmonoxid tritt aber nicht nur bei Vergiftungen auf, sondern wird auch als Nebenprodukt beim Häm-Abbau vom Organismus selbst gebildet. Dieser Vorgang wird durch das Enzym Häm-Oxygenase katalysiert, das auch als Hitze-Schock-Protein 32 (HSP 32) bezeichnet wird. Hitzeschockproteine werden bei verschiedenen pathophysiologischen Vorgängen im Organismus von Mensch und Tier, z. B. bei oxidativem Stress oder Entzündungsvorgängen gebildet [1,56]. Dies gilt auch für HSP 32, bei dessen Bildung Kohlenmonoxid freigesetzt wird [50]. Inwieweit die CO-Konzentrationen im Organismus mit der Höhe der COHb-Konzentration im Blut übereinstimmen ist nicht eindeutig geklärt. Die Qualität der Blutgasanalytoren ist für die Beantwortung dieser Frage mitentscheidend, da die photometrische Bestimmung von COHb durch viele Störfaktoren beeinflusst, und die Ungenauigkeit durch die nötigen Rechenschritte vergrößert werden kann. Bei den geringen Mengen an CO die vom Organismus gebildet werden, müssten die Geräte äußerst genau arbeiten.

In der Vergangenheit wurden viele Hypothesen auf der Grundlage von gemessenen COHb-Werten formuliert. Diese werden aber nur dann plausibel, wenn die Geräte sehr präzise arbeiten. Dies ist eines der Fragestellungen, die wir als Ziel in unserer Untersuchung formulierten. Geringe Unterschiede in den COHb-Werten, zentralvenös und arteriell bestimmt, lassen beispielsweise auch auf eine vermehrte Produktion von endogenem CO in der Lunge schließen. Dies kann allerdings nur dann richtig sein, wenn diese geringen Unterschiede von den Geräten auch tatsächlich erfasst werden können. Die Frage, die sich daher an dieser Stelle ergibt ist, ob eine Korrelation mit den physiologischen Vorgängen bei der Bildung von CO durch HO mit COHb-Werten einer BGA überhaupt möglich ist. Leider wer-

den Informationen über Messgenauigkeit der Geräte nicht immer in wünschenswerter Weise von den Herstellerfirmen zur Verfügung gestellt, ob aus Angst vor dem Missbrauch von Firmenwissen oder anderen Gründen mag Spekulation bleiben.

Die Normwerte von COHb sind beim Hund konstitutionell höher als beim Menschen. Eine Extrapolation von am Hund entnommenen Oximeter-Daten ist aber nach TREMPER et al. prinzipiell möglich [61]. Von der Firma Radiometer wurde speziell für die Anforderungen der Experimentalmedizin und für verschiedene Tierarten, so auch für den Hund, ein eigenes BGA-Gerät entwickelt. Dieses Gerät, der Hämoximeter OSM3, Radiometer, erlaubt direkte Messungen im animalen Blut. Eine spätere Umrechnung der Werte ist daher nicht notwendig. Zu erwähnen ist hier allerdings, dass die Messeinrichtung sich nicht von anderen Geräten unterscheidet. Es wird lediglich eine zusätzliche Berechnung mit Hilfe einer speziellen Software des OSM3 durchgeführt. Die Werte die mit dem OSM3 bestimmt werden, sind daher also nicht genauer. Sie werden nur umgerechnet, wodurch die Messung an sich nicht genauer werden kann, sondern eher ungenauer wird. Bei der Verwendung der Originalwerte ist die Messgenauigkeit also wahrscheinlich weniger beeinflusst. Aus diesen Überlegungen heraus wurden bei den Berechnungen der COHb-Werte die erhobenen Originalwerte ohne Umrechnung benutzt, da nicht die Absolutwerte im Vordergrund stehen, sondern nur die relativen Werte zueinander. MEYER et al. [42] konnten nachweisen, dass sowohl bei gesunden Probanden, als auch bei kritisch kranken Patienten auf einer Intensivstation, die arteriell gemessenen COHb-Werte höher sind als die venösen. Daneben hatten die kritisch kranken Patienten insgesamt höhere COHb-Werte, bei nach wie vor vorhandener arteriovenöser Differenz. Die insgesamt höheren COHb-Werte könnte man hier in diesem Zusammenhang als Korrelat einer erhöhten Hämoxigenaseaktivität im Organismus werten.

