

**Aus der Klinik und Poliklinik
für Hals-Nasen- und Ohrenkranke
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. J. Helms**

**DER KOLLOIDOSMOTISCHE DRUCK VON
BLUTPLASMA UND PLASMAERSATZMITTELN UNTER
ASPEKTEN DER INNENOHRTHERAPIE.
KRITISCHE BETRACHTUNGEN HIERZU SOWIE ZU
MEßTECHNIK UND STÖRFAKTOREN.**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der
Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Jens Stehle

aus

Ravensburg

Würzburg, August 2001

Referent: Prof. Dr. med. J. Helms

Korreferent: Prof. Dr. med. C. von Deuster

Dekan: Prof. Dr. med. V. ter Meulen

Tag der mündlichen Prüfung: 23.01.2002

Der Promovend ist Arzt

für Nicole

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung: Osmotischer und Kolloidosmotischer Druck	1
2. Ausgangspositionen	10
2.1. Infusionstherapien bei Innenohrstörungen	10
2.2. KOD-Messungen an Humanplasmen und Plasmaersatzlösungen – Warum?	12
2.3. Prinzipielles zu den Plasma(Volumen)ersatzmitteln	13
3. Material und Methoden	25
3.1. Patienten- und Probandenkollektive	25
3.2. Gewinnung, Verarbeitung und Aufbewahrung der Blutproben	30
3.3. Verfügbare und geprüfte Plasma(Volumen)ersatzmittel	31
3.4. Asymmetrische semipermeable Membranen	33
3.5. Onkometer und KOD-Messung	35
3.6. Rechentechnische Hilfen (Statistik, Extrapolation)	47
4. Zu den KOD-Messungen	50
4.1. Einfluß- und Störfaktoren der KOD-Messung	50
4.2. Circadiane Rhythmik des plasmatischen KOD	59
4.3. Plasmaeiweiße und speziell Albumin	67
4.4. Blutplasmen von Normal- und Patientenkollektiven	79
4.5. Plasma(Volumen)ersatzmittel an Beispielen	85
5. Diskussion	95
5.1. Der KOD-Endwert als Ergebnis des Diffusionsgleichgewichts	95
5.2. Abschätzung von Partikelgrößenverteilungen aus KOD-Profilen	101
5.3. Korrelationsversuche des plasmatischen KOD mit diversen Parametern	110
5.4. Fazit aus den KOD-Messungen für Innenohr-Pathologie und -Therapie	114
6. Zusammenfassung	124
7. Literaturverzeichnis	

1. Einleitung: Osmotischer und Kolloidosmotischer Druck

Das physikalische Prinzip der Osmose

„Welche osmotische Druckkraft erzeugen gelöste Körper?“ fragte sich der Botaniker Wilhelm Pfeffer im Vorwort seiner 1877 veröffentlichten „Studien zur Zellmechanik“. Er untersuchte mit Hilfe künstlich, d. h. chemisch durch Niederschläge in einer Trägerstruktur (Tontopf) erzeugter Membranen, die Verschiebung von Lösungsmitteln und die sich dadurch ausbildenden Drücke π in seiner Pfefferschen Zelle. Die „Niederschlagsmembranen“ bezeichnete er als semipermeabel, also als halbdurchlässig. Sie weisen, ähnlich den biologischen Membranen, die Eigenschaft auf, gelöste Moleküle ab einer bestimmten Größe an der Diffusion zwischen zwei Kompartimenten zu hindern. Den Fluß der Lösungsmittelmoleküle über die Membran hinweg lassen sie jedoch zu.

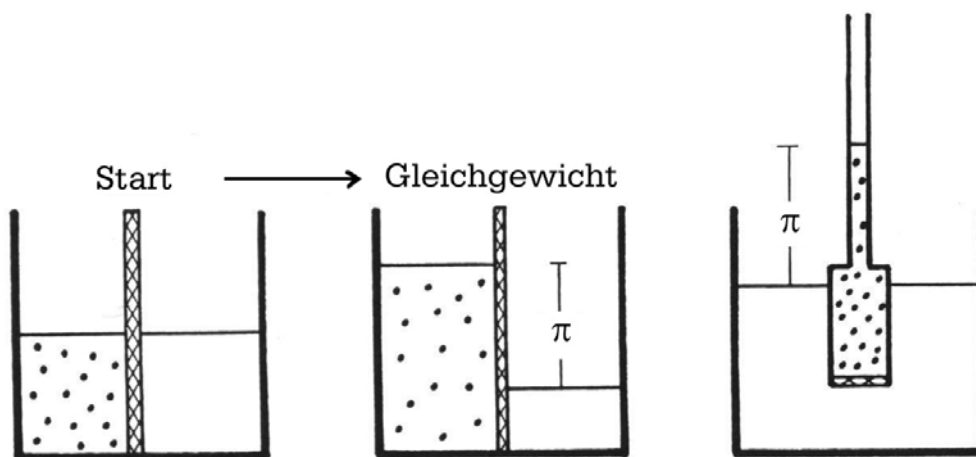


Abb. 1.1: Modell des thermodynamischen Ausgleichs durch Osmose

In theoretischen Studien lieferte J. H. van `t Hoff 1887 die physikalische Basis für das Verständnis der Osmose und die mathematische Beschreibung (in formaler Analogie zur Idealen Gasgleichung) .

$$\pi = c \cdot r \cdot T$$

π : osmotischer Druck [$\text{N} \cdot \text{m}^{-2}$]

c : Konzentration des nicht permeierenden Stoffes [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]

r : allgemeine Gaskonstante [$8,316 \text{ Joule} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$]

T : absolute Temperatur [in Kelvin-Graden]

Bereits 1896 erkannte Ernest Starling die besondere Bedeutung der Proteine als Makromoleküle für ihren Beitrag zum osmotischen Druck, dem sogenannten onkotischen oder kolloidosmotischen Druck (KOD). Er verwendete in seinen Experimenten semipermeable Membranen, die - ähnlich dem Endothel der Kapillaren - durchlässig für niedermolekulare Stoffe, aber impermeabel für Makromoleküle waren. In seiner Arbeit „On the Absorption of Fluids from the Connective Tissue Spaces“ fiel ihm auf, daß der KOD von einer Größenordnung ist, die in etwa dem hydrostatischen Kapillardruck entspricht, welcher seinerseits vom systemischen Blutdruck bestimmt wird. Er folgerte daraus, daß einerseits der hydrostatische Kapillardruck die Filtration ins extravasale Kompartiment verursacht, andererseits der KOD des Plasmas die Resorption der Flüssigkeit aus dem Interstitium in das intravasale Kompartiment bewirkt.

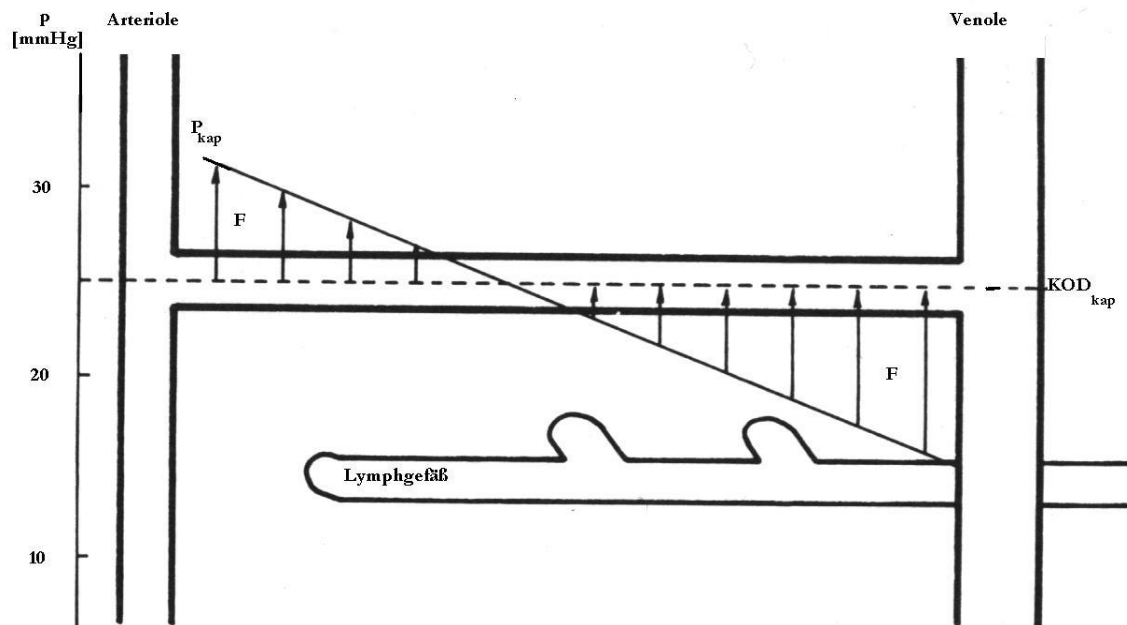


Abb. 1.2: Starlingsches Schema zum transkapillären Flüssigkeitsaustausch

Die präzise physikalisch-mathematische Beschreibung dieser Hypothese, die heute allgemein nach Starling benannt wird, wurde allerdings erst sehr viel

später entwickelt und publiziert. Maßgeblich beteiligt waren Iverson und Johansen, die 1929 sowohl intra- als auch extravaskulär wirkende Kräfte berücksichtigten. Mit der Vorstellung einer Flüssigkeitsfiltration ins Interstitium erweiterten Pappenheimer und Soto-Riviera 1948 die Hypothese. Die heutige Form der Starling-Gleichung wurde vollständig, nachdem 1951 von Starverman der sogenannte osmotische Reflexionskoeffizient eingeführt wurde. Viele Untersuchungen stützen die über 100 Jahre alten Vorstellungen über die Physiologie der Flüssigkeitshomöostase [Bisera et al., 1978; Morissette, 1977; Weil et al., 1974].

Die Starling-Gleichung wird meist in folgender Form angegeben:

$$F = k \cdot [(P_{\text{Kap}} - P_{\text{int}}) - R \cdot (\text{KOD}_{\text{Int}} - \text{KOD}_{\text{Kap}})]$$

- F : Nettofiltration [$\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$]
(bei positiven Werten Filtration ins Interstitium;
bei negativen Werten Resorption vom Interstitium)
- k : Filtrationskoeffizient [$\text{ml} \cdot \text{mmHg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$]
(Maß für die Wasserdurchlässigkeit der Membran)
- P_{Kap} : hydrostatischer Druck in den Kapillaren [mmHg]
- P_{Int} : hydrostatischer Druck im Interstitium [mmHg]
- R : osmotischer Reflexionskoeffizient [nach Starverman 1951]. (Bei $R = 1$ ist die Membran für Makromoleküle vollständig undurchlässig; der Koeffizient R geht um so mehr gegen Null, je mehr Makromoleküle die Membran passieren können.)
- KOD_{Kap} : kolloidosmotischer Druck in den Kapillaren [mmHg]
- KOD_{Int} : kolloidosmotischer Druck im Interstitium [mmHg]

Der Filtrationskoeffizient k ist abhängig von den Eigenschaften des Kapillar-endothels des jeweiligen Gewebes. Es bestehen außerordentlich große Unterschiede von Organ zu Organ. Als extreme Beispiele gelten einerseits die Glomerulaschlingen der Niere mit sehr hoher Durchlässigkeit, andererseits

das Übergangsepithel der Harnblase mit sehr niedrigem Filtrationskoeffizient. Der hydrostatische Druck in den Kapillaren P_{Kap} kann durch deren direkte Punktion bestimmt werden. Der hydrostatische Druck des Interstitiums P_{Int} ist außerordentlich schwierig zu messen [Guyton et al., 1971].

Die Flüssigkeitskompartimente des menschlichen Körpers

Die Stabilität des Wasser- und Elektrolythaushaltes ist eine notwendige Voraussetzung aller Lebensvorgänge. Wie in Abbildung 1.3 zu sehen, liegt der Anteil des Wassers am gesamten Körpergewicht (KG) des Erwachsenen im Mittel bei 60%. Das Gesamtkörperwasser verteilt sich auf den intrazellulären Raum (IZR, etwa 40% des KG) und den extrazellulären Raum (EZR, etwa 20% des KG). Der EZR wird in das Interstitium (etwa 16% des KG) und das Plasmawasser (etwa 4% des KG) unterteilt. Das Blutvolumen beträgt etwa 7-8% des KG. Davon sind etwa 45% zelluläre Bestandteile, hauptsächlich Erythrozyten, welche den Hämatokrit (HK) bilden. EZR und IZR unterscheiden sich vor allem durch die extrazellulären Natrium- und die intrazellulären Kalium-Ionen im osmotischen Gleichgewicht. Der osmotische Druck beträgt in beiden Räumen etwa 290 mosmol/kg. Das intravasale Volumen wird wesentlich

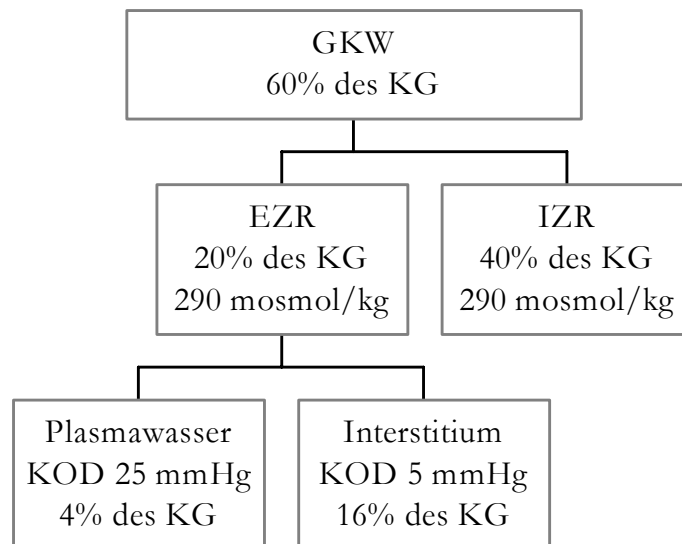


Abb. 1.3: Verteilung des Gesamtkörperwassers (GKW) beim Menschen

durch die Plasmaproteine gebunden. Albumin ist das dominierende Plasmaprotein und trägt mit ca. 80% zum KOD des Plasmas von etwa 25 mmHg bei. Der KOD im Interstitium liegt bei etwa 5 mmHg. Die positive KOD-Differenz verhindert den weitgehenden Abstrom intravasaler Flüssigkeit in den interstitiellen Raum.

Semipermeable Membranen

In der medizinischen Literatur sind kaum Hinweise zu Untersuchungen semipermeabler Membranen zu finden, obwohl die Charakteristik einer semipermeablen Membran für die Höhe und Ausprägung des (kolloid-)osmotischen Effektes entscheidend ist. Die wichtigste Eigenschaft einer semipermeablen Membran ist die Porengröße oder Ausschlußgrenze. Diese Ausschlußgrenze MWCO (Molecular weight cut-off) charakterisiert die Molekülgröße, oberhalb der Makromoleküle zurückgehalten werden. In erster Näherung wird das Molekulargewicht ersatzweise für die Molekülgröße angesetzt. So ist es von entscheidender Bedeutung, ob eine KOD-Messung etwa mit einer Membran der Porengröße 20.000 oder 100.000 Dalton durchgeführt wird. Da im zweiten Fall Moleküle zwischen 20.000 und 100.000 Dalton frei

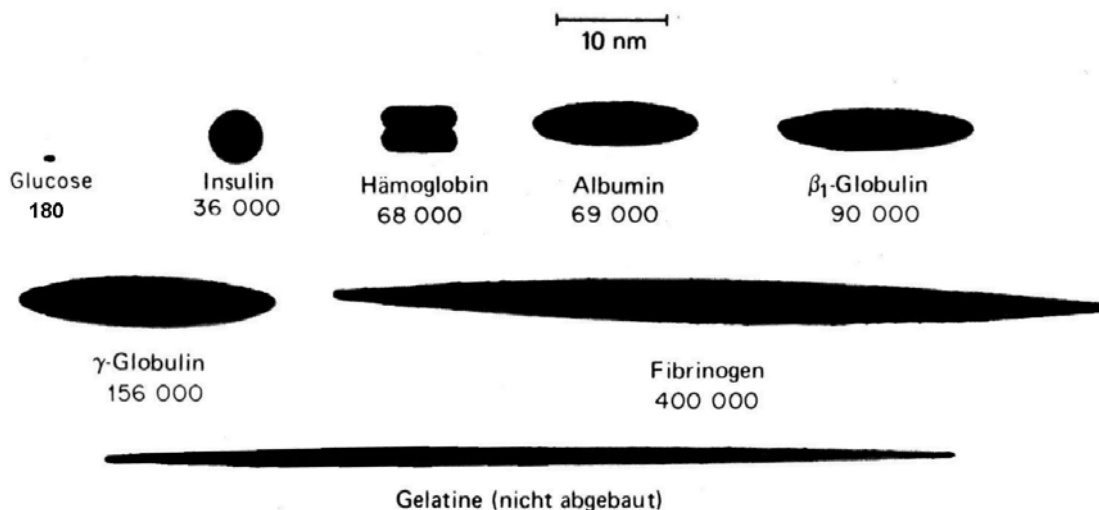


Abb. 1.4: Abmessungen von Proteinen mit Angabe der Molmasse [g x mol⁻¹] im Vergleich zur Glucose. [aus Moore u. Hummel, Physikalische Chemie, 4. Aufl., 1986]

permeieren können und somit nicht zum KOD beitragen, erhält man einen deutlich kleineren Meßwert. Bei der Ausschlußgrenze handelt es sich indes nicht um eine präzise meßbare Größe, da die Poren herstellungsbedingt eine mehr oder weniger große Variationsbreite aufweisen. Starling verwendete bei seinen historischen Messungen gelatinegetränkte Stücke von Peritonealmembranen. Seither wurde eine Vielzahl an synthetischen Membranen für den klinischen Einsatz, speziell für Dialyse Zwecke, entwickelt.

Zur Zeit stehen Membranen aus Zelluloseacetat mit schwammartiger Struktur (Abb. 1.6) oder Membranen aus synthetischen Hochpolymeren (Abb. 1.5) zur Verfügung. Die Fülle der angebotenen Membranen und ihre sehr unterschiedlichen Eigenschaften machen KOD-Messungen ohne Angabe der verwendeten Membranen nahezu wertlos. Für die Einstellungsgeschwindigkeit von Diffusionsgleichgewichten spielt auch die Wasserdurchlässigkeit, die sogenannte „Hydraulische Leitfähigkeit“, eine beträchtliche Rolle.

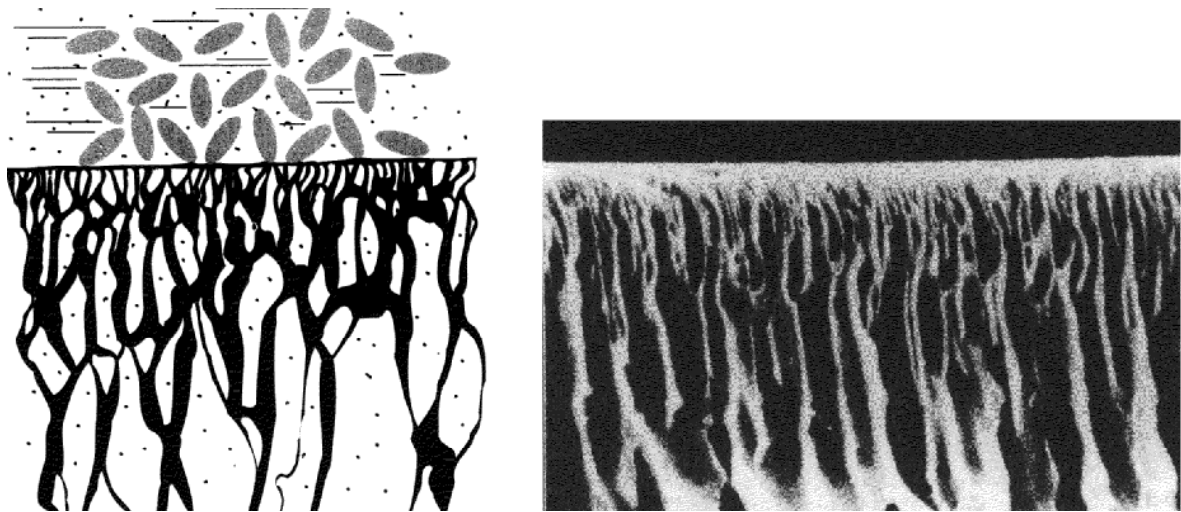


Abb. 1.5: Modell und Schnitt durch eine asymmetrische Membran aus synthetischen Hochpolymeren. Probenaufgabe von oben.