Diese Induktion der Hämoxygenase entsteht bei allen Vorgängen im Organismus, bei denen es auch zu einer Induktion von Hitzeschockproteinen kommt. Alle Vorgänge, welche schon erwähnt wurden, wie beispielsweise Entzündungsvorgänge unterschiedlichster Genese, findet man gehäuft bei Intensivpatienten. Dementsprechend ist bei Intensivpatienten oder kritisch kranken Patienten auch das HSP 32 (HO-1) erhöht [45]. Im Gegensatz zu allen anderen Hitzeschockproteinen ist HSP 32 auch als Enzym wirksam. Bei dem enzymatischen Abbau von Häm wird, katalysiert durch HO, Kohlenmonoxid (CO) freigesetzt. Dieses vermehrt im Organismus anfallende CO ist mit einer erhöhten enzymatischen Aktivität und dadurch letztendlich auch mit einer quantitativ vermehrten Menge an induzierbarem HO-1 korrelierbar. Trifft dies zu, so könnte man eventuell durch die Bestimmung von COHb im Blut eine zusätzliche diagnostische Möglichkeit gewonnen haben, Entzündungsvorgänge im Organismus zu detektieren. Zumindest würde das für diejenigen Vorgänge gelten, die mit der Bildung von HSP 32 einhergehen. Normalerweise kann man HSP im vitalen Organismus nicht ohne weiteres bestimmen. Ein klinischer Einsatz einer solchen Bestimmung ist momentan nicht verfügbar. Ganz im Gegensatz dazu ist es sehr einfach möglich COHb zu messen. Es stellt sich die Frage, ob die mit einer einfachen BGA-Analyse erhaltenen COHb-Werte mit den tatsächlichen Werten übereinstimmen oder besser gesagt, ob die Messmethode genau genug ist, um solch feine Schwankungen zu detektieren. Sollte es allerdings tatsächlich möglich sein, so könnte man zumindest ein HSP – das HSP 32 – quantitativ im vitalen Organismus über seinen Metaboliten CO oder COHb bestimmen. Das wäre ein großer Fortschritt und möglicherweise bei der Behandlung von Lungenschäden oder bei der Überwachung von beatmungsassoziierten Lungenschäden klinisch relevant.

4.2 Diskussion des Versuchsablaufes

In einem ersten Schritt wurde von uns tierexperimentell überprüft, inwieweit die COHb-Werte, ursprünglich im Menschen erhoben, im Tier nachvollziehbar sind. Dafür benutzten wir chronisch instrumentierte Hunde, die nach einer gewissen Erholungszeit auf diese Fragestellung hin untersucht wurden. Die Tiere mussten sich komplett von dem chirurgischen Eingriff erholt haben und sie durften auch sonst keine Infektionszeichen zeigen. Dies ist wichtig, um eine artifizielle HSP 32 Induktion ausschließen zu können. Die Hunde wurden einer Allgemeinanästhesie in Form einer TIVA unterzogen und dann entsprechend dem Protokoll mit einem pulmonalarteriellen Katheter versorgt. Der PAK wurde erst am Versuchstag eingeschwenkt, damit während der postoperativen Erholungsphase keine durch ihn getriggerte Infektion auftritt. Dies hätte, wie schon erwähnt, einen Einfluss auf eine etwaige HSP 32-Induktion gehabt. Die Tiere wurden während der Allgemeinanästhesie mit Raumluft beatmet. Die Inspirationsluft, als auch Expirationsluft wurden auf das Vorhandensein von CO hin untersucht. Erwartungsgemäß waren die inspiratorischen CO-Werte fast Null, während die CO-Konzentrationen in der Expirationsluft deutlich höher lagen. Wir konnten weiterhin feststellen, dass auch die von MEYER et al. beschriebene arteriovenöse COHb-Differenz im Hund nachweisbar war. Die im Mensch erhobenen Befunde sind somit auch im Tierexperiment reproduzierbar. Die Frage blieb allerdings offen, woher genau das exhalierete CO kam, denn die Differenz der prä- und postpulmonal erhobenen COHb-Werte wäre auch durch ein Artefakt erklärbar. Im Gegensatz dazu ist allerdings die Tatsache unstrittig, dass auch der Hund CO produziert. Welche Organe genau an der CO Bildung beteiligt sind und in welchem Verhältnis sie zu der Gesamtmenge des gebildeten CO beitragen ist jedoch so nicht zu klären.

In einem ersten Schritt war also der Nachweis gelungen, dass der Hund relevante Mengen an CO produziert und zwar unter annähernd „physiologischen“ Bedingungen, sieht man davon ab, dass die Hunde chronisch instrumentiert waren.

Weiterhin war mit der ersten Untersuchung der Nachweis gelungen, dass die von MEYER et al. beschriebene arteriovenöse Differenz auch im Hund vorhanden ist. Zu dem damaligen Zeitpunkt war die aktuelle Baureihe 700 von Radiometer noch nicht verfügbar. Alle Untersuchungen waren daher also nur mit dem vorhandenen BGA Gerät der 600er Baureihe durchführbar. Nach Rücksprache mit der Firma Radiometer und nach Rücksprache mit der Arbeitsgruppe um MEYER et al., waren die COHb-Werte als valide anzusehen. In einem zweiten Versuchsansatz wurde, aufbauend auf den bisherigen Erkenntnissen, die Frage nach der pulmonalen CO-Bildung formuliert. Wie schon beschrieben, ist es bereits in anderen Versuchsansätzen [42] gelungen, eine pulmonale CO-Bildung nachzuweisen. Die Korrelation dieser pulmonalen CO-Bildung mit COHb-Werten in der BGA-Analyse, war und ist bisher nicht erfolgt. Aus diesem Grund wurde in dem zweiten Versuchsansatz eine pulmonale CO-Bildung kontrolliert induziert. Die Induktion von HSP 32 oder HO-1, bzw. CO gelingt nach TAYLOR et al. [58] durch die Beatmung mit reinem Sauerstoff. Sauerstoff in hoher Konzentration ist für das Lungenparenchym toxisch, vor allem aber für die Pneumozyten II (Alveolarepithelzellen II). Pneumozyten II bilden Surfactant, ein Proteinphospholipidfilm, der hauptsächlich aus Lecithin besteht. Dieser Flüssigkeitsfilm überdeckt die gesamte Alveolaroberfläche und dient der Reduktion der Oberflächenspannung an den Lungenalveolen und ermöglicht den Gasaustausch.