REM-Aufnahme 500 x; Fa. Sartorius 1980

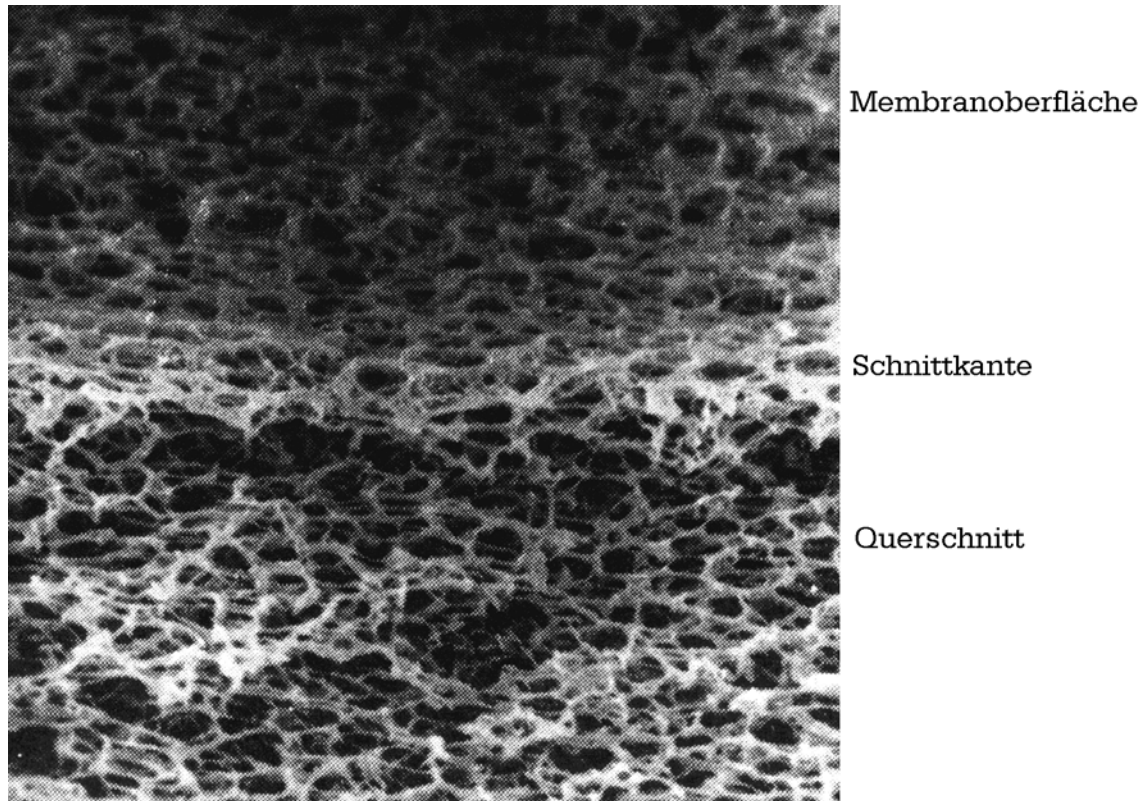


Abb. 1.6: Zelluloseacetatmembran; REM-Aufnahme 2500 x; Fa. Sartorius 1980

Prinzip der KOD-Messung

Die ersten Messungen des kolloidosmotischen Druckes (KOD) realisierte Starling mit einem serumgefüllten Gefäß, das mit einer Peritonealmembran verschlossen war und in eine proteinfreie Salzlösung eintauchte (siehe Abb. 1.1: Schematischer Aufbau). Die Flüssigkeitsbewegung wurde bis zum Erreichen des Gleichgewichtes zwei bis sechs Tage lang beobachtet und danach am Steigrohr der hydrostatische Druck abgelesen.

Das Prinzip der KOD-Messung geht bei allen heute verfügbaren Onkometern auf Hansen zurück [1961]. Der in Abb. 1.7 gezeigte schematische Aufbau wurde erst durch die Einführung elektronischer Druckwandler möglich. Damit wurde die Meßzeit verkürzt und das Probenvolumen erheblich verkleinert. Neuere Konstruktionen erlauben Probenvolumen von 0,1 bis 0,2 μl bei einer Meßzeit von 1 bis 3 Minuten [Wiig et al., 1988].

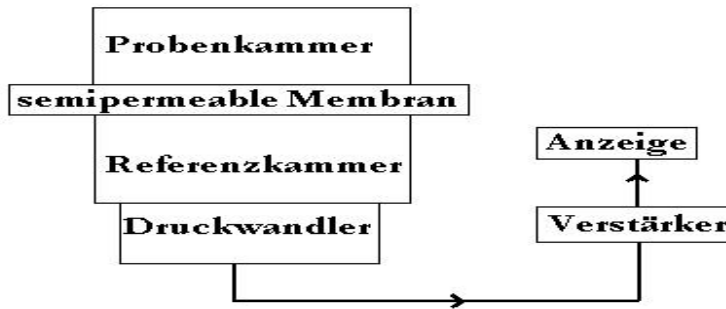


Abb. 1.7: Blockdiagramm zum Prinzip der KOD-Meßtechnik

Messergebnisse des KOD sind stark von äußeren Einflußgrößen, wie Membranart, Meßgerät oder Probenart abhängig. Es gibt bisher keine Standardisierung der Meßtechnik wie für andere Laborparameter. Einen Eindruck von der Divergenz der „Normalwerte“ des KOD nach verschiedenen Untersuchungsmethoden vermittelt Abbildung 1.8. Die KOD-Angaben in Abbildung 1.8 differieren beträchtlich und sind teilweise unvollständig. So ist viermal nicht erwähnt, ob Plasma oder Serum gemessen wurde. In 23 von 34 Fällen ist die Porenweite der semipermeablen Membran unbekannt, teilweise wird jedoch wenigstens das Material wie Cellophan, Celluloseacetat, Nitrocellulose, Collodium und Peritonealüberzug angegeben. In den restlichen 11 Fällen handelte es sich um synthetische Membranen (4x 10 kD, 6x 30 kD, 1x 50 kD). Aus Interesse haben wir dennoch aus den KOD-Angaben Mittelwerte gerechnet (P: Plasma, S: Serum):

Für n = 34 (P+S)	25,3 +/- 3,0 mmHg
Für n = 20 (P)	25,0 +/- 3,3 mmHg
Für n = 10 (S)	25,6 +/- 2,6 mmHg.

Autor	Jahr	Wert (mm Hg)	Gerät / Membran
Aukland et al.	1974	24–30 S	eigene Modifikation d. Hansen-Osmometers 10000 dalton Kunststoffmembranen
Bevan	1980	21,6 ± 2,6 P (i. Liegen)	IL-186-Weil bzw. Wescor 4100
Civetta	1979	20–25 S	ohne Angaben
Duncan et al.	1982	22,6 ± 0,63 S	IL-186-Weil bzw. Wescor 4100
Fellows	1932	23,6–27,9 S	eigene Modifikation d. Starling-Osmometers, Cellophanmembran
Guyton et al.	1959	annähernd 30?	nach Landis E. M. 1934 angegeben
Howland et al.	1976	24,85 ?	Membranosmometer / 50000 d. Membran
Ingerslev et al.	1966	28,97 ± 2,1 S	Hansen-Osmometer, ultrafeine Membran
Ito et al.	1929	28,3 S	Methode n. Krogh u. Nakazawa 1927
Kerkhof	1937	21,4 ± 0,6 Oxalat-P	Schade-Methode 1924
Köhler et al.	1982	27,5–28,0 ± 0,6 S?	IL-186-Weil / 10000 d. Kunststoffmem.
Kylin	1931	23,75–26,4	art. u. ven. Blut, keine weiteren Angaben
Ladegaard-Petersen	1967	23,4–27,8 P	Hansen-Osmometer, Zelluloseacetat- membran, ultrafein
Ladegaard-Petersen	1973	25,4 ± 2,6 P (i. Liegen)	Hansen-Osmometer, präop.
Landis	1930	18,3 P	Modifikation nach Starling
Landis et al.	1963	24–26 P	Osmometer mit Druckaufnehmer, semipermeable Membran
Losowsky et al.	1962	28,46 ± 4,6 P	Osmometer nach Rowe u. Abrams 1967 Nitrocellulosemembran
da Luz et al.	1975	25,4 ± 2,3 P (i. Stehen)	mod. Prather-Osmometer (1968) 30000 dalton Membran
Lundsgaard-Hansen	1975	27 S	Knauer-Osmometer, Zelluloseacetat- membran
Morisette	1977	25,4 P	Osmometer nach Hansen bzw. Prather
Muntwyler et al.	1933	21,7–25,2 Oxalat-P	Kollodionbeutel mit Manometer
Rackow et al.	1977	25,5 ± 0,4 P	Weil-Gerät (CCI-Onkometer), 30000 dalton Kunststoffmembran
Schade et al.	1924	25 Oxalat-P	eig. Manometergerät, Kollodiummembran
Scatchard et al.	1944	20–32, ×–25 P	Kollodiummembran
Skillmann	1976	25–28 P	ohne Angabe
Starling	1896	30–40 P	Starling-Osmometer, Peritonealmembran
Starling	1899	22,79–26,47 S	Starling-Osmometer, Peritonealmembran
Stein et al.	1974	25 P	Jacobson- 1971 / Prather- 1968 Osmometer
Stein et al.	1975	25,4 ± 2,3 P	mod. Prather-Osmometer / 30000 dalton Kunststoffmembran
Weil et al.	1973	21,6 (i. Liegen) 25,6 (i. Stehen) P	Weil-Gerät (= mod. Prather) / 30000 dalton Kunststoffmembran
Weil et al.	1974	25,4 ± 2,3 P	Weil-Onkometer / 30000 dalton Kunststoff- membran
Wiche et al.	1981	21,6 ± 2,6 S	Knauer u. Weil-Onkometer, 10000 dalton Membran
Zweifach et al.	1971	24 P	mod. Prather-Osmometer / 10000 dalton Kunststoffmembran

Abb 1.8: Referenzwerte verschiedener Autoren zum KOD humaner Plasma- und Serumproben. (P: Plasma, S: Serum) Aus: Grünert, Onkometrie, Kohlhammer 1985

2. Ausgangspositionen

2.1. Infusionstherapien bei Innenohrstörungen

Aus der Etablierung routinemäßiger, insbesondere intravenöser Infusionstechniken in den frühen 60er Jahren zur Optimierung des Flüssigkeitshaushaltes des Patienten, hat auch das HNO-Fach vielseitig profitiert. Von besonderem Stellenwert sind dabei Infusionsbehandlungen bei akuten Innenohrfunktionsstörungen wie Hörsturz, fluktuierendem Gehör, Tinnitus, Morbus Menière, Neuropathia vestibularis, Lärmtrauma und Vertigo.

Ätiologie und Genese dieser Innenohrstörungen sind indessen bis heute weitgehend unklar, wie sich beispielsweise 1997 bei dem hochkarätig besetzten Round-Table-Gespräch „Hörsturz“ der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde wiederum herausstellte [Nürnberg, Mai 1997]. Als mögliche Ursachen werden in abnehmender Häufigkeit vermutet: Durchblutungsstörungen des Innenohres, ein Innenohrhydrops, virale Infekte, Neuritis des N. vestibulocochlearis, Störungen in Blutbild und Blutchemie.

Konsens besteht indessen darin, daß jene Innenohrstörungen als Eilfälle behandlungsbedürftig sind und „therapeutischer Nihilismus“ nicht statthaft ist. Methode der Wahl ist eine stationäre antiphlogistisch – rheologische Infusionsbehandlung über etwa 7 – 14 Tage, unter folgenden Gesichtspunkten:

- Gabe einer Trägerlösung, auch zur Volumentherapie
- Gabe rheologisch wirksamer Komponenten
- Gabe vasoaktiver Medikamente
- fallweise Gabe antiphlogistischer, antibakterieller, antiviraler Mittel.

Als Grundlage einer solchen Therapie ist das Stennert- Schema [Tabellen dazu siehe Michel 1994, Michel et al. 2000] allgemein akzeptiert. Dabei werden über 10 Tage insgesamt 6,5 l Dextran 40 10%, 200mg Pentoxifyllin und 540mg (u. U. bis 1000mg) Cortison verabreicht.

In der Praxis sind von Schule zu Schule und von Fall zu Fall die Variationen bezüglich aller drei Komponenten groß. Abgesehen vom Kostenfaktor (etwa 10-facher Preis gegenüber einer Ringerlösung!) gehen bezüglich Nutzen und Nebenwirkungen der kolloidalen Plasmaersatzmittel (Übersichten in Kap. 2.3. und 3.3.) die Meinungen weit auseinander [Strutz 2000, Probst 1992]. Auf das Dextran 40 10% speziell wird in Abschnitt 4.5. näher eingegangen werden. Eine Hämodilutionstherapie bei einem Hk > 44% und einem Hb > 14 g/100ml kann hypervolämisch oder nach moderatem Aderlaß isovolämisch erfolgen. Dazu wird beispielsweise HES 200 6% oder HES 200 10% unter simultaner Gabe gleicher Ringer-Mengen empfohlen, wobei HES-Gesamt-mengen bis 250 g/Person selten Nebenwirkungen verursacht haben. HES 200 6% wird auch in der HNO-Klinik Würzburg fallweise zur Behandlung von Innenohrstörungen eingesetzt (siehe auch Kap. 4.5.).

Alle kolloidalen Plasmaersatzmittel sind eindeutig von hohem rheologischen Benefit; wegen ihrer überadditiven Volumenwirkung werden sie auch als Plasmaexpander bezeichnet. Nahezu alle diese Lösungen zeigen einen zu niedrigen pH-Wert ($\text{pH}=5,45 \pm 1,16$; $n=39$; nach W. Keck). Nach Firmenangaben beträgt die sogenannte „Titrationsacidität“ (d. h. die Basenmenge zum Einstellen auf den physiologischen $\text{pH}=7,4$) 0,5 – 1,0 mmol/l Base; nach eigenen Messungen [W. Keck, 1996, persönliche Mitteilung] waren es $0,49 \pm 0,71$ mmol/l ($n=36$). Lediglich 8 aus 35 Infusionslösungen von insgesamt 8 Herstellern waren mit einer wertvolleren Elektrolyt-Trägerlösung angesetzt als der 0,9%igen Kochsalzlösung.

An der Würzburger HNO-Klinik wird die Innenohr-Infusionstherapie in der Regel mit einer Ringer-Lösung als Träger durchgeführt. Obgleich nur kurzzeitige und keineswegs überadditive Volumeneffekte zustandekommen und die rheologische Wirkung im Vergleich zur Wirksamkeit kolloidaler Plasmaersatzmittel nahezu null ist [siehe Rüttger, 1994], sind die Behandlungsergebnisse keineswegs schlechter als andernorts. Jedenfalls wird eine iatrogene Hyperonkozytät vermieden – und der vermutlich (zu) hohe plasmatische KOD gesenkt (siehe Kap. 5.4. und 5.5.).

2.2. KOD-Messungen an Humanplasmen und Plasmaersatzlösungen – Warum?

Da es seit etwa 15 Jahren technisch möglich ist (siehe dazu Abb. 3.5.5), den onkotischen Druck als einen extrem wichtigen Blutparameter direkt und einfach zu messen, sollte in Problemfällen darauf nicht verzichtet werden. Solche Fälle sind etwa : Blutverlust und Bluttransfusion, Kollaps und Schock, umfangreiche Gewebszerstörung (z. B. bei Verbrennung oder Quetschung), Dystrophie, Kachexie, Hyper- und Hypalbuminämie, Colitis, Peritonitis, Ascites, Dauerdiarrhöe, Eklampsie, Nephrose, Leberzirrhose, Cerebraltrauma (mit erhöhtem Hirndruck und/oder Hirnödem), Dialyse, Wundheilungsstörungen. Zumindest bei einigen Indikationen ist das operative HNO-Fach also mitangesprochen.

Jedenfalls ist der plasmatische KOD durch direkte Messung aktuell binnen Minuten verfügbar, so daß notfalls rasch korrigierend eingegriffen werden kann, während KOD-Abschätzungen aus Eiweißbestimmungen langwierig und unsicher sind (siehe Kap. 4.4.). In einer modernen Intensivstation gehört daher ein Onkometer zur obligaten Ausrüstung für Verlaufskontrollen und Therapieüberwachungen.

Wie ändern sich plasmatische KOD-Werte in kritischen Fällen bei Infusionsbehandlungen jeglicher Art? Selbst bei Applikation hypertoner niedermolekularer Lösungen (Harnstoff, Mannit, Sorbit oder Glycerol) zur raschen – und nicht immer nebenwirkungsfreien – osmotischen Entwässerung (bei Hirn- oder Lungenödem und im Spezialfall beim vermuteten Innenohrhydrops) interessiert der zeitliche Verlauf des plasmatischen osmotischen und kolloid-osmotischen Druckes. Bei Langzeitinfusion mit Niedermolekularen und Elektrolyten muß der Überwässerung vorgebeugt werden. Idealerweise sollte die Messung des plasmatischen KOD einer Infusion vorausgehen, so daß auch diesbezüglich jeweils optimale Infusionsprogramme gewählt werden können, sei es einerseits für die reine Volumenssubstitution, oder andererseits für die hyper-, iso- oder hypoonkotische (und rheologische!) Therapie mit kolloidalen Plasmaersatzlösungen. Indikationen und Kontraindikationen ergeben sich

danach u. U. aus einer neuen Sicht. Sogenannte Mischinfusionslösungen aus hoch- und niedermolekularen Anteilen (z.B. Dextran + Mannit; siehe Kap. 4.5.) sind dabei nicht zu vergessen. Speziell bei den synthetischen kolloidalen Plasmaersatzmitteln ist es höchst wichtig, einen Überblick über die (breite und asymmetrische) Molekulargewichtsverteilung zu haben, d.h. diese Lösungen sollten, sofern sie neu in Einsatz kommen, mit Membranen unterschiedlicher Porenweite geprüft werden.

Soll man den KOD des Blutes nun aus Vollblut, aus Plasma oder aus Serum messen? Unsere Antwort – und so haben wir gehandelt – ist eindeutig : aus dem Plasma. Damit hat man die Garantie, daß sämtliche Eiweißanteile – bei Gesunden und Kranken – die für den KOD verantwortlich sein können, in der Lösung voll vorhanden sind. Alle Unsicherheiten über vollständige oder unvollständige Gerinnung und etwaiges Mitreißen anderer Proteine sind damit überdies gegenstandslos. Die kontrollierte Zentrifugentrennung der korpuskulären Blutanteile hat möglichst rasch zu erfolgen. Der plasmatische KOD ergibt sich geringfügig höher als der serale. Die KOD-Messung an Vollblut ist aus folgenden Gründen zu vermeiden : 1. Risiko einer Hämolyse bei allen Manipulationen, sowie der Lagerung und damit Messung fälschlich zu hoher KOD-Werte; 2. Verunreinigung und schwierige Reinigung der Meßkammer und damit verringerte Lebensdauer der Meßmembran; 3. Die Meßwerte sind weniger stabil und weniger reproduzierbar; 4. Nach unseren Messungen ist der Blut-KOD erstaunlicherweise kleiner als der Plasma-KOD (siehe Kap. 4.1.). Hierüber gibt es keine sicheren Erkenntnisse und es kann nur spekuliert werden : die Erythrozyten sollten wie „Glaskugeln“ inert im Plasma liegen, also keinen Verdünnungseffekt wie echte Lösungen machen können; eventuell liegt eine reversible Proteinbindung an die Erythrozytenoberfläche vor, welche durch die Buffy-Coat-Komponenten vermittelt wird, die nach dem Zentrifugieren nicht mehr im Plasma sind.

2.3. Prinzipielles zu den Plasma(Volumen)ersatzmitteln

Historischer Überblick zur Entwicklung von Plasmaersatzmitteln

Die folgenden Literatur-Zitate sind aus Weidhase [1993] entnommen. Nach-

dem verschiedene Autoren die gute Wirkung von Salzlösungen bei der Behandlung von Blutverlusten im Tierversuch nachweisen konnten, führte am 10. Juli 1881 Landerer die erste Kochsalzinfusion beim Menschen erfolgreich durch. Damit war die erste klinische Anwendung eines Blutflüssigkeitsersatzmittels in der Humanmedizin demonstriert. Nachdem Starling 1886 die Bedeutung der Plasmaeiweiße für den Flüssigkeitsaustausch und die Verweildauer von Flüssigkeit im Gefäßsystem nachwies, fand sein Mitarbeiter Bayliss im Gummischleim ein gut verträgliches Kolloid, das den Salzlösungen zugesetzt werden konnte. Während des ersten Weltkrieges infundierte Hurwitz erstmals Gummi arabicum im Sanitätsdienst der angloamerikanischen Truppe. Dauerhaft konnte sich diese Lösung wegen häufiger Nebenwirkungen nicht durchsetzen. Fast zeitgleich wurden beim Menschen erstmals Gelatinelösungen verabreicht. Diese waren allerdings nicht frei von Tetanusbazillen und Anthraxsporen. Braun, Jorns und Stierlein verwendeten 1937 mit dem löslichen Kunststoff Polyvinylalkohol erstmals abiogene Substanzen. Erst mit Ausbruch des zweiten Weltkrieges erwachte erneut das Interesse an Plasmaersatzmitteln. So entwickelte Lang 1939 Plasma- und Serumkonserven aus Humanplasma. Lenggenhager, Edwards und Lewis gelang dasselbe 1940 mit Rinderseren. Weese und Hecht etablierten 1940 Polyvinylpyrrolidon, das unter dem Namen Kollidon[®] eine weite Verbreitung fand. Allerdings ging der Verbrauch stark zurück, als von mehreren Autoren auf die Gefahr der Speicherung im RES hingewiesen wurde. Grönwall und Ingelmann verwendeten 1944 Dextran, ein Nebenprodukt der Zuckerfabrikation. Innerhalb kurzer Zeit wurden drei unterschiedliche Gelatineprodukte entwickelt : 1951 Oxypolygelatine, 1952 modifizierte flüssige Gelatine und 1962 harnstoffvernetzte Gelatine. Diese besaßen einen hohen Reinheitsgrad und durch die chemischen Modifikationen bessere physikalische Eigenschaften. 1957 berichtete Wiedersheim über ein stabiles Stärkederivat, die Oxyethylstärke. Das zur Zeit am weitesten verbreitete Plasmaersatzmittel, die Hydroxyethylstärke, wurde 1962 von Thompson und Walton etabliert. Nachdem die Hydroxyethylstärke 1973 in den USA und Japan erfolgreich eingeführt wurde, erfolgte 1974 auch in Deutschland die Zulassung.

Jahr	Ausgangsstoff	Autoren
1881	Kochsalz	LANDERER
1915	Gummi arabicum	BAYLISS, HURWITZ
1915	Gelatine	HOGAN
1937	Polyvinylalkohol	BRAUN, JORNS, STIERLEIN
1940	Polyvinylpyrrolidon	WEESE, HECHT
1944	Dextran	GRÖNWALL, INGELMANN
1951	Oxypolygelatine	CAMPBELL
1952	modifizierte flüssige Gelatine	TOURTELOTTE
1957	Oxyethylstärke	WIEDERSHEIM
1962	harnstoffvernetzte Gelatine	SCHMIDT-THOME
1962	Hydroxyethylstärke	THOMPSON, BRITTON, WALTON

Abb. 2.3.1: Geschichte der Plasmaersatzmittel [nach R. Weidhase, Bernburger Kolloquien Nr. 1, 6.11.1993, modifiziert]

Grundsätzliches zu Plasmaersatzmitteln

Plasmaersatzmittel setzen sich aus Wasser, niedermolekularen und kolloidalen Anteilen zusammen. Nach der Art des in der Infusionslösung enthaltenen

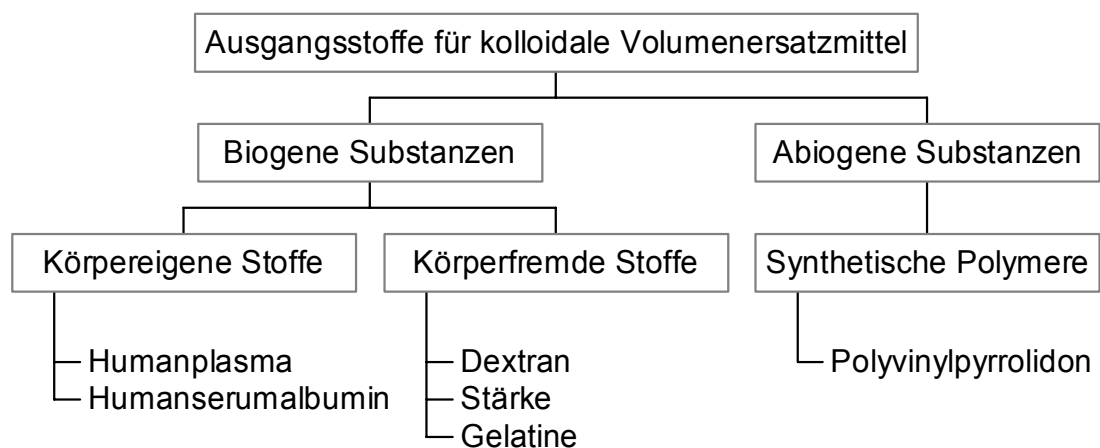


Abb. 2.3.2: Einteilung der Volumenersatzmittel [nach R. Weidhase, Bernburger Kolloquien Nr. 1, 6.11.1993]

Kolloids sind abiogene von biogenen, und bei letztgenannten körpereigene von körperfremden Stoffen zu unterscheiden. Einen Überblick gibt Abb. 2.3.2.

Die **körpereigenen kolloidalen Plasmaersatzmittel** werden aus menschlichem Blut hergestellt. Durch Fraktionierung des Plasmas gewinnt man Präparate, die entweder sämtliche Plasmabestandteile oder isolierte Plasmafraktionen enthalten. Diese können zur gezielten Substitution fehlender oder verminderter Plasmabestandteile therapeutisch eingesetzt werden.

Albumin

Unter den Plasmaprodukten haben Albuminpräparate die größte klinische Bedeutung, da Albumin zu ca. 80% den KOD bestimmt und Haupttransporteiweiß für körpereigene und körperfremde Stoffe ist. Damit erfüllen Albuminpräparate wichtige Funktionen bei der Volumenregulation und im Stoffwechsel. Albuminpräparate sind weitgehend hepatitissicher, da sie – im Gegensatz zu den Gerinnungsfaktoren – einer Sterilisierung unterzogen werden können.

Albumin wird in der Leber synthetisiert. Das in etwa 30 Minuten gebildete Molekül wird unmittelbar in den Kreislauf abgegeben, so daß der Lebevorrat nur etwa 1 g beträgt. In 24 Stunden werden ca. 0,2 g Albumin pro kgKG synthetisiert. Eine Synthesesteigerung findet man bei Blutverlusten, Plasmaferesen, Nephrosen und erhöhtem Thyroxinspiegel. Synthesehemmung beobachtet man bei Mangelernährung, reduzierter Aminosäurezufuhr, schweren Traumata, chronischen Infektionen, Intoxikationen, malignen Tumoren, Leberschäden, Störungen der Leberdurchblutung und bei Lebercirrhose. Auch die Infusion körperfremder kolloidaler Plasmaersatzmittel hemmt die Albuminsynthese. Der Albuminvorrat beträgt durchschnittlich 3,5–4,5 g/kgKG, also etwa 250–300g pro Mensch, davon ca. 40% intra- und 60% extravasal. Die transkapilläre Austauschrate vom intravasalen in den interstitiellen Raum beträgt ca. 5–6% pro Stunde. Der Albuminabbau geschieht im Magen-Darm-Trakt, der Niere und dem Leberparenchym. Eine gesteigerte Abbaurate findet man bei Fieber, schweren Verbrennungen, hochgradiger

Mangelernährung, Malignomen, Colitis ulcerosa und Glucocorticoidgaben. Die Halbwertszeit zugeführten Albumins beträgt im Mittel 19 Tage.

Indikation für hyperonkotische Albumininfusionslösungen (20%-ig, 25%-ig) ist die Ödemtherapie bei akuter Hypoproteinämie. Normoonkotische Albuminlösungen (5%-ig) sind indiziert bei allen Formen des Volumenmangels mit Hypalbuminämie, bei Verbrennungen, bei Vergiftungen und im Rahmen der isovolämischen Hämodilution. Als Nebenwirkung kommt es sehr selten zu anaphylaktischen Reaktionen, bei Überdosierung zur Zunahme des intravasalen Volumens mit Überlastung von Herz und Kreislauf. Da Humanalbumin relativ teuer ist, wird die Indikation schon aus ökonomischen Gründen sehr streng gestellt. Immerhin aber werden derzeit von 7 Pharmafirmen 16 Humanalbuminpräparate angeboten [Rote Liste 2000], und die großtechnische Herstellung von rekombinantem Humanalbumin aus der Milch transgener Rinder rückt in den Bereich des Möglichen. Die provokant-kritische Aussage „Humanalbumin, time to say good-bye“ [Unertl u. Dieterich, 1998] dürfte sicherlich nicht nur Befürworter finden.

Serumpräparate

Serumpräparate enthalten mit Ausnahme der plasmatischen Gerinnungsfaktoren und der lösungslabilen Plasmaproteine (Isoagglutinine, Lipoproteine, Komponenten des Komplementsystems) alle anderen Proteine des Blutplasmas in nahezu gleicher Konzentration. Die Indikation für Serumpräparate ist ein Volumenmangel bei gleichzeitigem Immunglobulinmangel.

Körperfremde kolloidale Plasmaersatzlösungen sind gegenüber Blut, Plasma, Albuminen und kristalloiden Infusionslösungen grundsätzlich dadurch problematischer, daß auch diese unphysiologischen kolloidalen Stoffe vom Organismus abgebaut und ausgeschieden werden müssen. Damit ist die verreichbare Menge begrenzt. Sie besitzen jedoch bezüglich Lagerfähigkeit und fehlendem Infektionsrisiko, nicht zuletzt aber auch aus wirtschaftlichen Gründen, Vorteile in der Infusionstherapie [Salmon et al., 1993].

Ein ideales Plasmaersatzmittel sollte aufgrund seiner onkotischen Aktivität die gestörte Hämodynamik nach akutem Blutverlust regulieren. Die körperfremden Kolloide ersetzen teilweise die Plasmaproteine und übernehmen partiell deren Funktion in der Flüssigkeitshomöostase. Sie bewirken eine Hämodilution mit zwangsläufig weiterer Hypoproteinämie. Ein ideales Plasmaersatzmittel sollte nach Stabilisierung des Kreislaufs und adäquater Verweilzeit unter minimaler Belastung des Stoffwechsels nicht extravasal gespeichert, sondern völlig eliminiert werden. Als zusätzlichen Effekt der Plasmaersatzmittel beobachtet man eine Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes, was zur gesteigerten Kapillardurchblutung und damit zur besseren Sauerstoffversorgung der Gewebe führt. Dieser rheologische Effekt wird durch eine verbesserte Flexibilität der Erythrozyten, sowie eine geringere Aggregation sowohl der Erythrozyten als auch der Thrombozyten und einer verringerten Plasmaviskosität erklärt.

Dextran

Klinisch eingesetzte Dextrane bestehen aus einer Kette von etwa 200 bis 450 Glucosemolekülen, die zum größten Teil in alpha-1,6-Glykosidbindung verknüpft sind (Abb. 2.3.3).

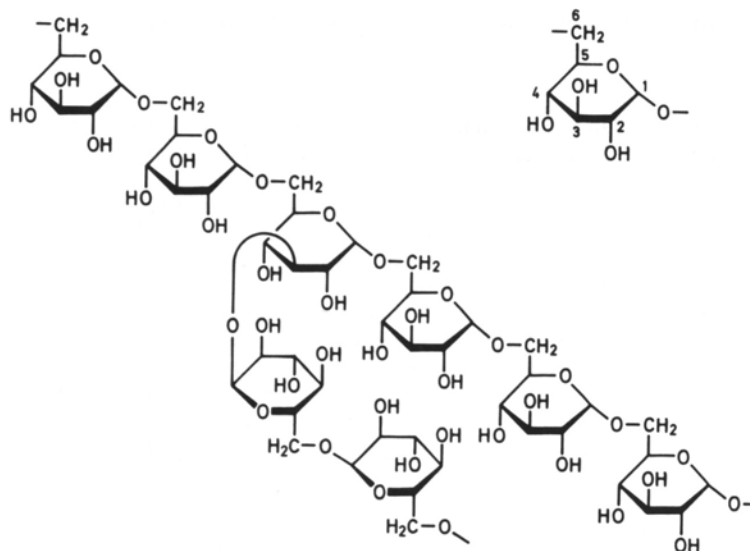


Abb. 2.3.3: Schematische Darstellung des Dextranmoleküls. Die typische Bindungsstellen der Glucosemoleküle (1,6-Bindung) sind rechts oben skizziert. Aus Lutz H., Plasmaersatzmittel, 1994.

Daneben bestehen etwa 15 bis 30 Verzweigungen über die C₁-, C₃- und C₄-Atome. Da die Länge der Dextrankette variiert, sind die einzelnen Makromoleküle verschieden groß. Eine Übersicht über die derzeit am deutschen Markt erhältlichen Präparate geben die Abb. 2.3.4 und 2.3.5.

Als **Indikation** für Dextraninfusionen gelten Therapie und Prophylaxe von Mikrozirkulationsstörungen, Thromboseprophylaxe, kolloidaler Volumenersatz und Hypovolämie. Die positive Wirkung der Dextrane auf die Mikrozirkulation wird in der Verhinderung von „Sludging“ und „Geldrollenbildung“ der Erythrozyten gesehen. Der antithrombotische Effekt beruht einerseits auf einer Adsorption von Dextranmolekülen an der Außenfläche der Thrombozyten („Coating“), andererseits in einer Verdünnung und Hemmung der Gerinnungsfaktoren. Als Nebenwirkungen treten vor allem anaphylaktische Reak-

		Dextran		Elektrolyte [mmol/l]		KH [g/l]
Fertigarzneimittel	Firma	M _w	C [g/l]	Na	Cl	Glucose
Infukoll® M 40	Serum-Werk Bernburg	40 000	100	154	154	
Longasteril® 40 kochsalzfrei G	Fresenius Kabi	40 000	100			45,45
Longasteril® 40 kochsalzhaltig	Fresenius Kabi	40 000	100	154	154	
Onkovertin® N	Braun	40 000	100	154	154	
Rheomacrodex® 10 %	Pharmalink	40 000	100	154	154	
Rheomacrodex® 10 % natriumchloridfrei G	Pharmalink	40 000	100			50
Thomaedex® 40 mit NaCl	Delta- Pharma	40 000	100	154	154	

Abb. 2.3.4: Dextrane mit einem vom Hersteller angegebenen mittlerem Molekulargewicht von 40 000 Dalton. Aus Rote Liste 2000. (M_w: Mittleres Molekulargewicht, C: Konzentration, KH: weitere Kohlenhydrate)

		Elektrolyte [mmol/l]							
		Dextran		Kationen				Anionen	
Fertigarzneimittel	Firma	M _w	C [g/l]	Ca	K	Mg	Na	Cl	Lactat
Longasteril® 70 mit Elektrolyten	Fresenius Kabi	70 000	60	2,5	10	1,5	140	103	55
Macrodex® 6 %	Pharmalink	60 000	60				154	154	
Thomaedex® 60 mit NaCl	Delta-Pharma	60 000	60				154	154	

Abb. 2.3.5: Dextrane mit einem vom Hersteller angegebenen mittlerem Molekulargewicht von mindestens 60.000 Dalton. Aus Rote Liste 2000.

tionen auf, welche durch die **obligate** Vorgabe einer Dextran-1-Lösung weitgehend verhindert werden. Durch dieses sogenannte Hapten-Dextran (Promit®; mittleres M_w = 1000 Dalton) werden die Dextran-Antikörper vom Ig-G-Typ blockiert. Akutes Nierenversagen betrifft fast ausschließlich Patienten mit vorbestehenden Nierenerkrankungen. Blutungskomplikationen treten vor allem bei Überdosierung auf. Die Ausscheidung erfolgt über die Nieren, wobei Moleküle, die absolut oberhalb der Nierenschwelle liegen (20.000 Dalton), zuvor enzymatischen Abbau erfahren müssen (verzögert infolge der 1,6-Verknüpfungen). Von Dextran 40 werden in 6 Stunden rund 60%, in 24 Stunden rund 70% eliminiert.

Gelatine

Gelatine ist ein Abbauprodukt des Kollagens. Das Kollagenmolekül besteht aus drei engliegenden Peptidketten, die ein Molekulargewicht von je 100.000 Dalton haben, so daß das gesamte Molekulargewicht etwa 300.000 Dalton beträgt. Durch spezielle Aufbereitungsverfahren (Depolymerisation, Wiedervernetzung) werden die klinisch eingesetzten Gelatinen gewonnen. Eine Übersicht über die verschiedenen Präparategruppen mit Produktionsgang bieten Abb. 2.3.6 und 2.3.7.

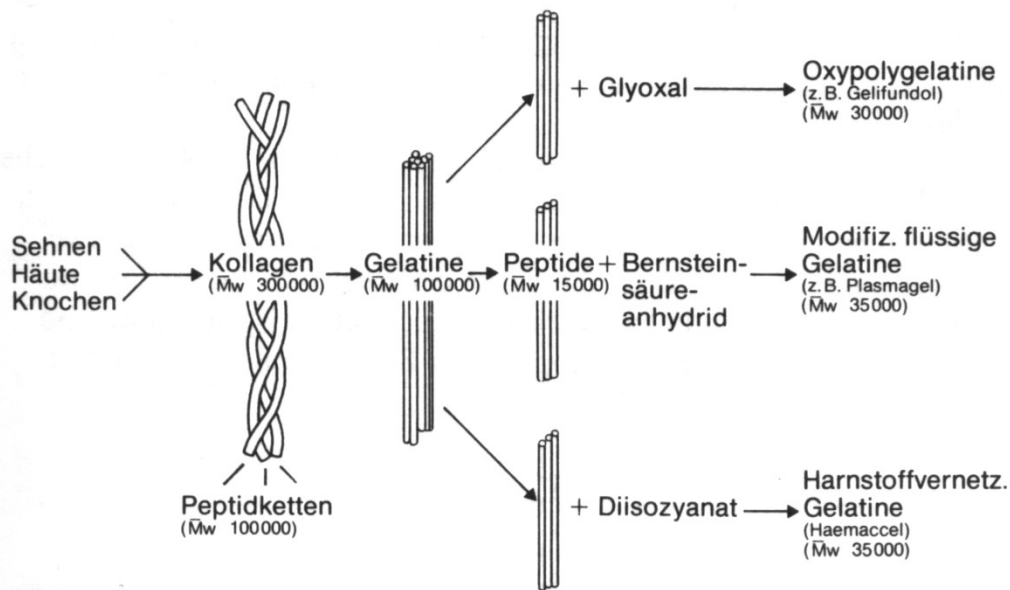


Abb. 2.3.6: Produktionsgänge zur Herstellung kolloidaler Gelatinederivate. Aus Lutz H., Plasmaersatzmittel, 1994.

Fertigarzneimittel	Firma	Substanz	C [g/l]	Elektrolyte in mmol/l						
				Kationen				Anionen		
				Ca	K	Mg	Na	Ace- tat	Cl	HCO ₃
Gelifundin® 4 %	Braun	Gelatine- polysuc- cinat	40				154		120	
Gelifusal®-N in Ringeracetat	Ser-W. Bernb.	Gelatine- polysuc- cinat	40	0,9	5,4	1	130	27	85	
Gelifundol®	Biotest	Oxypoly- gelatine	55	0,5			145		100	30
Haemacel® 35	Hoechst Roussel	Polypepti- de, ver- netzt	35	6,2 5	5,1		145		145	
Thomaegelin® 4 % in Ringeracetat	Delta- Pharma	Gelatine- polysuc- cinat	40	0,9	5,4	1	130	27	85	

Abb. 2.3.7: Übersicht über die derzeit am deutschen Markt erhältlichen Gelatine-Präparate. Aus Rote Liste 2000.

Verglichen mit den Dextranpräparaten sind die Wasserbindungskapazität und die intravasale Verweildauer der modifizierten Gelatinen geringer. Die Hämostase wird nur wenig beeinflusst. Die Hauptmenge der Gelatinederivate wird mit dem Urin, ein geringerer Teil über den Darm ausgeschieden. Durch Peptidasen erfolgt in gewissem Umfang eine enzymatische Spaltung. Anaphylaktische Reaktionen sind im Vergleich zu Dextranen etwas häufiger, aber weniger schwer. Infolge des Calciumgehaltes der Präparate wird die Wirkung von Herzglykosiden verstärkt.

Hydroxyethylstärke

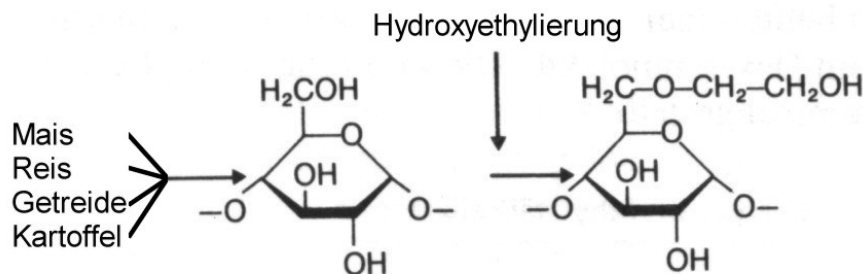


Abb. 2.3.8: Zur Herstellung von Hydroxyethylstärken mit Ethylenoxid.

Aus Lutz H., Plasmaersatzmittel, 1994, modifiziert.

Wegen des raschen Abbaus durch alpha-Amylase ist lösliche Stärke nicht als Plasmaersatzmittel einsetzbar. Durch die Einführung von Hydroxyethylgruppen in Amylopektin-Hydrolysate (Abb. 2.3.8) erhält man ein für den Volumenersatz geeignetes Biopolymer, dessen enzymatischer Abbau verzögert ist.

Im Handel sind Hydroxyethylstärke (HES)-Präparate mit einem mittleren Molekulargewicht von 450.000 (höhermolekulare), von 200.000 (mittelmolekulare) und von 130.000 bzw. 70.000 (niedermolekulare) (Abb. 2.3.9).