Unter der Wirkung des reinen Sauerstoffs, wäre entsprechend unserer und anderer Ergebnisse ein Anstieg der arteriellen COHb-Werte zu erwarten gewesen. Die prä- und postpulmonalen Carboxyhämoglobindifferenz hätte größer werden müssen und dementsprechend der Quotient (Arterieller COHb dividiert durch pulmonalvenöses COHb) kleiner. Während des mehrtägigen Experiments kam es tatsächlich zu einer Verkleinerung des beschriebenen Quotienten, nicht aber durch eine Erhöhung des arteriellen COHb-Wertes, sondern durch eine kontinuierliche Erniedrigung des pulmonalarteriellen COHb-Wertes. Das Rechenergebnis bleibt dabei logischerweise konstant, aber unter komplett anderen Bedingungen. Die Tiere verschlechterten sich im Laufe des Experiments klinisch kontinuierlich und es

erfolgte unter anderem dadurch eine vermehrte Desaturierung des venösen Blutes. Diese Verringerung der Sauerstoffsättigung lässt sich folgendermaßen erklären: Hyperoxie führt zu bestimmten sauerstoffabhängigen Reaktionen (Reactive oxygen species, ROS), zum Beispiel dem Anstieg des Superoxid-Anion und Wasserstoffperoxid (H_2O_2), das die Lunge schädigen kann [3,15]. Länger andauernde Exposition mit 100% Sauerstoff schädigt diffus das Epithel und Endothel der Lungenkapillaren und führt zu starker Infiltration mit Entzündungszellen und zu interstitiellen, intraalveolären Ödemen [9,13,14,18]. So sterben zum Beispiel Ratten, die dauerhaft 100% Sauerstoff ausgesetzt sind aufgrund von Respirationsversagen nach 66-78 Stunden [10]. Der beschriebene Epithelschaden wirkt sich so auf die Epi- und Endothelfunktion aus, so dass es zu einer verminderten Sauerstoffaufnahme kommt, unter anderem dadurch, da die Alveolarsepten entzündlich und ödematös verdicken. In Folgearbeiten gelang es WESTPHAL et al. [64] nachzuweisen, dass die Bestimmung von COHb sättigungsabhängig ist, d.h. je niedriger die Sättigung ist, desto niedriger ist auch der gemessene COHb-Wert. Mit dem tatsächlichen Wert hat dies aber nichts zu tun! Zu diesem Zeitpunkt war aber diese Technik noch nicht klinisch verfügbar. Aufgrund der Ergebnisse der Untersuchung II, wurde erneut Kontakt mit der Firma Radiometer aufgenommen. In den Gesprächen mit der Firma wurde deutlich, dass die Geräteeigenschaften keine genaue Messung von COHb zulassen. Es war zu diesem Zeitpunkt eine neue Generation von BGA Messgeräten, die ABL 700er Baureihe, kurz davor der Öffentlichkeit präsentiert zu werden. Die Geräte dieser Baureihe ermöglichen eine wesentlich genauere Bestimmung von COHb. Allerdings ist auch dafür eine spezielle Eichung notwendig, die vom Hersteller „SAT 100“ bezeichnete Prozedur [63]. Damit ist die prä- und postpulmonalen Carboxyhämoglobindifferenz nicht mehr nachweisbar. Die genaue Vorgehensweise bei dieser SAT 100-Eichung wird allerdings von der Firma Radiometer nicht detailliert veröffentlicht. Da aufgrund dieser Erkenntnisse alle bisher gestellten Hypothesen neu hinterfragt werden mussten, wurde die initiale Hypothese von MEYER et al. in einer dritten klinischen Untersuchung mit den Geräten der neuen

Baureihe erneut überprüft. Bei beiden Geräten (ABL 625 und ABL 700) wurde eine zusätzliche SAT 100-Kalibrierung durchgeführt. Die Werte wurden in einem ähnlichen Design wie bei MEYER et al. beschrieben, erneut erhoben. Es waren bei diesen Patienten mit den neuen Geräten der 700er Baureihe prä- und postpulmonal keine Carboxyhämoglobindifferenzen mehr nachweisbar. Aufgrund dieser Ergebnisse muss man also davon ausgehen, dass die prä- und postpulmonale Carboxyhämoglobindifferenz ein Artefakt darstellt.

Dieses Artefakt muss dementsprechend auch technisch erklärbar sein. Die technischen Unzulänglichkeiten bei der COHb-Analyse konnten 1993 von MAHONEY et al. [36] gezeigt werden. Bei der Untersuchung von fünf verschiedenen Co-oximetern, ebenfalls Blutgasanalytoren, fiel auf, dass bei niedrigen COHb-Konzentrationen sämtliche von ihnen untersuchten Geräte in diesem niedrigen COHb-Bereich ungenaue Werte angaben. Bei Konzentrationen von über 5.0% COHb waren die gemessenen Werte aber akzeptabel. MAHONEY et al. untersuchten jedoch nicht die Sauerstoffabhängigkeit dieser COHb-Messungen. Die Ursache für diese Messfehler ist wahrscheinlich ein geringer Unterschied in der Wellenlängenjustierung der zentralen Photometereinheiten bei älteren Baureihen (z.B. der 600er Reihe der FA Radiometer). Die Hämoglobin-Bestimmung der BGA-Geräte erfolgt photometrisch. Die COHb-Fraktion ist beim nicht-intoxikierten Patienten normalerweise gering. Kleine Veränderungen der großen Gesamthämoglobinfraktion haben dementsprechend nur einen geringen Einfluss auf die kleineren Fraktionen, wie die COHb- oder Met-Hb-Fraktion. Liegt das Blut allerdings in einem desaturierten Zustand vor, verändert dies die Gesamtfraktion auch deutlich. Der Einfluss der Gesamtfraktion wird daher sehr viel größer und damit schwankt die Genauigkeit der davon abhängigen errechneten Unterfraktionen. Die Folgen sind ungenaue Werte. Offensichtlich führte dies bei den älteren BGA-Geräten zu Fehlbestimmungen. Die neuere Baureihe misst, wie oben beschrieben, anstatt mit sechs nun mit 128 verschiedenen Wellenlängen. Dadurch wird die Messungengenauigkeit deutlich reduziert. Allerdings sind auch dafür Rechenschritte notwendig. Es bleibt unklar, ob die Genauigkeit und Sättigungsunabhängigkeit der ABL 700-Serie auf Blutproben mit

niedriger Sättigung übertragbar sind. Hierzu müssen weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

Die klinische Relevanz dieses Phänomens ist noch nicht ausreichend beantwortet. Ungeachtet dessen hängt bei den hier verwendeten Geräten die Messgenauigkeit in hohem Maße von der im Herstellerhandbuch angegebenen regelmäßigen Kalibrierungen ab. Dies beinhaltet alle drei Monate die ctHb-Kalibrierung [30] sowie die automatisch durchgeführte Nullpunktkalibrierung, die die Geräte selbst vor jedem Messvorgang durchführen. Dies gilt vor allem für die Geräte der älteren Generation, z. B. die der 600er Reihe wenn errechnete Fraktionen wie beispielsweise das COHb untersucht werden.

Zusammenfassend kann man also sagen, dass jedes BGA-Gerät sehr genau und speziell geeicht werden sollte. Sehr kleine COHb-Differenzen sind nach allem was bisher untersucht wurde eher als artifiziell aufzufassen. Inwieweit sich die von WESTPHAL et al. beschriebene Sättigungsabhängigkeit auf schwer desaturierte Patienten, beispielsweise im Rahmen einer CO-Vergiftung, auswirken, bleibt ebenfalls unklar. Alle COHb-Werte, die im nicht vollständig gesättigtem Hämoglobin in der BGA untersucht werden, müssen prinzipiell hinterfragt werden. Eine Validierung dieser Werte ist daher in zukünftigen Untersuchungen anzustreben.

5. Literaturverzeichnis

- 1 Alcaraz MJ, Fernandez P, Guillen MI (2003) Anti-inflammatory actions of the heme oxygenase-1 pathway. *Curr Pharm Des.* 9(30):2541-51. Review
- 2 Blutgas-, Oximetrie- und Elektrolytsysteme Referenzhandbuch (1995), Radiometer Medical A/S, Copenhagen
- 3 Brigham KL, Meyrick B (1986) Endotoxin and lung injury. *Am Rev Respir Dis* 133:913-927: Review
- 4 Brown PE, McClave, SA, Hoy NW, Short LK, Sexton LK, Meyer KL (1993) The acute physiology and Chronic health evaluation II classification system is a valid marker for physiological stress in the critically ill patient. *Crit Care Med* 21:363-367
- 5 Camhi SL, Lee P, Choi AM (1995) The oxidative stress response. *New Horiz* 3:170-82. Review
- 6 Camhi SL, Alam J, Otterbein L, Sylvester SL, Choi AMK (1995) Induction of heme oxygenase-1 gene expression by lipopolysaccharide is mediated by AP-1 activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 13:387-398
- 7 Cantoni L, Rossi C, Rizzardini M, Gadina M, Ghezzi P (1991) Interleukin-1 and tumour necrosis factor induce hepatic haem oxygenase. Feedback regulation by glucocorticoids. *Biochem J* 279:891-4
- 8 Choi AM, Alam J (1996) Heme oxygenase-1: function, regulation, and implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 15(1):9-19. Review
- 9 Clark JM, Lambertsen CJ (1971) Pulmonary oxygen toxicity: a review. *Pharmacol Rev* 23:37-133