Hydroxyethylstärkelösungen entsprechen in ihren pharmakologischen Eigenschaften annähernd den Dextranlösungen. Der Einfluß auf die Blutgerinnung ist jedoch weniger ausgeprägt, und schwere anaphylaktische Reaktionen

		Hydroxyethylstärke			Elektrolyte in mmol/l					KH	
		M _w	C [g/l]	Subst.-grad	Kationen			Anionen			
Fertigarzneimittel	Firma							Ca	K	Na	Cl
Expafusin®	Pharm. & Upjohn	70 000	60	0,5-0,55	1,5	4	138	125	20		
Expafusin® sine	Pharm. & Upjohn	70 000	60	0,5-0,55		4	138	122	20		
Haemofusin® 6 %	Pharm. & Upjohn	200 000	60	0,5			154	154			
Haemofusin® 10 %	Pharm. & Upjohn	200 000	100	0,5			154	154			
HAES-Rheopond 70	Serag-Wiessner	70 000	60	0,5-0,55			154	154			
HAES-steril® 3 %	Fresenius Kabi	200 000	30	0,5			154	154			
HAES-steril® 6 %	Fresenius Kabi	200 000	60	0,5			154	154			
HAES-steril® 6 % kochsalzfrei mit 5 % Glucose	Fresenius Kabi	200 000	60	0,5							50
HAES-steril® 10 %	Fresenius Kabi	200 000	100	0,5			154	154			
HAES-steril® 10 % kochsalzfrei mit 5 % Glucose	Fresenius Kabi	200 000	100	0,5							50
Hemohe® 6 %	Braun	200 000	60	0,45-0,55			154	154			
Hemohe® 10 %	Braun	200 000	100	0,45-0,55			154	154			
Infukoll® HES 6 %	Ser -W. Bernb. Schwarz	200 000	60	0,45-0,55			154	154			
Infukoll® HES 10 %	Ser -W. Bernb. Schwarz	200 000	100	0,45-0,55			154	154			
Plasmafusin® HES 450	Pharm, & Upjohn	450 000	60	0,7			154	154			
Plasmasteril®	Fresenius Kabi	450 000	60	0,7			154	154			
Rheohe®	Braun	70 000	60	0,5-0,55			154	154			
Serag-HAES 6 %	Serag-Wiessner	200 000	60	0,5			154	154			
Serag-HAES 10 %	Serag-Wiessner	200 000	100	0,5			154	154			
Voluven®	Fresenius Kabi	130 000	60	0,4			154	154			

Abb. 2.3.9: Übersicht über die Hydroxyethylstärke-Präparate.

Aus Rote Liste 2000. (M_w: Mittleres Molekulargewicht in Dalton, C: Konzentration, KH: weitere Kohlenhydrate).

treten seltener auf. Die Ausscheidung erfolgt vorwiegend renal, daneben mit den Fäzes. Die höhermolekularen Anteile werden zunächst in das Retikuloendotheliale System (RES) aufgenommen und dort enzymatisch abgebaut [Mutschler, 1996].

Bei bis zu 30% der Hörsturz-Patienten, die mit HES-Präparaten therapiert wurden, trat als Nebenwirkung Pruritus auf. Als Ursache für diesen antihistaminika-resistenten Juckreiz wird eine Einlagerung in das RES - und besonders in die Langerhans-Zellen der Haut - angenommen. Diese Nebenwirkung kann durch Beschränkung der infundierten Menge weitgehend vermieden werden [Lutz, 1994].

3. Material und Methoden

3.1. Probanden- und Patientenkollektive

Für die **Circadianmessungen** (Kap 4.2.) stellten sich 11 Probanden zur Verfügung, darunter 3 Frauen zwischen 23 und 50 Jahren (MW=32,0 Jahre) und 8 Männer zwischen 22 und 64 Jahren (MW=37,6) (siehe Abb. 3.1.1).

Der Tagesablauf der Probanden wurde während der Versuchsphase möglichst wenig verändert, d.h. die Bedingungen entsprachen weitgehend einem normalen Arbeits- bzw. Studientag. Alle Probanden befanden sich in altersentsprechend gutem Allgemein- und Ernährungszustand, wiesen normale Blutdruckwerte auf (WHO-Definition der Normotonie) und fühlten sich subjektiv wohl. Die Probanden nahmen keine Medikamente ein und hatten keine Infusionen erhalten.

Proband (Kürzel)	Geschlecht	Anzahl der Blutentnahmen	Alter in Jahren	Beruf
MC	w	9	23	Studentin
DH	w	9	50	Hausfrau
MW	w	9	23	Goldschmiedin
BH	m	9	53	Lehrer
DS	m	9	22	Student
KB	m	9	30	Assistenzarzt
MS	m	9	30	Assistenzarzt
WS	m	9	55	Lehrer
RH	m	17	23	Student
WJ 1	m	10	64	Chemiker
WJ 2	m	11	64	Chemiker
JS 1	m	10	24	Student
JS 2	m	16	24	Student

Abb. 3.1.1: Probandenkollektiv (n=13/11) für die Circadianmessung des KOD₂₀

Die Blutabnahme erfolgte alle 3 Stunden zu den Zeitpunkten 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 und 21 Uhr. Acht Probanden wurden im Zeitraum von 24 Stunden jeweils 9 Proben entnommen. Ein Proband (RH) wurde über 48 Stunden untersucht und lieferte 17 Proben. Der Proband WJ unterzog sich zwei Messreihen mit 10 (WJ 1) bzw. 11 Proben (WJ 2). Der Proband JS lieferte eine Messreihe mit 10 Proben (JS 1) und eine 48-Stunden-Messung mit 16 Werten (JS 2).

Für KOD-Messungen der **Blutplasmen von Normal- und Patientenkollektiven** (Kap. 4.3. bzw 5.3.) griffen wir auf Patienten der Universitäts - HNO - Klinik - Würzburg von 1996 – 1997 zurück. Als Kriterium galt das Vorliegen von Innenohrstörungen jeglicher Art (idiopathischer Hörsturz, Tinnitus, Lärmtrauma, Morbus Menière, Neuropathia vestibularis, Labyrinthitis, Presbyacusis, Vertigo usw.), unabhängig von stationärer oder ambulanter Therapie, Tageszeit und Ergiebigkeit der Anamnese.

Anhand der Messprotokolle aus diesem Zeitraum wurden die Krankenakten retrospektiv mittels eines Erfassungsbogens anonymisiert ausgewertet und rechenstechnisch im PC mit dem Programm Medas[®] der Firma Grund erfaßt (siehe Dissertation R. Hampe [2000]).

Diagnosen der „Normalpatienten“	Patientenanzahl n=31
Cholesteatom	8
Benigne Tumore des HNO-Bereichs	6
Septumdeviation	3
Hyposmie	2
Weitere Fälle: Tubenbelüftungsstörung, Globusgefühl, unklare Lymphknoten-Vergrößerung, Epistaxis, Otosklerose, Adenektomie, geringfügige Traumata, entzündliche HNO-Erkrankungen	12

Abb. 3.1.2: Vergleichskollektiv „Normalpatienten“ für die KOD₂₀-Messungen

- Das Vergleichskollektiv aus 31 Patienten in unauffälligem Allgemeinzustand ohne Innenohrstörungen, mit unauffälligen Laborparametern und ohne Vorbehandlung mit Infusionen, im folgenden „**Normalpatienten**“ genannt, besteht aus 14 Männern und 17 Frauen (mittleres Alter $42,2 \pm 17,6$ Jahre). Abb. 3.1.2 gibt eine Übersicht über diese Gruppe.
- Eine weiteres Kollektiv ($n=31$), bestehend aus Medizinstudenten/-innen sowie Angehörigen und betreuendem ärztlichem Personal der HNO - Klinik Würzburg, stellen die **Probanden** dar: 19 Männer und 12 Frauen mit einem Altersdurchschnitt von $29,9 \pm 12,1$ Jahren.

Im Bereich der Innenohrerkrankungen werden folgende Gruppen - getrennt nach Diagnosen - gebildet (siehe auch Abb. 3.1.3 und 3.1.4):

- Das größte Kollektiv ($n=61$) stellen die Patienten mit dem Symptom **Tinnitus** dar. 33 Männer und 28 Frauen, im Mittel $44,0 \pm 17,3$ Jahre alt, klagen über Ohrgeräusche.
- 55 Patienten mit **idiopathischem Hörsturz**, Altersdurchschnitt $45,0 \pm 15,0$ Jahre, davon 24 Männer und 31 Frauen, bilden die zweitgrößte Gruppe.
- Für 18 Patienten, davon 14 Männer und 4 Frauen mit einem Durchschnittsalter von $25,9 \pm 11,1$ Jahren, galt die Diagnose **akutes Lärmtrauma** infolge Rockkonzert, Discobesuch oder extremer Lärmarbeit.
- Die Diagnose **Neuropathia vestibularis** lag bei 10 Patienten vor, hiervon je 5 Männer und 5 Frauen. Das Durchschnittsalter betrug $41,5 \pm 10,6$ Jahre.
- 7 Patienten mit der Diagnose **Morbus Menière** bilden das kleinste Kollektiv aus 4 Männern und 3 Frauen; mittleres Alter $47,7 \pm 10,6$ Jahre.

Eine genauere Aufstellung der Kollektive findet sich in der Dissertation von R. Hampe [2000].

	Probanden		Normal-patienten		Tinnitus		Hörsturz		akutes Lärm-trauma		Neuropathia vestibularis		M. Menière											
Anzahl n (Gesamt-n ^{x1})	n=31 (31)		N=31 (32)		n=61 (81)		n=55 (76)		n=18 (25)		n=10 (13)		n=7 (11)											
Geschlecht (♂/♀in % und absolut - n)	61% 19	39% 12	45% 14	55% 17	54% 33	46% 28	44% 24	56% 31	78% 14	22% 4	50% 5	50% 5	57% 4	43% 3										
Alter (in Jahren)	29,9 ± 12,1		42,2 ± 17,6		44,0 ± 17,3		45,0 ± 15,0		25,9 ± 11,1		41,5 ± 15,7		47,7 ± 10,6											
Anzahl der 1.-2.-3. KOD-Messungen	31 - 0 - 0		31 - 0 - 0		60 - 13 - 0		55 - 28 - 9		18 - 4 - 2		10 - 0 - 0		7 - 3 - 2											
Anzahl der Gesamt-eiweißmessungen	24 - 0 - 0		31 - 0 - 0		41 - 12 - 0		43 - 22 - 6		12 - 2 - 0		9 - 0 - 0		6 - 2 - 0											
betroffene Seite in % (li - re - bds/unklar)	-		-		28	48	10	14	62	38	0	0	22	39	39	0	40	50	0	10	71	29	0	0
mit Grunderkrankungen	-		29% (n=9)		38% (n=23)		40% (n=22)		11% (n=2)		40% (n=4)		43% (n=3)											
Risikofaktoren ^{x2} Lärmexposition – Rauchen - IO-tox. Medikamenten	0% -3%- 0% (0 - 1 - 0)		0% -23%- 16% (0 - 7 - 5)		13% -26%- 10% (8 - 16 - 6)		11% -24%- 15% (6 - 13 - 8)		100% -44%- 0% (18 - 8 - 0)		0% -30%- 20% (0 - 3 - 2)		0% -29%-14% (0 - 2 - 1)											
frühere Innenohrerkrankungen	-		-		57% (n=35)		56% (n=31)		17% (n=3)		30% (n=3)		86% (n=6)											
Therapieschema ^{x2} 1. Stennert - 2. Novocain	-		-		69% - 28% (42 - 17)		96% - 11% (53 - 6)		89% - 11% (16 - 2)		80% - 0% (8 - 0)		57% - 0% (4 - 0)											

^{x1} = d.h. alle Probanden / Patienten ohne Infusionsvorbehandlung, keine Hämolyse der Blutprobe

^{x2} = Mehrfachnennungen enthalten

Abb. 3.1.3: Probanden- und Patientenkollektive für die Korrelationsversuche des KOD₂₀ mit diversen Parametern

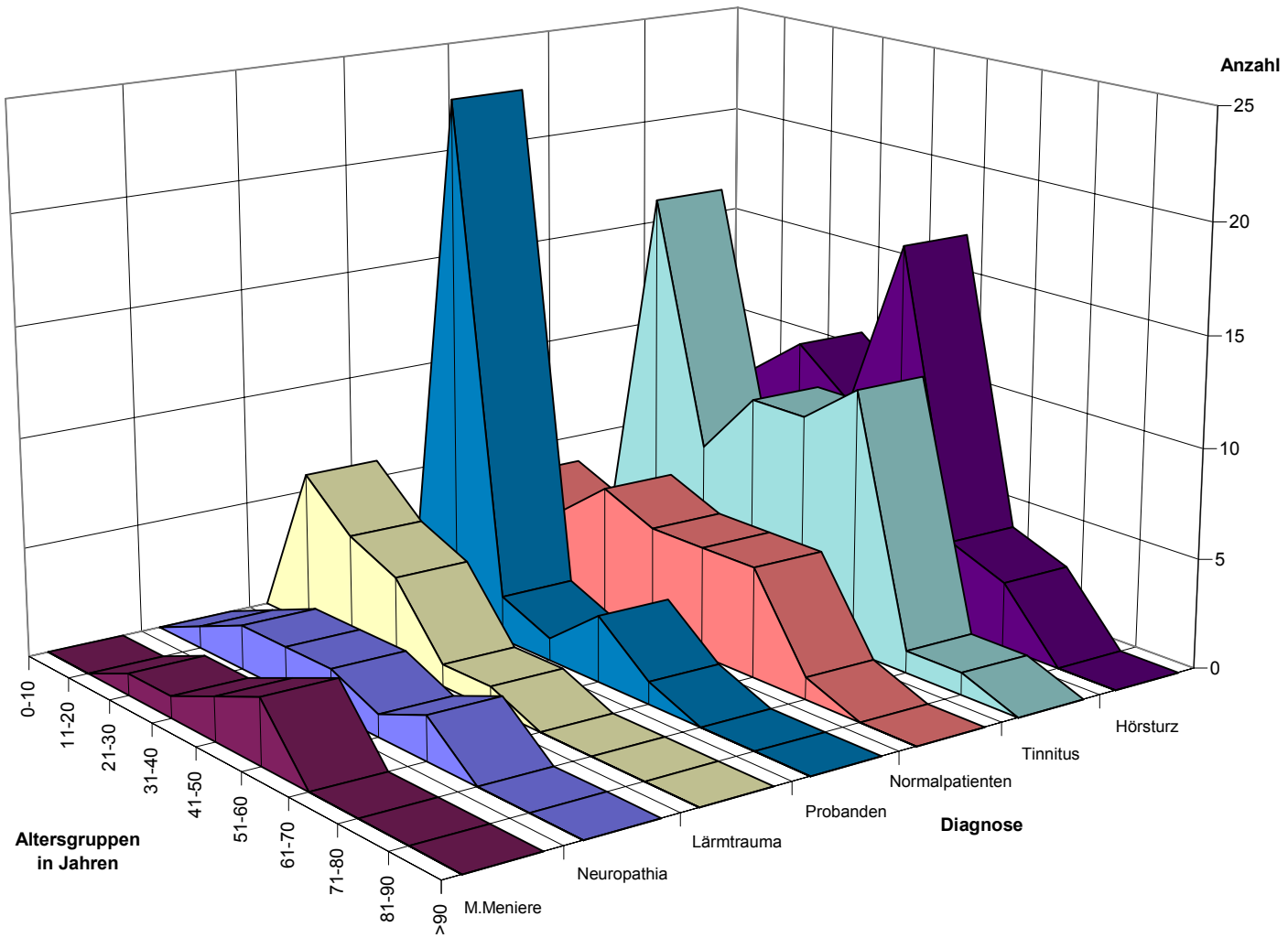


Abb. 3.1.4: Altersverteilung in den Probanden-, Vergleichs und Patientenkollektiv

3.2. Gewinnung, Verarbeitung, Aufbewahrung der Blutproben

Die Blutproben für die Circadianmessungen wurden aus einer Unterarmvene mittels einer Verweilkanüle gewonnen, die während der gesamten Versuchszeit verblieb. Während der Blutabnahme saßen die Personen, und die Vene wurde nicht gestaut.

Für die umfangreichen Probanden- und Patientenkollektive war die Blutentnahme morgens zwischen 8 und 9 Uhr vorgesehen, im Sitzen nach kurzem Stauen einer Unterarmvene. Diese Standardisierung war im klinischen Alltag nicht immer möglich, da z.B. im Hörsturzfall Patienten notfallmäßig aufgenommen wurden; von der morgendlichen Blutentnahme abweichende Fälle wurden protokolliert.

Zur Blutentnahme diente eine 2,7 ml Sarstedt-Monovette[®] KE, die pro 1 ml Blut 1,6 mg Na-EDTA als Feststoffbeschichtung zur Antikoagulation enthält. Da mit dem Inhalt dieser Monovette routinemäßig das Blutbild bestimmt wurde, konnte den Patienten eine zusätzliche Blutentnahme zur KOD-Messung erspart bleiben.

Das Blut wurde im Kühlschrank gelagert und möglichst sofort, spätestens nach 24 Stunden, zur Abtrennung der zellulären Bestandteile zentrifugiert. Danach wurde das überstehende Plasma in eine Insulinspritze (Omnifix-F[®] 1 ml) ohne Kanüle luftblasenfrei aufgezogen und gut verschlossen wiederum sofort im Kühlschrank für höchstens 5 Tage bis zur Bestimmung des KOD gelagert. Derart fanden wir in den Voruntersuchungen bis zu 9 Tagen kaum signifikante Änderungen des KOD (siehe Kap. 4.1). Hämolysen und Entmischungen des Plasmas traten nicht auf.

Verschiedene Autoren empfehlen Heparin als Gerinnungshemmer [Grünert 1985, Ladegaard-Petersen 1967] und berichten über durch andere Gerinnungshemmer verfälschte plasmatische KOD-Werte u.a. bei EDTA. Diese Klagen scheinen uns aus mehreren Gründen obsolet : 1. Will man Blutproben messen, dann hat man zwangsläufig gerinnungshemmende Mittel einzusetzen; 2. Diese dürfen selbstverständlich selbst keinen „Volumeneffekt“ verursachen, d.h. sie müssen in den Entnahmegefäßen in genormter Menge als

Feststoffe enthalten sein, was früher offensichtlich nicht die Regel war; 3. Alle zu messenden und zu vergleichenden Plasmen müssen natürlich mit den gleichen Agentien behandelt sein; 4. Gerade der Chelatbildner EDTA scheint uns ein relativ „harmloser“ Gerinnungshemmer zu sein, was auch die problemlose Recalcifizierung belegt; 5. Zur Sicherheit, d.h. zur Probe, ob KOD-Werte unverändert bleiben, hätte man – wir haben solches indessen nicht gemacht – z.B. Albumin- und Serumproteinlösungen sowohl direkt als auch nach Umfüllen in Na-EDTA-Monovetten onkometrisch messen müssen.

3.3. Verfügbare und geprüfte Plasma(Volumen)ersatzmittel

Die KOD-Messungen wurden an den etwa 1995/96 auf dem deutschen Pharmamarkt verfügbaren Plasmaersatzmitteln durchgeführt. Weitere Plasmaersatzmittel wurden uns von den Herstellern freundlicherweise zur Verfügung gestellt, wofür wir sehr herzlich danken. Abb. 3.3.1 zeigt einen kurzen Vergleich der 1995 bzw. 2000 verfügbaren Plasmaersatzmittel. Abb. 3.3.2 gibt eine Übersicht über alle von uns untersuchten Plasmaersatzmittel unter Angabe der für die KOD-Messungen verwendeten semipermeablen Membranen.

Substanz	Anzahl der Produkte		Konzentration in Gew.-%		Mittl. Molekulargewicht in kD	
	1995	2000	1995	2000	1995	2000
Modifizierte Gelatine	5x	5x	3 - 5,5	3,5 - 5,5	30 - 35	30 - 35
Dextrane	14x	10x	6 - 10	6 - 10	40 60 70 75	40 60 70 --
Hydroxyethylstärken	17x	21x	3 - 10	3 - 10	40 70 -- 200 450	-- 70 130 200 450
Humanalbumine	23x	16x	5 - 25	3,5 - 25	63 - 69	63 - 69
Humanplasmaproteine und Humanserumproteine	4x	1x	2,5 - 5	5	65 - 1000	65 - 1000

Abb. 3.3.1: Auf dem deutschen Pharmamarkt 1995/ 2000 verfügbare Plasma(Volumen)ersatzmittel [Rote Liste 1995 bzw. 2000]

Firma	Polymer	Kürzel	0,5kD	1kD	3kD	5kD	8kD	10kD	20kD	30kD	50kD	70kD	100kD	200kD	300kD
Behring	Gel 3,5%	D-35		+	+	+		+	+	+					
Bernburg	Gel 4%	W-30	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+		+	+	+	+				
	Dex 10%	W-40/1		+ (1:3)	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+	+				
	Dex 10%	W-40/2	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+	+				
	HES 6%	W-200			+		+	+	(+)	+	+	+	+		
	HES 10%	W-200/2													
Biotest	Biseko							+	+	+	+	+			
	Gel 5,5%	T-30		+ (1:1)	+ (1:1)	+		+	+	+					
Braun	Gel 3%	B-35				+		+	(+)						
	Dex 6%	B-60				+		+	+	+	+				
	Dex 10%	B-40				+ (1:1)		+ (1:1)	+ (1:1)						
	HES 6%	B-70				+		+	+	+	+				
	HES 6%	B-200/2													
	HES 10%	B-200							(+)		(+)		+		
Clintec	Dex 10%	C-40		+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)		+ (1:1)	+ (1:1)	+					
	Dex 6%	C-60		+	+	+	+	+	+	+	+				
	Dex 6%	C-75		+	+	+		(+)	+	+	+	+			
Fresenius	Dex 10%	F-40		+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)	+	+				
	Dex 6%	F-70		+	+	+	+	+	+	+	(+)				
	HES 6%	F-200/1							(+)		(+)		+		
	HES 10%	F-200/2							(+)		(+)		+		
	HES 6%	F-200/3					+	+	(+)	+	(+)	+	+		+
	HES 3%	F-200/4							(+)		(+)		+		
	HES 6%	F-450/1							(+)		(+)	+	+	+	+
HES 6%	F-450/2					+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+	
Kabi	HES 6%	K-40/1				+		(+)	+	+					
	HES 6%	K-40/2		+	+	+		+	+	+	+				
	Dex 10%	K-40/3		+ (1:1)	+ (1:1)	+ (1:1)		+ (1:1)	+ (1:1)	+	+	+			
	Dex 10%	K-40/4			+ (1:1)	+ (1:1)		+ (1:1)	+ (1:1)						
	HES 10%	K-200/1							(+)		(+)		+		
	HES 6%	K-200/2							(+)		(+)		+		
	HES 6%	K-450							(+)		(+)		+		
Knoll	Dex 10%	L-40		+ (1:1)	+ (1:1)		+ (1:1)		(+)						
Serag	Dex 6%	S-60		+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)			
	HES 10%	S-200/1						+	(+)	+	(+)	(+)	+	(+)	
	HES 6%	S-200/2						+	(+)	+	(+)	+	+	+	
Thomae	H-Albu 5%		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
Tropin	H-Albumin														
WJ	H-Plasma		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			

Abb 3.3.2 : Die untersuchten Plasmaersatzmittel unter Angabe der für die KOD-Messungen verwendeten semi-permeablen Membranen. Es bedeuten : + gemessen, (1:1) verdünnt, (+) gemessen, aber Kontrolle nötig

3.4. Asymmetrische semipermeable Membranen

Das Bauprinzip der semipermeablen Onkometermembranen wurde bereits mit Abb. 1.5 im Kapitel 1 gezeigt, wobei sich auch die Bezeichnung „asymmetrisch“ erklärt : Auf einer locker – großporigen Stützstruktur, die 100 µm und mehr dick und unpolar – hydrophob (z. B. Polypropylen, Polyester) sein kann, ruht die aktive feinporige „Arbeitsmembran“ geringer Dicke (einer bis wenige µm), die jedenfalls polar – hydrophil sein muß. Diese oft glänzend glatte und leicht konvexe Schicht muß zur Probenkammer mit der Kolloidlösung zeigen. Bei verkehrtem Einbau funktioniert die Membran entweder überhaupt nicht oder sie ist nach wenigen Minuten irreversibel verstopft. Materialien der Arbeitsmembran sind beispielsweise regenerierte Zellulose, Zelluloseacetat, Polyamide, Polysulfone und Polyethersulfone.

Die Onkometermembranen werden entweder deutlich feucht oder scheinbar trocken, jedoch stets mit Glycerol beaufschlagt, geliefert. Ein eventuelles nachträgliches porentiefes Füllen mit Lösungsmittel, d. h. das Entfernen feinsten Luftbläschen durch Evakuieren und Zentrifugieren, ist ein frustrierendes Unterfangen.

Als Hersteller und/ oder Vertreiber semipermeabler Membranen sind uns in alphabetischer Nennung folgende Firmen, von denen wir auch bezogen haben (siehe Abb. 3.4.1), bekannt :

AMICON (9-11 Typen), FILTRON (9 Typen), MILLIPORE (10 Typen), NUCLEOPORE (6 Typen), ROTH (6 Typen Spectra-POR-Dialyseschläuche), SARTORIUS (7 Typen), SCHLEICHER u. SCHÜLL (3-6 Typen), THOMAE (6 Typen).

Die Herstellungsweisen der semipermeablen Membranen, speziell der aktiven Schichten, unterliegen Betriebsgeheimnissen, weshalb man diesbezüglich nur spekulieren kann:

- Dichte Folien unter Laserbeschuß?
- Kontrolliertes Verstrecken von Folien?
- Kontrolliertes Anätzen von Folien?
- Nachträgliches Herauslösen eingelagerter Mikropartikel (z. B. scharf gesiebter NaCl-Stäube)?

- Spreiten entstehender Polymerisate auf flüssiger oder fester Oberfläche?
- ???

Jedenfalls wird verständlich, daß die ideale semipermeable Membran mit schärfstens definierter einheitlicher Porengröße bisher nicht realisiert ist; immer liegen mehr oder weniger enge Porengrößenverteilungen vor. Trotz größter Bemühungen ist es Grünert [1985] nicht gelungen, mit dem Raster-Elektronenmikroskop an 10 kD-, 20 kD- und 30 kD-Membranen Poren eindeutig zu erkennen oder gar zu differenzieren. Sekundär kommen Veränderungen durch Quellen, Schrumpfen, Altern, Adsorptionen, Luftbläschen, Keime, etc. als Störfaktoren hinzu. Beispielsweise scheint es bisher nicht gelungen zu sein, eine 60 kD-Membran für die nahe Albumingrenze herzustellen. Dagegen bietet SCHLEICHER u. SCHÜLL 80 kD und 160 kD-Membranen an, mit denen wir jedoch keine Erfahrung haben und die deshalb in Abb. 3.4.1 nicht aufgelistet sind. Stanzscheibchen von relativ dicken und „symmetrischen“ Dialysemembranen von ROTH funktionierten in unserem Onkometer nicht. Die von uns verwendeten 0,5 kD-Membranen führten an allen geprüften Lösungen zu weit kleineren KOD-Werten als die 1 kD-, 3 kD- und 5 kD-Membranen, weshalb wir sie als Fehlprodukt ausgesondert haben.

Wenngleich die technischen Schwierigkeiten nicht zu unterschätzen sind, darf man für die Herstellung semipermeabler Membranen ein paar Fernziele nennen :

- schärfere Ausschlußgrenzen, also engere Porengrößenverteilungen;
- mehr Zwischengrößen zwischen den Ausschlußgrenzen 30 kD und 1000 kD;
- strenge Normierungen und Qualitätskontrollen, d. h. die Suche nach einer Kompatibilität der Produkte von Hersteller zu Hersteller, von Material zu Material, sowie der inversionsfreien Folge der Membranen gemäß ihrer nominellen mittleren Porengröße.

Zum routinemäßigen Einsatz kamen asymmetrische semipermeable Membranen mit Ausschlußgrenzen von 20 kD insbesondere der Firma Thomae. Diese erwiesen sich bei sorgfältiger Behandlung (Schutz vor Austrocknung, Zwischenkontrollen mit Humanalbumin - Referenzlösung, sorgfältigem Spü-

len nach der Messung, kein mechanisches Berühren) als äußerst zuverlässig und lieferten konstante Messwerte. In zusätzlichen Messungen vor allem an Plasmaersatzmitteln verwendeten wir die in Abb. 3.4.1 angegebenen Membranen. In einem 1 : 1-Gemisch aus Kochsalzlösung und Isopropanol, unter geringem Glycerol-Zuschlag, konnten wir diese Membranen über einen langen Zeitraum problemlos stabilisieren, keimfrei und einsatzbereit halten.

0,5 kD	30 kD
1 kD	50 kD
3 kD	70 kD
5 kD	100 kD
8 kD	200 kD
10 kD	300 kD
20 kD	1000 kD

Abb. 3.4.1 1995 verfügbare Ultrafilter-Membranen bezüglich der Ausschlußgrenzen in kilo-Dalton (kD)

Erinnert sei noch, daß unsere Ultrafilter den Bereich „Viren, Sporen und Makromoleküle oder Kolloide“ abdecken, während sich nach oben die Mikrofilter für Bakterien, Pilze, etc. anschließen, und nach unten die Nanofilter für Kleinmoleküle und solvatisierte Ionen (beispielsweise zur Meerwasserentsalzung durch Umkehrosmose!).

An diesen relativ einfachen synthetischen „toten“ Membranen verlaufen ohne Energieaufwand rein physikalisch passive Diffusionsprozesse bis zum thermodynamischen Gleichgewicht. Die hochselektiven biologischen Membranen mit ihren energiefordernden Carrier- und Aktiv-Transporten sind um Größenordnungen kompliziertere Systeme. Beiden gemeinsam ist nur eine „Semipermeabilität“.

3.5. Onkometer und KOD-Messung

Das Onkometer

Die KOD-Bestimmung wurde mit dem Onkometer BMT 921 (Dr. Wallner, BMT Meßtechnik, Berlin) durchgeführt, das von der Firma Dr. Karl Thomae GmbH



Abb. 3.5.1: Onkometer BMT 921, Dr. Karl Thomae GmbH

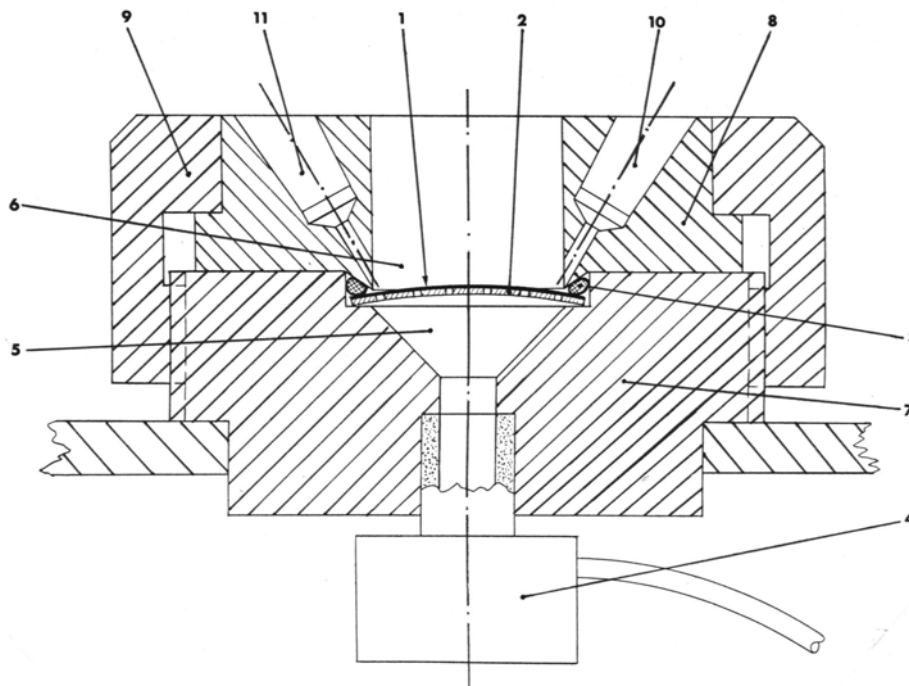


Abb. 3.5.2: Messkammer des Onkometers BMT 921 im Axialschnitt
 1: semipermeable Membran, 2: Siebgitter aus Edelstahl,
 3: O-Dichtring, 4: Druckaufnehmer, 5: Referenzkammer,
 6: Probenkammer, 7: Kammerunterteil, 8: Kammeroberteil,
 9: Schraubring, 10: Spülzuleitung, 11: Absaugleitung.

Biberach/Riß vertrieben wird. Es besteht aus zwei Einheiten : der Meßkammer und dem Elektronikteil (siehe Abb. 3.5.1). Die Meßkammer besteht aus einer Ober- und einer Unterkammer, die durch eine semipermeable Membran getrennt sind. Die Oberkammer ist durch einen Schraubring fest und dicht mit der Unterkammer verbunden (siehe Abb. 3.5.2). Die Unterkammer (Referenzkammer) ist blasenfrei mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt. Ihren Boden bildet die Edelstahlmembran des Druckwandlers. Für ideal-exakte Meßwerte müßte die Referenzkammer nicht nur absolut dicht sein, sondern ihr Volumen dürfte sich bei Druckänderungen überhaupt nicht ändern, d. h. die „Compliance“ der Referenzkammer müßte null sein! Real ist die Compliance = Volumenelastizität auch bei technisch besten Meßkammern zwar kalkulierbar bis vernachlässigbar klein, aber endlich : a) durch die meßtechnisch notwendige geringe Verschiebung der Druckaufnehmer-Membran, b) durch die semipermeable analytische Membran, durch welche die Kolloide bis zum Überdehnen oder Kollaps das Lösungsmittel Wasser in die Oberkammer ziehen könnten (siehe auch folgende Texte). Um diesen Sog auf minimale Volumenverschiebungen zu begrenzen, wird die semipermeable Membran von einer rigiden Siebplatte aus Edelstahl gestützt. Bei unseren BMT 921-Kammern reduzieren 16 Löcher vom Durchmesser 0,6 mm die exprimierte Membranfläche zwangsläufig von 75 mm² auf 4,5 mm² effektive Austauschfläche. Jegliche Verdünnung der Probe in der Oberkammer hätte zumindest einen zu niedrigen KOD-Meßwert zur Folge [Wiig et al., 1988]. Die seitliche Fixierung der Membran durch einen O-Ring gewährleistet die Dichtheit der Referenzkammer und verhindert jegliche Lateraldiffusion [Aukland et al., 1974], d. h. den Übertritt von Kolloiden von der Proben- in die Referenzkammer.

In die Oberkammer (Probenkammer) wird die kolloidhaltige Probe eingebracht. Im Gegensatz zu niedermolekularen Bestandteilen können Kolloide, die größer als die Membranporen sind, die Membran nicht passieren. Jene Kolloide erzeugen den kolloidosmotischen Druck, der in der Referenzkammer als Sog (= negativer Druck) auf das Lösungsmittel imponiert. Dieser negative

Druck wird vom Druckwandler gemessen und vom Anzeigegerät als kolloid-osmotischer Druck registriert.

In die Oberkammer mündet eine kapilläre Spülleitung, die über eine Schlauchfingerpumpe isotone Kochsalzlösung aus einem Reservoir zuführt; leergesaugt wird mit einer elektrischen Vakuumpumpe über eine gegenüberliegende zweite kapilläre Leitung. Verschlossen wird die Probenkammer durch einen Teflonstopfen mit kapillärer Bohrung, um einerseits die Membran mechanisch zu schützen und ein Eindunsten der Probe zu verhindern sowie andererseits den atmosphärischen Druckausgleich zu gewährleisten.

Die Meßkammer ist lediglich per Steckerkabel mit dem Anzeigegerät verbunden. Diese Modulbauweise erlaubt den Einsatz mehrerer Meßkammern in raschem Wechsel am gleichen Anzeigegerät. Als besonderer Vorteil erwies sich diese Option bei Messung der Plasmaersatzmittel mit Membranen unterschiedlicher Ausschlußgrößen. Ein derartiges Arbeiten, d. h. laufender Membranwechsel, ist unmöglich mit Onkometern in Blockbauart (siehe folgenden Text), welche lediglich eine Meßkammer, eingebaut im Hauptgerät, besitzen.

Das Anzeigegerät (Elektronikteil) besitzt vier Funktionstasten. Beim Betätigen der mit „1“ oder „Auto-Null“ bezeichneten Taste wird der Druckwandler elektronisch abgeglichen, wobei die Oberkammer mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt sein muß. Als zweiter Kalibrierpunkt sind vom Gerät mit der Taste „2“ „Kontrolle 25 mmHg“ abfragbar. Mit dieser Taste wird die einwandfreie Funktion der Referenzkammer überprüft. Über die mit „3“ oder „Absaugen“ beschriftete Taste wird die Flüssigkeit aus der Probenkammer in ein Reservoir abgesaugt. Ein Meßwert gilt für die Routine als stabil, wenn er sich um weniger als 0,4 mmHg/min ändert. Beim Seriengerät wird das Erreichen eines stabilen Meßwertes optisch durch ein Blinksignal und akustisch durch einen Pfeifton angezeigt. Dieser Meßwert wird gespeichert und angezeigt. Beim Druck auf die Taste „4“ oder „Speicher löschen“ erscheint am Display wieder der momentane Meßwert. Bei unseren Langzeitversuchen

waren wir immer bemüht, einen stabilen Endwert zu erreichen, und haben daher den akustischen Warnton abgeschaltet.

Auf der Rückwand des Anzeigegerätes befinden sich zwei Tasten zur Überprüfung des Druckmeßsystems und der LED-Anzeigen. Am Anzeigegerät können zur Dokumentierung und Überprüfung Registriergeräte über eine BMC-Dose angeschlossen werden. Wir benutzten einen Analog-Faltblattschreiber „PM 8110 mini recorder“ der Firma Philips und als AD-Wandler zum PC ein Digitalvoltmeter (siehe auch Kapitel 3.6.).

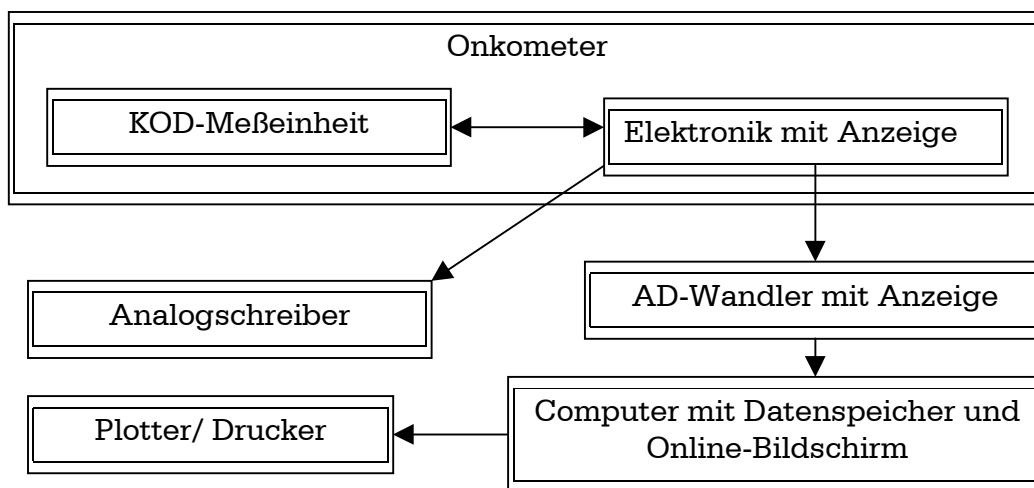


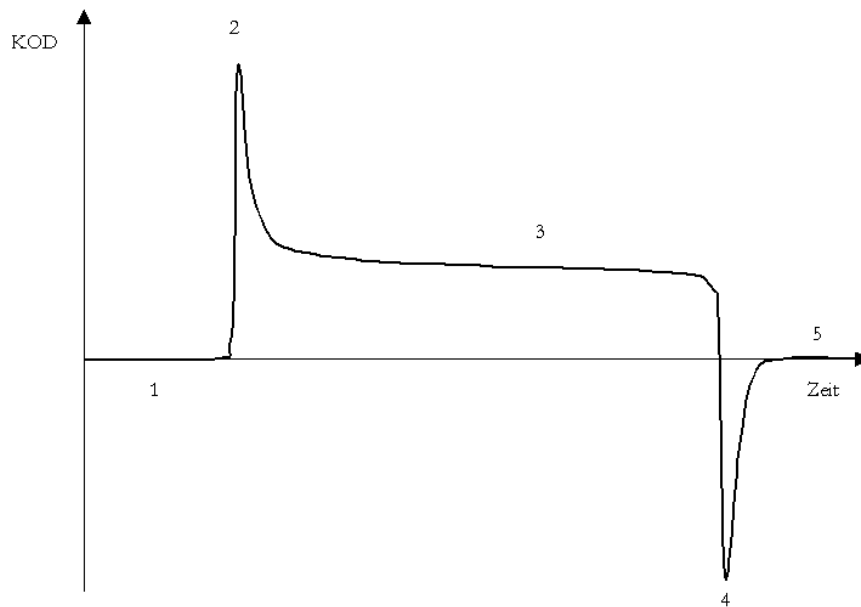
Abb. 3.5.3: Blockschema zur KOD-Messung und Datenauswertung.

Der Standort des Onkometers wurde so gewählt, daß es bei weitgehend konstanter Raumtemperatur vor Luftbewegung und direktem Sonnenlicht, wie auch vor nicht durch die Atmosphäre bedingten Luftdruckschwankungen geschützt war.