- 10 Clerch LB, Massaro JD (1993) Tolerance of rats to hyperoxia. Lung antioxidant enzyme gene expression. *J Clin Invest* 91:499-508
- 11 Coburn RF, Blakemore WS, Forster RE (1963) Endogenous carbon Monoxide Production In Man. *Journal of Clinical Investigation* 42(7):1172-1178
- 12 Coburn RF, Forman HJ (1986) Carbon monoxide toxicity. In: Farhi LE, Tenney SM (eds) *Handbook of physiology, section 3: the respiratory system, vol IV.* American Physiological Society, Bethesda, p 439
- 13 Crapo JD, Barry BE, Foscue HA, Shelburne JS (1980) Structural and biochemical changes in rat lungs occurring during exposures to lethal and adaptive doses of oxygen. *Am Rev Resp Dis* 122: 123-143
- 14 Crapo JD, Peters-Golden M, Marsh-Salin J, Shelburne JS (1978) Pathologic changes in the lungs of oxygen-adapted rats: a morphometric analysis. *Lab Invest* 39:640-653
- 15 Crapo JD, Tierney DF (1974) Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity. *Am J Physiol* 226:1401-1407
- 16 Donnelly LE, Barnes PJ (2001) Expression of heme oxygenase in human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 24(3):295-303
- 17 Fidone SJ, Gonzalez C (1986) Initiation and control of chemoreceptor activity in the carotid body. In: Cherniack NS, Widdicombe JG (eds) *Handbook of physiology, section 3: the respiratory system, vol II.* American Physiological Society, Bethesda, S 247
- 18 Freeman B, Crapo JD (1981) Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lungs and lung mitochondria. *J Biol Chem* 256:10986-10992

- 19 Gemsa C, Woo CH, Fudenberg HH, Schmid R (1973) Erythrocyte catabolism by macrophages in vitro. The effect of hydrocortisone on erythrophagocytosis and on the induction of heme oxygenase, *J Clin Invest* 52(4):812-22
- 20 Gemsa D, Woo CH, Fudenberg HH, Schmid R (1974) Stimulation of heme oxygenase in macrophages and liver by endotoxin., *J Clin Invest* 53(2):647-51
- 21 Gemsa D, Steggemann L, Menzel J, Till G (1975) Release of cyclic AMP from macrophages by stimulation with prostaglandins, *J Immunol* 114(4):1422-4
- 22 Gréhant, N. *Les Gaz du Sang*. Paris, G. Masson, 1894 [zitiert nach Coburn 1963]
- 23 Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ (1998) Raised levels of exhaled carbon monoxide are associated with an increased expression of heme oxygenase-1 in airway macrophages in asthma: a new marker of oxidative stress. *Thorax* 53(8):668-72
- 24 Horvath I, Loukides S, Wodehouse T et al (1998) Increased levels of exhaled carbon monoxide in bronchiectasis: a new marker of oxidative stress. *Thorax* 53(10):867-70
- 25 Hunter K, Mascia M, Eudarc P, Simpkins C (1994) Evidence that carbon monoxide is a mediator of critical illness. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 40:507-510
- 26 Jiang D, Shi Y, Li H (1999) Evidence of increased endogenous carbon monoxide production in asthma. *Zhonghua Jie he He Hu Xi Za Zhi* 22(4):231-3 (Abstract. Article in Chinese)
- 27 Keyse SM, Tyrrell RM (1987) Both near ultraviolet radiation and the oxidizing agent hydrogen peroxide induce a 32-kDa stress protein in normal human skin fibroblasts. *J Biol Chem* 262(30):14821-5

- 28 Keyse SM, Tyrrell RM (1989) Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:99-103.
- 29 Koehler RC, Traystman RJ (2002) Cerebrovascular effects of carbon monoxide. *Antioxid Redox Signal* 4(2):279-90
- 30 Referenzhandbuch der ABL700 Serie (1998) Kopenhagen: Radiometer Medical A/S
- 31 Krarup T (1998) Das ABLTM700 Oximeter: Eine technische Beschreibung. RADIOMETER Bulletin Nr. 2. Kopenhagen: Radiometer Medical A/S
- 31 Krarup T (1992) Der Tiefe Einblick. Entscheidende Blutgas-Analyse-Information. Kopenhagen: Radiometer A/S 1-14
- 32 Krarup T (1998) Das ABLTM700 Oximeter: Neue Standarts für die Erkennung von Interferenzen. RADIOMETER Bulletin Nr. 3. Kopenhagen: RADIOMETER Medical A/S
- 33 Krzeminski A (1992) Why correct for fetal hemoglobin in blood oximetry measurements? Info No. 1992-3, Radiometer A/S, Copenhagen, Denmark
- 34 Lavrovsky Y, Drummond GS, Abraham NG (1996) Downregulation of the human heme oxygenase gene by glucocorticoids and identification of 56b regulatory elements. *Biochem Biophys Res Commun* 218:759-65
- 35 Lee PJ, Alam J, Sylvester SL, Inamdar N, Otterbein L, Choi AM (1996) Regulation of heme oxygenase-1 expression in vivo and in vitro in hyperoxic lung injury, *Am J Respir Cell Mol Biol* 14(6):556-68