Die Vorteile des BMT 921 Onkometers sind die Modulbauweise, die elektrische Druckeichung und die problemlose Bedienbarkeit, sowie die einfache und sehr effiziente Spüleinrichtung der Meßeinheit (Abb. 3.5.5). Die Meßmembran läßt sich problemlos auswechseln. Nicht nur uns überzeugte das BMT 921, sondern auch Autoren wie Sipos und Grünert. Sie kamen im Ver-

gleich verschiedener Onkometer zu dem Schluß, daß das Onkometer BMT 921 am einfachsten zu handhaben ist und sehr genaue Meßwerte liefert [Sipos et al., 1984, Grünert, 1985]

KOD-Messung



Abschnitt 1	Nulllinie nach gründlichem Spülen der Oberkammer mit physiologischer Kochsalzlösung
Abschnitt 2	Befüllen der Oberkammer mit Albuminlösung bzw. Blutplasma, sofortiger Druckanstieg, d.h. überschüssiger gesamtosmotischer Effekt in der Oberkammer
Abschnitt 3	Langsamer Abfall des KOD gegen den Gleichgewichtszustand hin, der u.U. viele Stunden beansprucht und dann oftmals nicht abgewartet werden kann
Abschnitt 4	gegensinniger Effekt nach Spülen der Oberkammer: für den jetzt osmotischen – kolloidosmotischen Überdruck in der Unterkammer ist der diffundierte Anteil der Messlösung verantwortlich (etwa inverser Peak zu Abschnitt 2)
Abschnitt 5	Rückkehr zur Nulllinie nach häufigem Spülen der Oberkammer

Abb. 3.5.4: Verlauf einer KOD - Messung in fünf Abschnitten

Vor einer Meßserie beginnt man mit der Überprüfung der Apparatur. Zunächst wird sorgfältig mit Kochsalzlösung gespült. Danach wird durch Drücken der grünen Taste auf der Rückseite des Anzeigegerätes das Druckmeßsystem getestet. Darauf folgt ein Nullabgleich (Taste „1“ Abb. 3.5.1) und mit Taste „2“ ein Kammerfunktionstest (Abschnitt 1). Vor einer Serie von Probenmessungen messen wir eine Referenzlösung (5 %-iges Humanalbumin der Firma Thomae, Biberach), um die Funktion der Meßkammer und vor allem den einwandfreien Zustand der Membran zu prüfen.

Exemplarisch ist in Abbildung 3.5.4 ein typischer KOD-Kurvenverlauf dargestellt, der mit einem Analogschreiber aufgezeichnet wird. Bei einwandfrei funktionierender semipermeabler Membran besteht ein Meßzyklus prinzipiell aus fünf Abschnitten.

Nach sorgfältigem Leersaugen der Probenkammer werden 7 Tropfen ($\approx 200 \mu\text{l}$) der Referenzlösung rasch berührungsfrei einpipettiert und die Kammer ohne Druckanwendung gedeckelt, um Verdunstungsverluste – und damit Meßfehler - zu verhindern (Abschnitt 2). Anhand des vom Gerät gespeicherten Meßwertes, des letztlich entscheidenden stabilen Endwertes und des Kurvenverlaufs (Abschnitt 3) kann mit einiger Erfahrung der Zustand der Membran beurteilt und diese gegebenenfalls gewechselt werden. Ein weiterer wichtiger Beurteilungsfaktor ist der Kurvenverlauf nach dem Spülen. Nach sorgfältigem Absaugen der Probe und erstem Füllen mit Kochsalzlösung beobachtet man einen zum positiven Primärpeak (Abschnitt 2) nahezu inversen negativen Peak, welcher durch Rückdiffusion diffusibler Lösungsanteile aus der Unterkammer zustandekommt (Abschnitt 4). Nach fünfmaligem Spülvorgang sollte sich die Kurve relativ genau und rasch dem Ausgangswert, also $0,0 \text{ mmHg}$, annähern und so verbleiben (Abschnitt 5). Die Abschnitte 4 + 5 geben klare Kriterien für die Dichtigkeit der Unterkammer wie auch das Funktionieren der Membran.

Nach Sicherstellung einer einwandfreien Funktion von Membran und Messeinheit wird nach 4 Spülgängen mit den Serienbestimmungen begonnen: In die leergesaugte Probenkammer werden wiederum 7 Tropfen einpipettiert, diesmal einer Probe, vorsichtig ohne Berühren der Membran. Der via Analog-

schreiber aufgezeichnete Kurvenverlauf ist - abhängig von Membran und Proben (Humanplasma oder Plasmaersatzmittel) - recht unterschiedlich. Um den KOD der Probe möglichst exakt zu finden, muß ein stabiler Endwert abgewartet werden, d.h. ein Zustand, bei dem die Diffusion der niedermolekularen Teilchen über die Membran ein Gleichgewicht erreicht hat und sich der KOD-Meßwert nicht mehr merklich ändert (Abschnitt 3). Dies kann bei Plasmaexpandern und kritischer Membrankonstellation u. U. Tage dauern, weswegen man Messungen „vorzeitig“ abbricht und mit einer Extrapolation den Endwert zu errechnen sucht! Die Spülprozedur bis zum Einbringen einer neuen Probe verläuft wie bereits vorstehend beschrieben.

Unsere Probentechnik unterscheidet sich von der Methode nach Grünert [1985] und Sipos et al. [1984], welche jeweils nach 30 Sekunden eine erste Probenfüllung absaugen und erneut dieselbe Probe einpipettieren, um Verdünnungen durch Reste der Spülflüssigkeit auszuschließen. Bei unseren Vorversuchen zur Reproduzierbarkeit der Meßwerte erwies sich das einmalige Einbringen der Probe nach scharfem, sorgfältigem Absaugen der Spülflüssigkeit als sehr zuverlässig, und hat den enormen Vorteil, den Probenverbrauch auf die Hälfte zu senken. Kritisch wichtig ist es, bei allen Messungen stets exakt die gleiche Prozedur einzuhalten. Analogschreiberkurven und digitale Datenaufnahme des Rechners liefen stets parallel und über die jeweilige gesamte Meßzeit.

Zur Onkometrie allgemein

Unseres Wissens standen/stehen außer dem von uns favorisierten und verwendeten Onkometer BMT 921 insbesondere für KOD-Routinemessungen aus Vollblut, Blutplasma und -serum bei Meßvolumen zwischen 50 und 300 µl mindestens die in Abb. 3.5.5 genannten Onkometer zur Verfügung. Alle Geräte funktionieren nach dem von Hansen [1961] angegebenen Meßprinzip. Die Geräte haben automatischen Nullabgleich und hydrostatische Druckeichung; die Meßzeiten werden mit einer bis wenige Minuten angegeben.

Kriterien für die Wahl eines Onkometers sind :

- die Zuverlässigkeit = mechanische + elektrische + thermische Betriebssicherheit; Stabilität und Reproduzierbarkeit der Meßwerte
- die Empfindlichkeit = Meßbereich, Meßvolumen, Meßgeschwindigkeit; Auflösungsvermögen; Einsatzbereiche
- die Handlichkeit und der Komfort bezüglich Reinigung und Pflege; Membranwechsel; Verwendbarkeit unterschiedlicher Membranen; De- und Remontage der Meßzelle; Übersichtlichkeit der Bedienungs- und Anzeigenelemente
- der Kostenfaktor = Anschaffungspreis, Servicekosten; Flexibilität bei Umbau und Modifizierung; Kooperation mit dem Hersteller

Hersteller	Gerät	Anmerkungen
GONOTEC GmbH, Berlin (1993)	Automat. Kolloid-Osmometer OSMOMAT 050	Meßbereich 0-99,9±0,5mmHg / Auflösung 0,1mmHg / 100-250µl / 10/20kD u. 5kD-Zweischicht-Membran / speziell f. rasche klin. Routine / Injektion per Spritze via Septum / automat. Spülung / Meßzelle im Hauptgerät
INSTRUMENTATION LABORATORIES Inc., Lexington MA, USA (1983)	WEIL-ONCOMETER System IL 186	Siehe Weil + Morisette et al. [1974], zwischenzeitlich wohl Nachfolgegeräte
Dr. H. KNAUER GmbH, Berlin (1994)	KOLLOID-OSMOMETER A 0279	Meßbereich 0-199,9±0,5mmHg / Meßzeit bei ≤ 50µl unter 1min. / 5/10/30kD / f. Blutplasma (Vollblut notfalls) / Meßzelle im Hauptgerät
WESCOR Inc., Logan Utah, USA (1994)	COLLOID OSMOMETER 4420	Meßbereich 0-200±0,3mmHg / Routine 350µl, Spezial 125µl / 10 u. 30kD-Membran in Spezialrahmen für einige 1000 Messungen / Durchflußsystem mit Spritzeninjektion, auch f. Vollblut / f. Intensivüberwachung / Meßzeit 1-3min / auch Referenzkammer im Durchfluß spülbar / Meßzelle im Hauptgerät / eine Kalibrierlösung Osmocol®II COP Standard wird angeboten

Abb. 3.5.5: Weitere Onkometer auf dem Markt für Routinemessungen

Zur Erinnerung: Die für Onkometer angebotenen Testlösungen (speziell Humanalbumin) sind keine Eichlösungen. Die Geräte können bisher nur hydrostatisch oder elektronisch zuverlässig kalibriert (geeicht) werden. Definierte Hochmolekularen-Lösungen mit Eichqualität werden derzeit noch nicht angeboten (siehe indessen Anmerkung zum WESCOR-Onkometer gemäß Abb. 3.5.5).

Kritischstes Element in der Weiterentwicklung präziser und vielseitig verwendbarer Onkometer dürften weniger die Miniaturisierung und Sensitivierung der Druckaufnehmer als vielmehr die asymmetrischen semipermeablen Membranen sein, bezüglich derer noch viele Wünsche offen sind (siehe Kap. 3.4.).

Zu „unserem“ Onkometer BMT 921 (siehe Abbn. 3.5.1 u. 3.5.2), welches zur klinischen Diagnostik entwickelt, von uns aber zu wissenschaftlicher Arbeit verwendet wurde, sind noch ein paar Nachträge zu machen :

- Die Meßzelle – eine ausgereifte Konstruktion – ist patentiert. Die Bohrkanäle der Spülleitungen haben einen Durchmesser von nur 0,9 mm und münden direkt am Boden der Oberkammer. Zur Vermeidung jeglicher Querdiffusion bei Lang- und Längstzeitmessungen würde man sich diesen Durchmesser noch geringer wünschen. Die nachgeschalteten Schlauchvolumina haben wir aus diesem Grunde durch eingelegte Teflonschläuche bereits verringert.
- Eine Minimierung der Probenkammer auf 10 – 20 µl wäre wünschenswert. Ohne Beeinträchtigung der Meßwerte ist es uns – in einer allerdings schon aus Spülgründen inpraktikablen Weise - gelungen, durch eingebrachte Glasperlen das Meßvolumen auf 100 µl zu reduzieren.
- Für die wissenschaftliche Arbeit wäre eine direkte Spülung der Unterkammer von Vorteil (die Referenzkammer käme derart sofort auf den echten Nullwert!). Die konstruktiven Schwierigkeiten scheinen indessen enorm zu sein, da durch zwangsläufig zunehmende Compliance der Unterkammer die Meßgenauigkeit aufs Spiel gesetzt wird.
- Der Meßbereich beträgt normal 60 (bis 80) ± 0,2 mmHg, kann aber erweitert oder verringert werden.

- Auf Basis des BMT 921 hat der Hersteller bereits ein Onkometer mit 10-fach höherer Auflösung fertig entwickelt, d.h. zu KOD-Messungen auf $\pm 0,01$ mmHg.

Sipos und Weindlmayr-Goettel [1984] verglichen das BMT 921 im praktischen Betrieb mit dem GONOTEC-Gerät und dem KNAUER-Gerät (siehe Abb. 3.5.5), geleitet von dem Wunsch, für die wichtige KOD-Überwachung auf Intensivstationen das optimale Gerät zu finden. Das BMT 921 imponierte als einfach zu bedienen, zuverlässig und rasch arbeitend, auch bezüglich Nullabgleich und elektrischer Druckeichung. Im übrigen raten die Autoren dringend von KOD-Berechnungen aus den Gesamteiweiß-Werten ab, aber keineswegs allein deshalb, weil direkte KOD-Messungen bereits in wenigen Minuten zu erledigen sind!

Der Vollständigkeit halber seien noch interessante Onkometer – Entwicklungen aus physiologischen und physikalischen Labors skizziert, die als hochsensitive wissenschaftliche Geräte nur „vor Ort“ von Spezialisten bedient werden können. Fragestellungen dazu waren etwa

- a) die Messung extrem kleiner Volumina (wenige μl bis $0,2 \mu\text{l}$)
- b) Durchflußmessungen an strömenden Flüssigkeiten, z. B. Blut
- c) Messung extrem kleiner oder großer Proteinkonzentrationen
- d) In-vivo-Sonden für Organe, Körperhöhlen, Interstitium.

Kakiuchi et al. [1979] beschreiben eine temperierte onkometrische Durchflußzelle mit einem Hohlfasersystem als semipermeables Element zur Blutmessung im Tierexperiment, die für Stop- und Flow-Messungen identische KOD-Werte liefert.

Aukland et al. [1974] gelang die Miniaturisierung und Verbesserung eines Hansen-Onkometers für kleine Proben von $10 - 4 \mu\text{l}$ bei einem effektiven Membrandurchmesser von 3 mm, z. B. zur Messung subkutaner Gewebsflüssigkeit. Membran und Oberkammer wurden mit weichem Filterpapier getrocknet, um die verfälschende Verdünnung durch Spülflüssigkeit zu verhindern. Die gesamte Meßzelle war aus Acrylharz transparent gefertigt, um diese auf Luftblasenfreiheit kontrollieren zu können. Bei einer Compliance der

Referenzkammer von $0,06 \mu\text{l}/100 \text{ mmHg}$ waren ca. 20 Messungen/Stunde möglich, mit einer Reproduzierbarkeit von mehr als $0,5 \text{ mmHg}$. Erinnert wird an den Vorschlag von Intaglietta und Zweifach [1971], die Referenzkammer statt mit Kochsalzlösung mit Serum-Ultrafiltrat zu beschicken : die Kinetik der KOD-Kurve wird „sauberer“, da auf diese Weise die noch diffusiblen Höhermolekularen ab initio in Gleichverteilung zwischen Ober- und Unterkammer vorliegen.

1988 überraschten Wiig, Aukland et al. – wiederum aus dem Physiologischen Institut der Universität Bergen- mit einem Submikro-Onkometer. In eine Meßzelle von $0,85 \text{ mm}$ Durchmesser werden per Glaspipette Probenmengen bis herab zu $0,2 (0,1) \mu\text{l}$ eingebracht. Neben den einfachen Fehlerquellen wie Verdunstung, Kondensation, Wandadsorption wird die Compliance der Referenzkammer für die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der Meßwerte entscheidend. Bei absolut starren Kammerwänden ist alleiniges Störelement dann die Compliance des Drucksensors selbst, weshalb verschiedene Fabrikate geprüft wurden. Dabei erwiesen sich Transducer für medizinische Zwecke als nicht mehr geeignet; allein ein Transducer für industrielle Anwendung hatte die ausreichend kleine Compliance von $0,00175 - 0,0035 \mu\text{l}/100\text{mmHg}$, um $0,2 \mu\text{l}$ -Proben noch erfassen zu können. Probleme bereiteten auch Mikroluftblasen. Mehrere Modelle von Mikro-Onkometern wurden gebaut und erprobt. Als zu kompliziert und störanfällig wurde dabei die Wiederhielm-Technik wieder verlassen, nach der die Compliance der Referenzkammer eine automatische Druckkompensation erfährt, wozu u. a. ein zweiter Druckaufnehmer und hoher elektronischer Aufwand erforderlich sind.

Prather et al. [1972] geben einen Überblick über die Entwicklung elektronischer Kolloid-Osmometer seit 1957. Bereits 1968 hatten die Autoren selbst ein Onkometer für statische wie auch für Durchflußmessungen kreiert, unter großem Aufwand und zahlreichen Ansätzen, um Verdünnungseffekte nach Spülen der semipermeablen Membran zu kompensieren. Mit einem neu entwickelten Onkometer ist es gelungen, Standardabweichungen der KOD-Messungen von $\pm 0,9 \text{ mmHg}$ auf $\pm 0,15 \text{ mmHg}$ herabzudrücken, bei Meßvo-

lumina von 100 bis 50 μl . Problemstellung war etwa die Messung der arteriovenösen KOD-Differenz eines Organs.

Schließlich bewegt der Gedanke, ob es nicht gelingen könnte, Onkometer zu bauen, welche statt der „simplen“ chemischen Membran (siehe Kap. 3.4.) mit biologischem Material als semipermeabler Membran arbeiten. Vorbild könnten etwa die in Physiologie und Pharmakologie üblichen Diffusionskammern sein. Interessante Objekte für Permeationsstudien an Hochmolekularen wären etwa so komplexe „Membranen“ wie Darmmukosa, Mund- und Trachealschleimhaut, Dura Mater und Pia Mater, Gefäßwände, Pleural- und Peritonealhäute.

Geräte zur Messung anderer Laborparameter

Das Blutbild wurde mit dem Cellcounter Cobas Micros OT von Roche, Diagnostic Systems, automatisch bestimmt.

Das Gesamteiweiß wurde mit dem Autoanalyser Hitachi 911 nach der Biuret-Methode gemessen.

Zu Eiweißelektrophoresen diente das Olympus HITE- System 310.

3.6. Rechentechnische Hilfen (Statistik, Extrapolation)

Wir verwendeten zur Datenerfassung und -auswertung einen Computer Acrobat[®] Desktop PC mit dem Betriebssystem Windows 3.1[®], DOS 6.0[®], und einem 66 MHz-Prozessor 386 der Firma Intel[®]. Das Programm DMM506[®] zur Datenerfassung der Messwerte im Computer wurde von der Firma Voltcraft[®] in Verbindung mit dem Digitalvoltmeter Multimeter-VC 506[®] ausgeliefert. Der PC speicherte die aktuellen Messwerte im 30sec-Takt und stellte optisch am Bildschirm (ADI[®] Microscan – 15“ – Monitor LM – 1564) den Kurvenverlauf dar. Die Ausdrücke der Kurvenverläufe wurde mit einem HP - Laserjet[®] 5L – Drucker gefertigt.

Zur Darstellung von Tabellen und Grafiken verwendeten wir hauptsächlich das Programm MS-Excel 97[®] SR-2. Die statistischen Berechnungen führten wir mit dem Programm Medas[®] der Firma Grund, Margetshöchheim, durch. Neben statistischen Standardverfahren wie Berechnung des Mittelwerts, des

Medians, der Standardabweichung und des Standardfehlers kommen folgende Tests zur Anwendung : Student-t-Test (Irrtumswahrscheinlichkeit p für zwei Stichproben aus zwei Grundgesamtheiten mit ungleicher Varianz), Kruskal - Wallis - H - Test (einfaktorielle Varianzanalyse für normalverteilte Variablen und Rangvarianzanalyse), Test nach Wilcoxon (Test auf Verschiedenheit zweier abhängiger Variablen), U-Test nach Mann und Whitney (Test auf Verschiedenheit der Werte zweier Patientengruppen). Für die Circadianmessung wurde der Cosinor-Test verwendet. Die Abbildungen in Kapitel 4.3 stammen zum Teil aus dem Programm Medas[®].

Als Betreuerin für die medizinische Statistik stand uns Frau Dr. Haubitz, vormals Rechenzentrum der Universität Würzburg, zur Seite.

Bei der **Extrapolation von KOD-Kurvenverläufen** mit dem Ziel, aus Zeitgründen experimentell nicht abwartbare Gleichgewichtsendwerte zu ermitteln, verwendeten wir ein Extrapolationsprogramm, das von Herrn Prof. v. Golitschek am Institut für Angewandte Mathematik und Statistik der Universität Würzburg erstellt wurde.

Wir nehmen an, die gemessene Kurve lasse sich durch folgende Gleichung

ausdrücken:

$$f(\tau) = a + b * e^{-\lambda \tau^\alpha}$$

Die unbekanntes (d.h. zu berechnenden) reellen Parameter sind a , b , λ , α mit $\alpha \approx 1$ (in den Experimenten lieferten Werte für $\alpha < 1$ bessere Extrapolationen). Mathematisch läuft dies auf ein Kleinstes-Fehler-Quadrat-Problem hinaus, welches folgendermaßen angegangen wird:

Minimiere bezüglich der reellen Parametern a , b , λ , α den Ausdruck

$$\Phi(a, b, \lambda, \alpha) = \sum_{i=1}^m (\eta_i - a - b * e^{-\lambda \tau_i^\alpha})^2$$

Bei der Lösung dieses nichtlinearen Problems sind wir folgendermaßen vorgegangen:

1. Wir betrachten nur die Werte $\alpha = 1$, $\alpha = 0,95$, $\alpha = 0,9$, $\alpha = 0,85$ und $\alpha = 0,8$, da sich diese Werte in Vorläufen als die besten herausbildeten.
2. Wir legen eine obere Schranke λ_1 (z.B. $\lambda_1=4$) und untere Schranke λ_0 (z.B. $\lambda_0=0$) fest und suchen das Minimum von Φ für diskrete λ -Werte.

3. Bei festem α und festem λ werden nun die optimalen Werte für a und b berechnet. Es resultiert dann ein lineares Least Square Problem für die unbekannt Parameter a und b.

Durch Integration und Umformung ergeben sich folgende Gleichungen:

$$a = \frac{b_1 a_{22} - b_2 a_{12}}{a_{11} a_{22} - a_{12}^2}$$

$$b = \frac{a_{11} b_2 - a_{12} b_1}{a_{11} a_{22} - a_{12}^2}$$

mit den Abkürzungen

$$a_{11} = 1$$

$$a_{12} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m e^{-\lambda \tau_i^\alpha}$$

$$a_{22} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m e^{-2\lambda \tau_i^\alpha}$$

$$b_1 = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \eta_i$$

$$b_2 = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \eta_i e^{-\lambda \tau_i^\alpha}$$

4. Mit diesen Werten a und b, die von λ und α abhängen, berechnen wir

$$\Phi_{\min}(\lambda, \alpha) = \sum_{i=1}^m (\eta_i - a - b * e^{-\lambda \tau_i^\alpha})^2$$

5. Schließlich wird ein Paar (λ, α) gewählt, für das $\Phi_{\min}(\lambda, \alpha)$ am kleinsten ist und das zusätzlich die zugehörigen Werte a und b des 3. Schrittes befriedigt.

Zu bemerken ist, daß dieses schwierige und mühsame Verfahren nur erfolgreich ist, wenn

- ausreichend lange experimentelle Meßkurven mit im Endbereich einigermaßen flachem Verlauf vorgegeben werden können, und
- die Extrapolation zeitlich nicht zu weit weg über die letzten Meßwerte hinaus getrieben wird.

4. Zu den KOD-Messungen

4.1. Einfluß- und Störfaktoren der KOD-Messung

Auf triviale Stör- und Fehlerquellen der KOD-Messung ist insbesondere in den Abschnitten 3.1., 3.2., 3.4., und 3.5. hingewiesen worden. Weitere Einflußfaktoren sind in den Abschnitten 4.2. und 4.3. besprochen, so daß wir uns hier im wesentlichen auf wenige Fragen konzentrieren können :

- Die zulässige Lagerungsdauer der Proben, speziell des Plasmas.
- Die Entscheidung, ob Vollblut, Plasma oder Serum das ideale Substrat zur KOD-Messung darstellt.
- Aus welchen Anteilen der experimentelle Gesamt-KOD zustande kommt.

Lagerdauer der Blutplasmen

Gemäß tabellarischer Darstellungen (Abb. 4.1.1 und 4.1.2), die sich weitgehend selbst erklären, wurden a) die KOD_{20} -Werte von 34 zufälligen Plasmaproben zu unterschiedlichen Zeiten einmal nachgemessen und b) an vier zufälligen Plasmaproben zu unterschiedlichen Zeiten jeweils drei Nachmessungen durchgeführt.

Sozusagen prima vista möchte man bei adäquater Lagerung eine Toleranzgrenze von etwa 5 Tagen als unbedenklich akzeptieren. Selbstverständlich sind die KOD-Messungen prinzipiell möglichst rasch nach der Blutentnahme durchzuführen, aber die Praxis erlaubt dies eben nicht immer.

Der Wilcoxon-Test der Werte gemäß Abb. 4.1.1 ergab sogar innerhalb der ersten 9 Tage Lagerdauer keine signifikanten Unterschiede der Folgewerte zu den Ausgangswerten ($p=0,84$). Nach elf Tagen Lagerdauer streuten die Folgewerte erstmals mindestens 1 mmHg um die jeweiligen Ausgangswerte. Ab einer Lagerdauer von elf Tagen zeigte der Wilcoxon-Test signifikante Unterschiede zwischen Folgewerten und Ausgangswerten ($p<0,0001$). Aus dieser Untersuchung ist ersichtlich, daß eine Lagerung des Plasmas eventuell bis zu neun Tagen zuverlässige KOD-Werte liefert.

	Primärwert	Folgewert	Lagerdauer	Abweichung vom Primärwert	
	[mmHg]	[mmHg]	[Tage]	[mmHg]	[%]
n=13	26,5	25,8	1	-0,7	-2,6
	23,7	23,4	2	-0,3	-1,3
	27,6	27,6	2	0,0	0,0
	24,8	24,9	2	0,1	0,4
	21,5	21,6	2	0,1	0,5
	19,1	19,2	2	0,1	0,5
	26,6	26,8	2	0,2	0,8
	32,5	32,8	2	0,3	0,9
	30,4	29,5	3	-0,9	-3,0
	30,1	29,4	3	-0,7	-2,3
	22,9	22,4	3	-0,5	-2,2
	28,3	28,4	3	0,1	0,4
21,8	21,9	5	0,1	0,5	
MW	25,8	25,7	2,5	-0,2	-0,6
±SD	4,0	3,9	1,0	0,4	1,5
n=10	26,4	26,5	9	0,1	0,4
	27,0	27,7	9	0,7	2,6
	25,2	26,0	9	0,8	3,2
	25,9	26,9	11	1,0	3,9
	29,4	30,0	16	0,6	2,0
	31,1	32,8	16	1,7	5,5
	26,8	28,9	21	2,1	7,8
	26,7	29,1	21	2,4	9,0
	28,2	31,9	21	3,7	13,1
	29,2	31,4	22	2,2	7,5
MW	27,6	29,1	15,5	+1,5	+5,5
±SD	1,8	2,4	5,6	1,1	3,9
n=11	30,1	31,8	27	1,7	5,6
	25,9	27,5	29	1,6	6,2
	27,4	29,5	29	2,1	7,7
	16,2	16,6	36	0,4	2,5
	25,9	27,1	36	1,2	4,6
	19,5	21,1	36	1,6	8,2
	25,4	24,1	43	-1,3	-5,1
	33,3	35,0	43	1,7	5,1
	25,6	26,9	44	1,3	5,1
	20,0	21,3	44	1,3	6,5
	22,3	23,6	46	1,3	5,8
MW	24,7	25,9	37,5	+1,2	+4,7
±SD	4,9	5,2	6,9	0,9	3,6
n=34	Gesamtheit der Proben				
MW	26,0	26,7	17,6	+0,8	+2,9
±SD	3,9	4,2	15,7	1,1	4,1

Abb. 4.1.1: Einfluß der Lagerdauer diverser Blutplasmen (im Dunkeln, im Kühlschrank) auf deren KOD_{20} -Wert bei einmaliger Nachmessung (n=34).

Bei vier Plasmen schlossen wir der ersten Folgemessung nach weiterer Lagerung zwei weitere Folgemessungen an. Die Werte sind in Abbildung 4.1.2

nachzulesen. Hiernach möchte man eine Toleranzzeit von 5 – 6 Tagen einräumen.

		KOD ₂₀	Lagerdauer	Abweichung des Folgewertes vom Ausgangswert	
		[mmHg]	[Tage]	[mmHg]	[%]
Probe 1	Ausgangswert	17,0	0		
	1. Folgewert	17,0	6	0,0	0,0
	2. Folgewert	16,8	9	-0,2	-1,2
	3. Folgewert	16,5	16	-0,5	-3,0
Probe 2	Ausgangswert	28,5	0		
	1. Folgewert	27,7	6	-0,8	-2,8
	2. Folgewert	28,0	9	-0,5	-1,8
	3. Folgewert	27,3	16	-1,2	-4,2
Probe 3	Ausgangswert	28,2	3		
	1. Folgewert	27,8	5	-0,4	-1,4
	2. Folgewert	27,0	11	-1,2	-4,3
	3. Folgewert	26,5	14	-1,7	-6,0
Probe 4	Ausgangswert	20,5	2		
	1. Folgewert	19,9	4	-0,6	-2,9
	2. Folgewert	19,3	10	-1,2	-5,9
	3. Folgewert	20,0	13	-0,5	-2,4

Abb. 4.1.2: Einfluß der Lagerdauer des Blutplasmas auf den KOD₂₀; (4 zufällige Proben, jeweils viermalig gemessen, Lagerung im Kühlschrank im Dunkeln).

Auch die Autoren Grünert [1985] und Aukland et al. [1987] kommen aufgrund ihrer Untersuchungen zu einem ähnlichen Ergebnis, nämlich daß bei 7-tägiger Lagerung von Plasmaproben keine signifikanten Änderungen der KOD-Werte zu erwarten sind.

Vergleich Blutplasma und Vollblut bzw. Blutplasma und Blutserum

Aus 25 Blutproben wurden jeweils der KOD₂₀-Wert des Na-EDTA-**Vollblutes** und der des **Plasmas** nach Zentrifugation bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.1.3 tabellarisch zusammengefaßt. Der Plasma-KOD₂₀-Mittelwert lag mit 26,4 mmHg um 2,7 mmHg (bzw. 10,2 %) über dem Vollblut-KOD₂₀-Mittelwert von 23,7 mmHg. Diese Abweichungen betragen bis zu -8,9 mmHg bzw. +2,2 mmHg. Um das Ausmaß der Abweichungen der einzelnen Vollblut-Werte von den zugehörigen Plasma-Werten am besten einzuschätzen,

stellten wir diese Häufigkeitsverteilung graphisch dar (Abb. 4.1.4). Die weite Streuung ist daraus deutlich zu erkennen. Vollblut erwies sich in unseren Versuchen als unzuverlässig zur KOD-Bestimmung (siehe auch Kap. 2.2.).

	Plasma	Vollblut	Abweichung vom Plasmawert	
	[mmHg]	[mmHg]	[mmHg]	[%]
Probe 1	24,1	22,1	-2,0	-8,3
Probe 2	24,8	21,6	-3,2	-12,9
Probe 3	27,9	24,2	-3,7	-13,3
Probe 4	19,1	17,0	-2,1	-11,0
Probe 5	27,4	23,9	-3,5	-12,8
Probe 6	25,5	23,2	-2,3	-9,0
Probe 7	25,9	23,2	-2,7	-10,4
Probe 8	26,0	27,1	1,1	4,2
Probe 9	21,5	19,3	-2,2	-10,2
Probe 10	32,6	31,5	-1,1	-3,4
Probe 11	27,4	22,8	-4,6	-16,8
Probe 12	21,7	20,6	-1,1	-5,1
Probe 13	27,4	25,5	-1,9	-6,9
Probe 14	25,2	23,5	-1,7	-6,7
Probe 15	21,6	23,8	2,2	10,2
Probe 16	28,6	24,7	-3,9	-13,6
Probe 17	24,4	22,5	-1,9	-7,8
Probe 18	28,5	28,8	0,3	1,1
Probe 19	32,5	32,6	0,1	0,3
Probe 20	28,2	24,0	-4,2	-14,9
Probe 21	20,5	18,4	-2,1	-10,2
Probe 22	25,0	23,7	-1,3	-5,2
Probe 23	25,7	24,8	-0,9	-3,5
Probe 24	29,5	21,4	-8,1	-27,5
Probe 25	23,7	20,8	-2,9	-12,2
Probe 26	43,8	34,9	-8,9	-20,3
Probe 27	24,9	21,0	-3,9	-15,7
Probe 28	28,2	22,6	-5,6	-19,9
Probe 29	26,6	22,9	-3,7	-13,9
Probe 30	23,9	21,7	-2,2	-9,2
Probe 31	22,0	18,4	-3,6	-16,4
Probe 32	30,9	24,7	-6,2	-20,1
Probe 33	26,5	25,7	-0,8	-3,0
Mittelwert	26,4	23,7	-2,7	-10,2
\pm SD	4,4	3,8	2,3	7,5

Abb. 4.1.3: Abweichung der KOD₂₀-Vollblutwerte von den jeweiligen KOD₂₀-Plasmawerten (n=25).

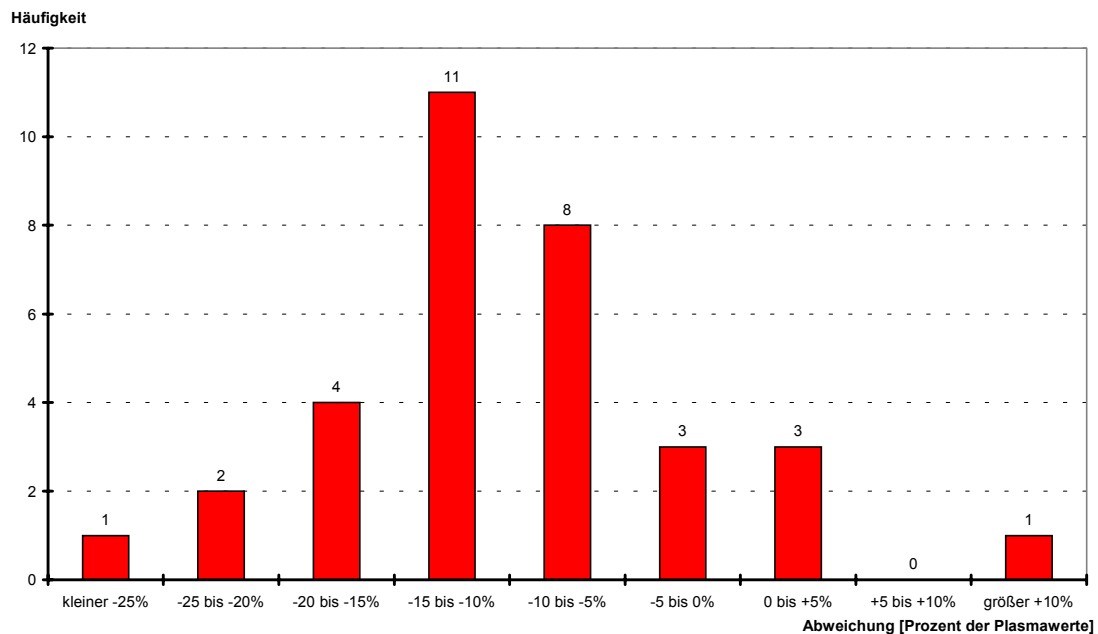


Abb. 4.1.4: Häufigkeitsverteilung der prozentualen Abweichung der KOD₂₀-Vollblutwerte von den zugehörigen KOD₂₀-Plasmawerten (diese jeweils 100%); n=25

Aus elf Na-EDTA-**Plasmen** wurde nach Recalcifizierung mit festen Ca²⁺-Salzen und anschließendem Entfernen des Fibrinpfropfes jeweils der KOD₂₀ des **Serums** bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.1.5 dargestellt. Der KOD₂₀-Mittelwert des Plasmas lag mit 22,0 mmHg um 1,3 mmHg (bzw. 5,9 %) höher als der des Serums mit 20,7 mmHg. Um das Ausmaß der Abweichungen der einzelnen Serumwerte von den jeweils zugehörigen Plasmawerten am besten einzuschätzen, erstellten wir wiederum die Häufigkeitsverteilung (Abb. 4.1.6). Die Streuungen sind deutlich kleiner als beim Vollblut. Die Abweichungen vom Plasmawert betragen maximal -2,9 mmHg bzw. +0,5 mmHg.

Nachdem wir bereits in Abschnitt 2.2. das Blutplasma als bestes Substrat für die KOD-Messungen festgelegt hatten, sei diesbezüglich nochmals kurz argumentiert: Plasma und Serum unterscheiden sich zumindest durch das Fibrinogen. Da Fibrinogen als Protein zum KOD beiträgt, ist Plasma dem Serum zur KOD-Messung vorzuziehen. Grünert [1985] führt zudem an, daß Plas-

	Plasma	Serum	Abweichung vom Plasmawert	
	[mmHg]	[mmHg]	[mmHg]	[%]
Probe 1	24,1	22,2	-1,9	-7,9
Probe 2	24,2	21,3	-2,9	-12,0
Probe 3	21,3	20,3	-1,0	-4,7
Probe 4	19,9	18,9	-1,0	-5,0
Probe 5	18,8	17,0	-1,8	-9,6
Probe 6	23,7	22,3	-1,4	-5,9
Probe 7	25,5	22,7	-2,8	-11,0
Probe 8	22,6	20,9	-1,7	-7,5
Probe 9	16,9	16,1	-0,8	-4,7
Probe 10	23,1	21,7	-1,4	-6,1
Probe 11	18,3	18,1	-0,2	-1,1
Probe 12	21,0	21,5	0,5	2,4
Probe 13	26,5	25,7	-0,8	-3,0
Mittelwert	22,0	20,7	-1,3	-5,9
\pm SD	2,8	2,5	0,9	3,8

Abb. 4.1.5: Abweichung der KOD₂₀-Serumwerte von den jeweiligen KOD₂₀-Plasmawerten (n=11).

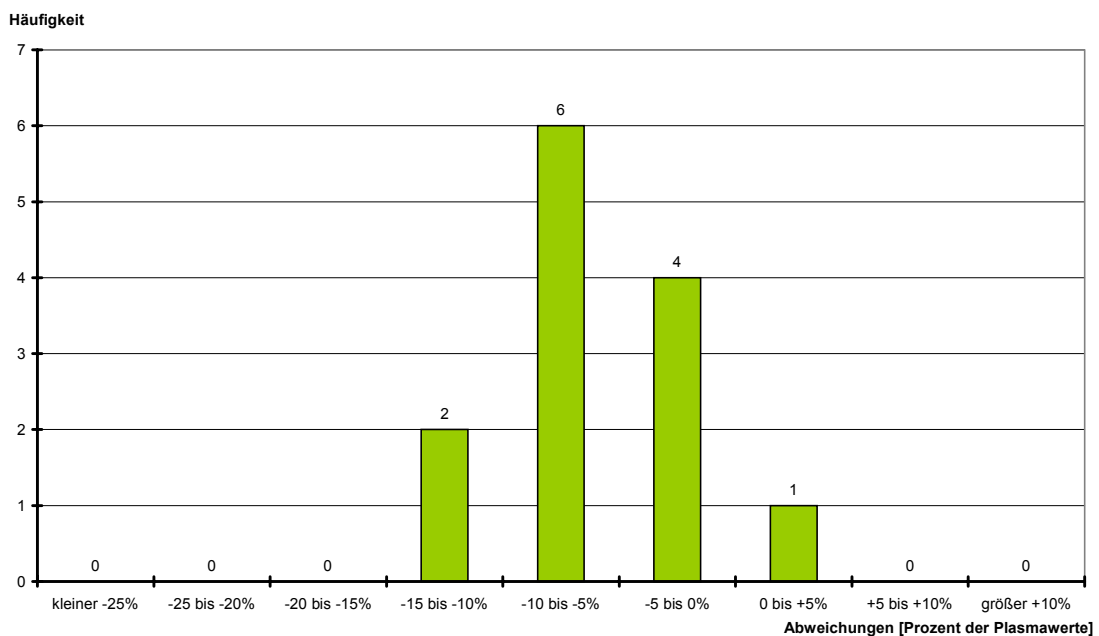


Abb. 4.1.6: Häufigkeitsverteilung der prozentualen Abweichung der KOD₂₀-Serumwerte von den zugehörigen KOD₂₀-Plasmawerten; (diese jeweils 100%) n=11.

ma ein standardisiertes und homogeneres Material als Serum sei. Als Gründe gibt er uneinheitliche Gerinnungsvorgänge und die unterschiedlichen Ver-

fahren zur Serumgewinnung als qualitätsmindernd an. Ladegaard-Pedersen [1967] untersuchte Seren und Plasmen und bestimmte den plasmatischen KOD um durchschnittlich 0,35 mmHg höher als den seralen. Bei Vollblut-Messungen hatten manche Untersucher Probleme. Hansen hatte 1961 wahrscheinlich aufgrund der Membranen stark schwankende Ergebnisse. Grünert scheint 1985 hingegen eine Methode zur reproduzierbaren KOD-Messung aus Vollblut gefunden zu haben.

Wie der experimentell ermittelte KOD zustande kommt

Wie Abbildung 4.1.7 zeigt, nimmt der experimentell bestimmte KOD mit der Protein-Konzentration überproportional zu. Für chemisch andersartige Kolloide ist ähnliches anzunehmen.

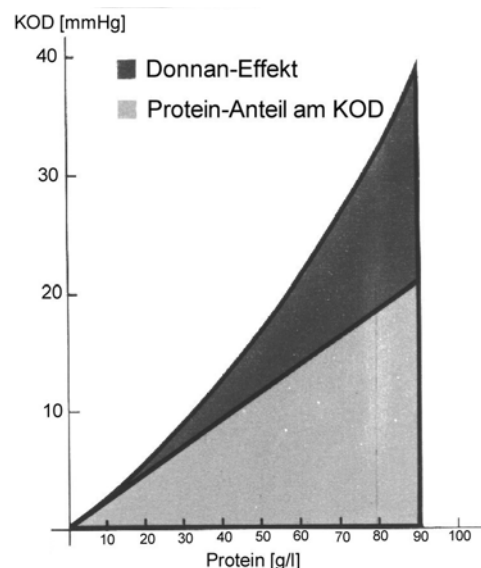


Abb. 4.1.7: Komponenten des experimentell bestimmbaren Gesamt-KOD. (gemäß Onkometer-Prospekt der Firma Wescor Inc. [1991])

Dies bedeutet, daß aus der KOD-Messung einer Lösung keineswegs mit einfacher Mischungsregel der zu erwartende KOD-Wert einer Verdünnungs- oder Konzentrationsreihe berechnet werden kann. Schon bei 10 bis 20 g Protein pro Liter – also weit unterhalb der physiologischen Menge – sind die Abweichungen von der van't Hoff'schen Regel (vgl. Kap. 1), also der streng linearen Beziehung zwischen KOD und Partikelanzahl, merklich und bei 100

g/l betragen sie etwa 100%! Bei einem Proteingehalt des Blutplasmas von ca. 70 g/l errechnet sich „ideal“ ein KOD um die 15 mmHg, während experimentell 25 mmHg und mehr gefunden werden. Dieser sogenannte Gibbs-Donnan-Effekt ist bereits von Hansen [1961], von Intaglietta et al. [1971], von Aukland et al. [1974] und von Retzke et al. [1991] beobachtet und diskutiert worden. Mehrere Phänomene, auch als „kolligative“ Eigenschaften bezeichnet, sind dafür verantwortlich :

- a) Beim physiologischen pH von 7,4 sind die impermeablen Eiweißmoleküle negativ geladen. Zum Erhalt der Elektroneutralität finden sich zusätzlich permeable, niedermolekulare Kationen in der Kolloidlösung, was bereits einen osmotischen Überdruck zugunsten der Kolloidlösung bedeutet.
- b) Die Wasserbindung der polaren Makromoleküle, d.h. ihr Sog auf das freie Wasser der Referenzkammer, ist enorm [Moore und Hummel 1986] und übersteigt den Hydratationsbedarf der niedermolekularen Elektrolyte.