- 36 Mahoney JJ, Vreman HJ, Stevenson DK, Van Kessel AL (1993) Measurement of carboxyhemoglobin and total hemoglobin by five specialized spectrophotometers (CO-oximeters) in comparison with reference methods. Clin Chem 39(8):1693-700
- 37 Maines MD (1988) Heme oxygenase: function, multiplicity, regulatory mechanisms, and clinical applications, FASEB J 2(10):2557-68. Review
- 38 Maines MD (1997) The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. Annu Rev Pharmacol Toxicol 37:517-554
- 39 Maines MD, Trakshel, Kutty (1986) Characterization of two constitutive forms of rat liver microsomal heme oxygenase: only one molecular species of the enzyme is inducible. J Biol Chem 261:411-419
- 40 Martens H (1998) Multivariate calibration, quantitative interpretation of non selective chemical data. Dr. Techn. Thesis, NTH, Univ. of Trondheim
- 41 McCoubrey WK Jr, Huang TJ, Maines MD (1997) Isolation and characterization of a cDNA from the rat brain that encodes hemoprotein heme oxygenase-3. Eur J Biochem 247(2):725-32
- 42 Meyer J, Prien T, Van Aken H, Bone HG, Waurick R, Theilmeier G, Booke M (1998) Arterio-venous carboxyhemoglobin difference suggests carbon monoxide production by human lungs. Biochem Biophys Res Commun 244(1):230-2
- 43 Monma M, Yamaya M, Sekizawa K, Ikeda K, Suzuki N, Kikuchi T, Takasaka T, Sasaki H (1999) Increased carbon monoxide in exhaled air of patients with seasonal allergic rhinitis. Clin Exp Allergy 29:1537-1541
- 44 Morse D, Sethi J (2002) Carbon monoxide and human disease. Antioxid Redox Signal 4(2):331-8

- 45 Mumby S, Upton RL, Chen Y, Stanford SJ, Quinlan GJ, Nicholson AG, Gutteridge JM, Lamb NJ, Evans TW (2004) Lung heme oxygenase-1 is elevated in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 32(5):1130-5
- 46 Otterbein L, Sylvester SL, Choi AMK (1995) Hemoglobin provides protection against lethal endotoxemia in rats: the role of heme oxygenase-1. *Am J. Respir. Cell Mol. Biol* 13:595-601
- 47 Ou HS, Yang J, Dong LW, Pang YZ, Su JY, Tang CS, Liu NK (1999) Role of endogenous carbon monoxide in the pathogenesis of hypotension during septic shock. *Sheng Li Xue Bao* 51(1):1-6 (Abstract. Article in Chinese)
- 48 Pagano A, Barazzone-Argiroffo C (2003) Alveolar cell death in hyperoxia-induced lung injury. *Ann N Y Acad Sci* 1010:405-16. Review
- 49 Paredi P, Shah PL, Montuschi P, Sullivan P, Hodson ME, Kharitonov SA, Barnes PJ (1999) Increased carbon monoxide in exhaled air of patients with cystic fibrosis. *Thorax* 54:917-920
- 50 Rodgers PA, Vreman HJ, Dennery PA, Stevenson DK (1994) Sources of carbon monoxide (CO) in biological systems and applications of CO detection technologies. *Semin Perinatol* 18(1):2-10. Review
- 51 Sabaawy HE, Zhang F, Nguyen X, ElHosseiny A, Nasjletti A, Schwartzman M, Dennery P, Kappas A, Abraham NG (2001) Human heme oxygenase-1 gene transfer lowers blood pressure and promotes growth in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 38(2):210-5
- 52 Scharte M, Bone HG, Aken H Van, Meyer J (2000) Increased carbon monoxide in exhaled air of critically ill patients. *Biochem Biophys Res Commun* 267:423-426

- 53 Schmidt, Thews, Lang (2000) Physiologie des Menschen. Springer, Berlin Heidelberg New York 26. Aufl. S 613
- 54 Smith CV and Welty SE (1999) Molecular mechanisms of oxygen-induced lung injury. In: Bland RD, Coalson J (Hrsg) Chronic Lung Disease in Early Infancy. Mercel Dekker, New York S 749-778
- 55 Soares MP, Usheva A, Brouard S, Berberat PO, Gunther L, Tobiasch E, Bach FH (2002) Modulation of endothelial cell apoptosis by heme oxygenase-1-derived carbon monoxide., *Antioxid Redox Signal* 4(2):321-9
- 56 Takahashi T, Morita K, Akagi R, Sassa S (2004) Protective role of heme oxygenase-1 in renal ischemia. *Antioxid Redox Signal* 6(5):867-77
- 57 Taketani S, Kohno H, Yoshinaga T, Tokunaga R (1988) Induction of heme oxygenase in rat hepatoma cells by exposure to heavy metals and hyperthermia. *Biochem Int* 17(4):665-72
- 58 Taylor JL, Carraway MS, Piantadosi CA (1998) Lung-specific induction of heme oxygenase-1 and hyperoxic lung injury. *Am J Physiol* 274(4 Pt 1):L582-90.
- 59 Tenhunen R, Marver HS, Schmid R (1968) The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. *Proc Natl Acad Sci* 61:748-755
- 60 Tenhunen R, Marver HS, Schmid R (1970) The enzymatic catabolism of hemoglobin: stimulation of microsomal heme oxygenase by hemin. *J Lab Clin Med* 75(3):410-21
- 61 Tremper KK, Barker SJ (1989) Pulse oximetry. *Anesthesiology* 70(1):98-108
- 62 Wang R, Wang Z, Wu L (1997) Carbon monoxide-induced vasorelaxation and the underlying mechanisms. *Br J Pharmacol* 121(5):927-34

- 63 Weber TP, Grosse Hartlage MA, Meyer J, Van Aken H, Uhlig S, Rolf N (2000) Arteriovenous carboxyhemoglobin gradient is a technical artifact that is eliminated by special calibration (SAT 100). *Biochem Biophys Res Commun* 278(2):447-8
- 64 Westphal M, Weber TP, Meyer J, von Kegler S, Van Aken H, Booke M (2002) Affinity of carbon monoxide to hemoglobin increases at low oxygen fractions. *Biochem Biophys Res Commun* 295(4):975-7
- 65 Yamaya M, Sekizawa K, Ishizuka S (1998) Increased Carbon Monoxide in Exhaled Air of Subjects with Upper Respiratory Tract Infections. *Am J Respir Crit Care Med* 158:331-314
- 66 Zakhary, Gaine, Dinerman (1996) Heme oxygenase 2: Endothelial and neuronal localization and role in endothelium-dependent relaxation. *Proc Natl Acad Sci* 93:795-798
- 67 Zander R, Mertzlufft FO (1998) *Der Sauerstoff-Status des arteriellen Blutes*, Karger, Basel
- 68 Zayasu K, Sekizawa K, Okinaga S (1997) Increased carbon monoxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 156:1140-3
- 69 Zijlstra WG, Buursma A, Meeuwssen-van der Roest WP (1991) Absorption spectra of human fetal and adult oxyhemoglobin, de-oxygemoglobin, carboxyhemoglobin, and methemoglobin. *Clin Chem* 37:1633-8

Lebenslauf

Danksagung

Ich bedanke mich bei einigen Menschen, ohne deren Beitrag diese Arbeit in der vorliegenden Form nicht möglich gewesen wäre:

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. H. Van Aken möchte ich für die Möglichkeit danken, in seiner Klinik arbeiten zu dürfen und damit die Promotion zu erlangen.

Unserem behenden Betreuer und Doktorvater, Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Thomas P. Weber, möchte ich für seine großartige Unterstützung, seine Ratschläge und seine unermüdliche Geduld danken. Seine Beharrlichkeit und Unbeirrbarkeit führten letztendlich zum Erfolg dieser Arbeit.

Danken möchte ich auch besonders meinem Vater Eduard Wack, der mir durch seine Unterstützung den erfolgreichen Abschluss des Studiums und der Promotion ermöglicht hat sowie meiner allerliebsten Kathrin, die mich oft am Rande der Verzweiflung fand und wieder aufgebaut hat. Und besonders auch Christoph Osterholt fürs Korrekturlesen!

Natürlich gilt mein Dank auch den Menschen, mit denen ich im Rahmen dieser Arbeit zusammenarbeiten durfte. Hier möchte ich vor allem die Mitdoktoranden Jürgen Witte, Johanna Krol und Heike Strohtmann nennen.

Berlin, im Dezember 2004

Johannes Wack



Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster . 48128 Münster

Gegen Empfangsbekanntnis!

Herrn

Dr. med. Thomas Weber
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
und operative Intensivmedizin der
Westf. Wilhelms-Universität Münster
Albert-Schweitzer-Straße 33
48149 Münster

Dienstgebäude
Domplatz 1-3
Telefon: (0251) 411-0
Durchwahl: 2110
Zimmer: 431
Frau Möllers
Aktenzeichen
23.0835.1.0 (G 36/98)

6 . November 1998

Betr.: Tierschutz;

hier: Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Bezug: Ihr Antrag vom 05.08.1998, hier eingegangen am
25.08.1998, sowie Ihre Ergänzungen vom 30.10.1998

G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d :

Sehr geehrter Herr Dr. Weber,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) i.d.F. der Bekanntmachung
vom 25. Mai 1998 (BGBl. I S. 1105) wird Ihnen die Genehmigung
zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

*Die medikamentöse Beeinflussung der Perfusion und Funktion von
normalem, ischämischen und postischämischen Myokard bei
chronisch-instrumentierten Hunden.*

Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411-3300

e-mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de ● X-400: C=de, A=dbp, P=dvs-nrw, O=bezreg-muenster, S=poststelle ● Telefax (0251) 411-2525

Konten der Regierungshauptkasse Münster:

Landeszentralbank Niederlassung Münster BLZ: 400 000 00 Konto: 40 001 520

Westdeutsche Landesbank Girozentrale Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61 820

Öffentliche Verkehrsmittel - Buslinien 1 . 5 . 6 . 17 bis Haltestelle Prinzipalmarkt und 2 . 10 . 11 . 14 . 21 . 64 bis Domplatz

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr
Dr. med. Thomas Weber
Klinik und Poliklinik für
Anästhesiologie und
operative Intensivmedizin
Albert-Schweitzer-Str. 33
48149 Münster

Herr
PD Dr. med. Norbert Rolf
Klinik und Poliklinik für
Anästhesiologie und
operative Intensivmedizin
Albert-Schweitzer-Str. 33
48149 Münster

Diese Genehmigung gilt bis zum 31.05.2000.

Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

40 Hunde.

Auflagen:

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder sein Stellvertreter wechselt, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob zuwidergehandelt worden ist.

Ein Antrag auf Verlängerung der Genehmigung ist rechtzeitig vor Ablauf der Frist bei mir zu stellen.

Da das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

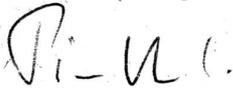
Rechtsbehelfsbelehrung:

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der o.g. Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag



(Dr. Piontkowski)



Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster . 48128 Münster

Gegen Empfangsbekanntnis

Herrn

Dr. med. Thomas P. Weber
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
und operative Intensivmedizin der
Westf. Wilhelms-Universität Münster
Albert-Schweitzer-Str. 33

48149 Münster

Dienstgebäude
Domplatz 1-3
Telefon: (0251) 411-0
Durchwahl: -2110
Zimmer: 431
Frau Möllers

Aktenzeichen
23.0835.1.0 (G 59/99)

20. September 1999

Betr.: Tierschutz;
hier: Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Bezug: Ihr Antrag vom 03.05.1999, hier eingegangen am
09.06.1999
Ihr Ergänzungsschreiben vom 10.09.1999, hier eingegan-
gen am 16.09.1999

G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d :

Sehr geehrter Herr Dr. Weber,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der Fassung der Be-
kanntmachung vom 25. Mai 1998 (BGBI. I S. 1105) wird Ihnen die
Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens
erteilt:

"Die medikamentöse Beeinflussung des Phänomens ischämische
Präkonditionierung auf die Perfusion und Funktion von normalem,
ischämischen~~u~~postischämischen Myokard bei chronisch-instrumen-
tierten Hunden."

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr
Dr. med. Thomas P. Weber
Klinik und Poliklinik für
Anästhesiologie und operative
Intensivmedizin der WWU
Albert-Schweitzer-Str. 33
48149 Münster

Herr
PD Dr. med. Norbert Rolf
Klinik und Poliklinik für
Anästhesiologie und operative
Intensivmedizin der WWU
Albert-Schweitzer-Str. 33
48149 Münster

Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411-3300

e-mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de ● X-400: C=de, A=dbp, P=dvs-nrw, O=bezreg-muenster, S=poststelle ● Telefax (0251) 411-2525

Konten der Regierungshauptkasse Münster:

Landeszentralbank Niederlassung Münster BLZ: 400 000 00 Konto: 40 001 520

Westdeutsche Landesbank Girozentrale Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61 820

Öffentliche Verkehrsmittel - Buslinien 1 . 5 . 6 . 17 bis Haltestelle Prinzipalmarkt und 2 . 10 . 11 . 14 . 21 . 64 bis Domplatz

Diese Genehmigung gilt bis zum 31.10.2001.

Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

48 Hunde.

Auflagen:

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

Die auf den Seiten 15/16 des Antrages aufgeführten Cand.med. Johanna Krol, Johannes Wack, Jürgen Witte und Andrea Witte sind erst dann berechtigt, Versuche durchzuführen, wenn sie eine Bescheinigung über einen erfolgreich abgeschlossenen versuchstierkundlichen Kursus vorlegen.

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder sein Stellvertreter wechselt, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob zuwidergehandelt worden ist.

Ein Antrag auf Verlängerung der Genehmigung ist rechtzeitig vor Ablauf der Frist bei mir zu stellen.

Da das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

Rechtsbehelfsbelehrung:

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag



(Dr. Piontkowski)