Das sogenannte effektive hydrodynamische Volumen der meisten Eiweiße beträgt etwa 5 – 10 ml H₂O pro g Eiweiß, bei Myosin etwa 50 ml/g und steigt bei dem Nicht-Eiweiß Hyaluronsäure auf 100 – 400 ml/g. Der Wassermenge wässriger Lösungen von etwa 55 mol/l stehen bei einem Proteingehalt von 70 g/l etwa 1 mmol bis 0,8 mmol Eiweiß gegenüber (je nachdem ob das Molekulargewicht des Albumins oder das gewichtete mittlere Molekulargewicht aller Plasmaeiweiße angesetzt wird).

Die isoelektrischen Punkte der wichtigsten Plasmaeiweiße – die Nettoladung ist hier also etwa null – liegen für Albumin bei pH 4,9 und für Globulin bei pH 5,45. Für genaue KOD-Messungen ist somit außer der Meßtemperatur auch der pH-Wert zu standardisieren : Der pH-Wert der kolloidalen Lösung ist zu kontrollieren; die Referenz- und Spüllösung sollte eine niedermolekulare Pufferlösung vom pH 7,4 sein. Nach Will et al. [1985] macht ein pH-Sprung von 6,0 auf 8,0 ein Plus im KOD von etwa 20%!

Weitere Stör und Einflußfaktoren auf den plasmatischen KOD

Die für die Plasmagewinnung unerläßlichen Antikoagulantien wie EDTA, Kaliumoxalat und Natriumcitrat sind, wie aus dem Vorstehenden zu vermuten,

auf den plasmatischen KOD offensichtlich nicht ohne Einfluß. Von Intaglietta et al. [1971] werden sie sogar als ungeeignet bezeichnet. Heparin in einer Dosierung 100 IU/ml soll indessen keinen messbaren Einfluß auf den KOD ausüben [Bisera et al. 1978, Retzke et al. 1991, Grünert 1985], was doch etwas erstaunt, da Heparin immerhin ein stark negativ geladenes höhermolekulares Polysaccharid ist (MW ca. 6.000 – 30.000). Empfohlen werden zur Blutentnahme trocken bestäubte Lithiumheparinat-Monovetten.

Jedenfalls dürfte es wichtig sein, auch die Antikoagulation genau zu standardisieren! Aus den in Kap. 3.2. genannten Gründen haben wir mit EDTA gearbeitet. Entnommenes Blut sollte binnen 2 Stunden zentrifugiert werden, da der plasmatische KOD andernfalls durch Wasseraufnahme der Erythrozyten und eventuell folgende Hämolyse zunehmen kann – selbst bei Kühl-schranktemperaturen. Eine Hämolyse führt eine KOD-Messung rasch ad absurdum. Bei starker Hämolyse, unter entsprechender Zunahme des „plasmatischen“ Gesamteiweißgehaltes (TP), findet man derart etwa einen KOD_{20} von 58 oder 109 mmHg bei einem TP von 11,2 bzw. 16,8 g/100ml!

Bereits 1967 wurden von Ladegaard-Pedersen die Bedingungen genannt, die zur Gewinnung und Aufbereitung der Proben erfüllt sein sollten : Blutentnahme aus einer Arterie oder einer ungestauten Vene. Die Stauung peripherer Venen erhöht den KOD, da dem venösen Druckerhöhung ein Anstieg des Kapillardruckes folgt, also eine erhöhte Filtration von Plasmawasser ins Interstitium. Bei der Blutentnahme hat die Körperposition erstaunlicherweise großen Einfluß. Bei liegenden Probanden ergibt sich der plasmatische KOD um etwa 15% niedriger als bei stehenden.

Nach Mohsenin et al. [1984] genügen 3 Minuten Fahrrad-Ergometrie, um den plasmatischen KOD von $25,1 \pm 0,6$ auf $30,6 \pm 1,4$ mmHg hochzutreiben.

Nach Morissette [1977] bewirkt jeder Blutdruckanstieg um 10 mmHg eine plasmatische KOD-Zunahme um 0,75 mmHg. Während er bei ambulanten Patienten einen KOD von $25,4 \pm 2,3$ mmHg mißt, findet er bei Bettlägigen $21,6 \pm 3,6$ mmHg.

4.2. Circadiane Rhythmik des plasmatischen KOD

Rhythmische Änderungen biologischer Meßgrößen sind außerordentlich häufig und geradezu ein „Markenzeichen“ des Lebens [Touitou und Haus 1994]. Die Periode solcher Rhythmen kann beispielsweise Sekunden betragen, wie bei der Myokardkontraktion, oder 24 Stunden wie beim circadianen Schlaf-Wach-Zyklus, oder ca. 28 Tage wie beim Menstruationszyklus der Frau, etc. Bei Säugern scheint der Nucleus suprachiasmaticus der circadiane Zeitgeber zu sein, der verschiedene neuroendokrine Rhythmen wie die ACTH-, TSH- und Prolaktin-Freisetzung steuert [Rietveld 1994]. Daß Merkmale biologischer Rhythmen vererbt werden, konnten Konopka und Benzer 1971 für eine Region auf dem X-Chromosom von *Drosophila melanogaster* nachweisen, welche die Periodendauer circadianer Rhythmik kontrolliert. Die Beziehung zwischen endogenen genetisch kontrollierten biologischen Rhythmen und Umweltfaktoren wird seit Beginn der fünfziger Jahre erforscht. Dabei wurde manifestiert, daß Umweltfaktoren, vor allem der Wechsel von Licht und Dunkelheit, für die Synchronisation tageszeitlicher Rhythmen verantwortlich sind. Aschoff [1965] bezeichnete diese Umweltfaktoren direkt als Zeitgeber. Beim Menschen spielen diesbezüglich auch soziale Faktoren - etwa die Arbeitszeit - eine bedeutende Rolle.

Nach diversen Hinweisen sowie insbesondere nach der vorzüglichen Arbeit von Graf und Retzke [1993] hatten wir auch bei den plasmatischen KOD-Messungen mit einer circadianen Rhythmik zu rechnen, weshalb wir diesbezüglich eine Meßreihe durchgeführt haben.

Um einen biologischen Rhythmus zu beschreiben, bedarf es einiger genau zu definierender Parameter [Touitou und Haus 1994] : Der **MESOR** (Midline Estimating Statistic of Rhythm) ist ein dem Rhythmus angepaßter Mittelwert. Er repräsentiert den durchschnittlichen Wert einer Funktion bei unregelmäßigen Meßintervallen besser als der arithmetische Mittelwert. Die **AMPLITUDE** beschreibt bei einem sinusförmigen Kurvenverlauf die Differenz zwischen Maximum und Minimum. Die **ACROPHASE** ist der Zeitpunkt, zu dem die Funktion ihr Maximum erreicht.

Die exakte Auswertung unserer Daten erfolgte in mehreren Schritten:

1. Die KOD-Meßwerte wurden als Funktion der Zeit, als **CHRONOGRAMM**, aufgezeichnet. Schon hier war eine charakteristische Kurvenform mit nächtlichen Minima und nachmittäglichen Maxima zu erkennen.
2. Da sich unsere Daten teilweise über mehrere Zyklen erstreckten (siehe Abb. 4.2.1), konnten wir diese in einem Zeitfenster (**PLEXOGRAMM**) zusammenfassen. Hier zeigte sich ein deutlich sinusförmiger Verlauf mit Minima zwischen 3⁰⁰ und 6⁰⁰ und Maxima zwischen 12⁰⁰ und 18⁰⁰.
3. Nach Rücksprache mit Frau Dr. Haubitz vom Rechenzentrum der Universität Würzburg entschieden wir uns zur Auswertung unserer Daten für den **COSINOR**-Test. Dieser Test setzt einen annähernd sinusförmigen Kurvenverlauf voraus, der mit dem Chronogramm bzw. Plexogramm beurteilt werden konnte [Touitou und Haus 1994].

Ergebnisse unserer KOD₂₀-Messungen im Tagesverlauf

	9:00	12:00	15:00	18:00	21:00	0:00	3:00	6:00	9:00	12:00	15:00	18:00	21:00	0:00	3:00	6:00	9:00	12:00	15:00	18:00	21:00	
M.C.			24,8	26	25,1	25,8	23	21,9	23,1	25,5	24,5											
D.H.				28,4	26,3	25,8	24,7	24,7	26,9	27,2	26,5	27,5										
M.W.					23,8	19,9	19,9	19,4	19,5	20,5	21	25,9	24									
B.H.				25,9	25	26,1	24,1	22,9	24,6	27	26,9	25,4										
D.S.			25,7	26,9	25,1	25	23	23,5	23,7	27	27,9											
K.B.		28,8	29,8	30,3	28,4	24	24,3	27,9	26,5	27,3												
M.S.	26,8	24,6	23	24,8	25,7	25,2	22,3	22,1	25,9													
W.S.			27,5	25,8	24,7	24,2	24	23,2	26,7	27,2	27,8											
R.H.					28,3	27,1	26	26	25,9	26,4	27,5	26,9	28,1	26,8	25	24,8	23,9	27,8	27,3	25,7	26,7	
W.J.1	26,4	26,8	26,6	25,4	25,1	25,4	24,2	24,5	24,9	25,3												
W.J.2		25,6	25,2	25,2	24,2	23,9	22,8	23,2	24,2	25,7	25,8	25,6										
J.S.1				29,3	27	25,3	25,2	24,8	27,6	29,1	26,6	27,7	26,3									
J.S.2				28,1	25,7	24,6	24	23,5	23,7	25,2	27,1	27,8	26,4	26,3	24,5	23,8	24,5	24,2	27,8			
MW	26,6	26,5	26,1	26,9	25,7	24,8	23,7	23,7	24,9	26,1	26,2	26,7	26,2	26,6	24,8	24,3	24,2	26,0	27,6	25,7	26,7	
SD	0,3	1,8	2,2	1,8	1,4	1,7	1,5	2,1	2,1	2,1	2,1	1,0	1,7	0,4	0,4	0,7	0,4	2,5	0,4			
Max	26,8	28,8	29,8	30,3	28,4	27,1	26,0	27,9	27,6	29,1	27,9	27,8	28,1	26,8	25,0	24,8	24,5	27,8	27,8	25,7	26,7	
Min	26,4	24,6	23,0	24,8	23,8	19,9	19,9	19,4	19,5	20,5	21,0	25,4	24,0	26,3	24,5	23,8	23,9	24,2	27,3	25,7	26,7	
n	2	4	7	11	13	13	13	13	13	12	10	7	4	2	2	2	2	2	2	1	1	
SE	0,20	0,90	0,82	0,55	0,40	0,48	0,42	0,57	0,59	0,60	0,66	0,39	0,84	0,25	0,25	0,50	0,30	1,80	0,25			

Abb. 4.2.1: Die zur jeweiligen Uhrzeit gemessenen KOD₂₀-Werte der einzelnen Probanden (n = 11/13).

Zu jeder Uhrzeit sind in der Vertikalen Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD), Standardfehler (SE), Maximum (Max), Minimum (Min) und Anzahl der beitragenden Einzelwerte (n) ablesbar. Zur Bewertung in der Horizontalen siehe Abb. 4.2.2.

Das Ausmaß der Tagesschwankung der KOD_{20} -Werte berechnet sich aus der Differenz von Maximal- und Minimalwert. Eine Übersicht der Werte zu jedem Probanden liefern die Abbildungen 4.2.1 und 4.2.2.

Die durchschnittliche Schwankungsbreite des KOD_{20} betrug $4,5 \pm 1,1$ mmHg (d.h. 17,7 % des mittleren $KOD_{20} = 25,15$ mmHg). Die individuellen Tagesschwankungen des KOD_{20} lagen bei den 11 Probanden im Bereich von 2,6 – 6,5 mmHg (10,2 % - 30,2 % des jeweiligen individuellen Mittelwertes), wie dies Abbildung 4.2.3 zeigt. Bei keinem Probanden blieb der KOD_{20} über 24 Stunden konstant (Friedmann-Test $p < 0,0001$).

Proband (Kürzel)	n	Uhrzeit		mittlerer KOD_{20}		Spanne der KOD_{20} -Werte					
		Anzahl der Entnahmen	von	bis	MW	SD	Extrema		Tagesschwankung		
							Min	Max	Delta		
				[mm Hg]	[mm Hg]	[mm Hg]	Uhrzeit	[mm Hg]	Uhrzeit	[mm Hg]	[%]
M.C.	9	15.00	15.00	24,41	1,43	21,9	6.00	26,0	18.00	4,1	16,8
D.H.	9	18.00	18.00	26,44	1,24	24,7	3.00	28,4	18.00	3,7	14,0
M.W.	9	21.00	21.00	21,54	2,39	19,4	6.00	25,9	18.00	6,5	30,2
B.H.	9	18.00	18.00	25,32	1,33	22,9	6.00	27,0	12.00	4,1	16,2
D.S.	9	15.00	15.00	25,31	1,72	23,0	3.00	27,9	15.00	4,9	19,4
K.B.	9	12.00	12.00	27,48	2,22	24,0	0.00	30,3	18.00	6,3	22,9
M.S.	9	09.00	9.00	24,49	1,66	22,1	6.00	26,8	9.00	4,7	19,2
W.S.	9	15.00	15.00	25,68	1,71	23,2	6.00	27,8	15.00	4,6	17,9
R.H.	17	21.00	21.00	26,48	1,20	23,9	9.00	28,3	21.00	4,4	16,6
W.J.1	10	9.00	12.00	25,46	0,88	24,2	3.00	26,8	12.00	2,6	10,2
W.J.2	11	12.00	18.00	24,67	1,06	22,8	3.00	25,8	15.00	3,0	12,2
J.S.1	10	18.00	21.00	26,89	1,57	24,8	6.00	29,3	18.00	4,5	16,7
J.S.2	16	18.00	15.00	25,45	1,60	23,5	6.00	28,1	18.00	4,6	18,1
MW				25,36	1,54	23,1	5.25	27,6	16.32	4,5	17,7

Abb. 4.2.2: Schwankungsbreiten der KOD_{20} -Werte der einzelnen Probanden ($n = 11/13$) im Tagesverlauf.

Die Mittelwerte (MW) der Einzelwerte gemäß Abb. 4.2.1, deren Standardabweichungen (SD), Maxima (Max), Minima (Min) und die Anzahl der beitragenden Einzelwerte (n) sind aus der Tabelle ersichtlich und entsprechen der Bewertung von Abb. 4.2.1 in der Horizontalen.

Der tageszeitliche Gesamtverlauf (siehe Abbn. 4.2.1 und 4.2.5) ergab sich aus den KOD_{20} -Mittelwerten zu den jeweiligen Abnahmezeiten. Der Verlauf über 24 Stunden wies eine deutlich sinusförmige Tagesrhythmik auf. Im Verlauf des Abends und der Nacht fiel der KOD_{20} kontinuierlich ab und erreichte zwi-

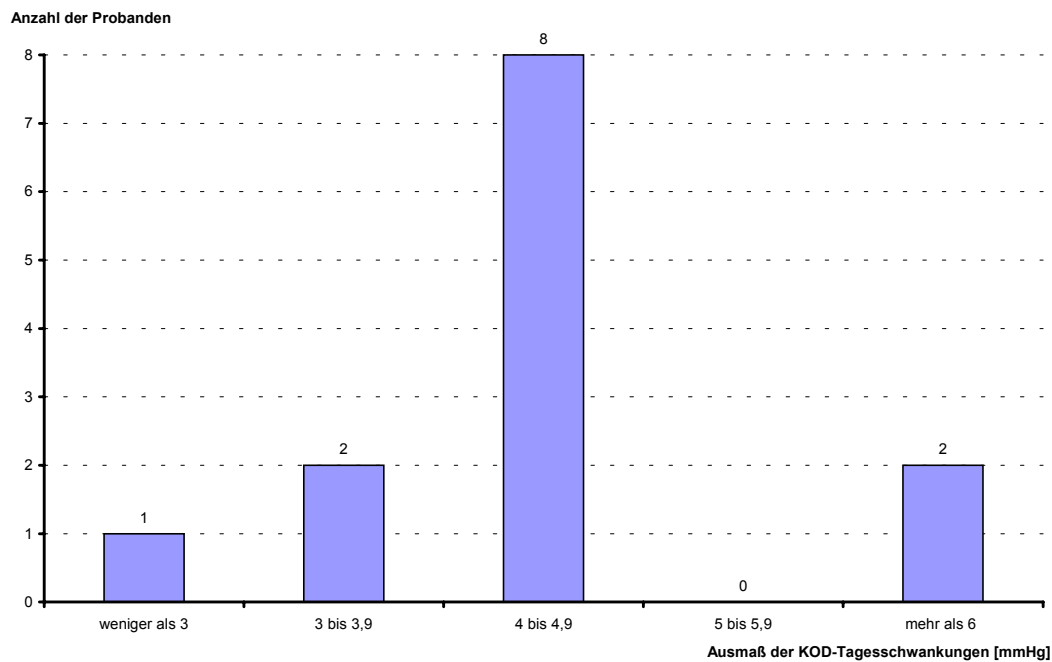


Abb. 4.2.3: Häufigkeitsverteilung der Schwankungsbreite der KOD_{20} -Werte der einzelnen Probanden im Tagesverlauf ($n = 11/13$).
(vgl. Abb. 4.2.2)

schen 3^{00} und 6^{00} ein Minimum. Danach stieg der KOD_{20} kontinuierlich bis etwa 12^{00} an und erreichte zwischen 12^{00} und 18^{00} Uhr ein Maximum.

Die individuellen Minimalwerte wurden einmal um 0^{00} , viermal um 3^{00} , siebenmal um 6^{00} und einmal um 9^{00} gemessen. Die einzelnen Maximalwerte wurden einmal um 9^{00} gemessen, zweimal um 12^{00} , dreimal um 15^{00} , sechsmal um 18^{00} und einmal um 21^{00} .

Abbildung 4.2.4 zeigt die KOD_{20} -Werte, die in eine 24-Stunden-Wertetabelle übertragen sind. Dabei wurde aus Mehrfachwerten eines Probanden zum jeweiligen Abnahmezeitpunkt ein Mittelwert gebildet.

Der Cosinor-Test bestätigte die circadiane Rhythmik der Meßreihe ($p < 0,05$). Die Acrophase ist bei 16^{23} , mit einem 95 % - Konfidenzintervall von 3,7 Stunden. Der Mesor-Wert beträgt 25,15 mmHg, mit einem 95 % - Konfidenzintervall von 3,31 mmHg. Die Amplitude beträgt $2 \times 1,38 = 2,78$ mmHg mit einem 95 % - Konfidenzintervall von 1,36 mmHg. Die Cosinor Ausgleichsfunktion ist in den Abbildungen 4.2.6 und 4.2.7 gezeigt.

	18:00	21:00	0:00	03:00	06:00	09:00	12:00	15:00
M.C.	26,0	25,1	25,8	23,0	21,9	23,1	25,5	24,65
D.H.	27,95	26,3	25,8	24,7	24,7	26,9	27,2	26,5
M.W.	20,9	23,9	19,9	19,9	19,4	19,5	20,5	21,0
B.H.	25,65	25,0	26,1	24,1	22,9	24,6	27,0	26,9
D.S.	26,9	25,1	25,0	23	23,5	23,7	27,0	26,8
K.B.	30,3	28,4	24,0	24,3	27,9	26,5	28,05	29,8
M.S.	24,8	25,7	25,2	22,3	22,1	26,35	24,6	23,0
W.S.	25,8	24,7	24,2	24,0	23,2	26,7	27,2	27,65
R.H.	26,3	27,7	26,95	25,5	25,4	24,9	27,1	27,4
W.J.1	25,4	25,1	25,4	24,2	24,5	25,65	26,05	26,6
W.J.2	25,4	24,2	23,9	22,8	23,2	24,2	25,65	25,5
J.S.1	28,5	26,65	25,3	25,2	24,8	27,6	29,1	26,6
J.S.2	27,95	26,05	25,45	24,25	23,65	24,1	24,7	27,45
MW	26,3	25,7	24,8	23,6	23,6	24,9	26,1	26,1
±SD	2,2	1,3	1,7	1,5	2,0	2,1	2,1	2,2
±SE	0,6	0,4	0,5	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6

Abb. 4.2.4: KOD₂₀-Werte in der 24-Stunden-Raffung. Grau unterlegte Felder kennzeichnen Werte, bei denen aus mehreren vorliegenden Meßwerten eines Probanden (vgl. Abb. 4.2.1) zum jeweiligen Abnahmezeitpunkt ein Mittelwert gebildet werden konnte.

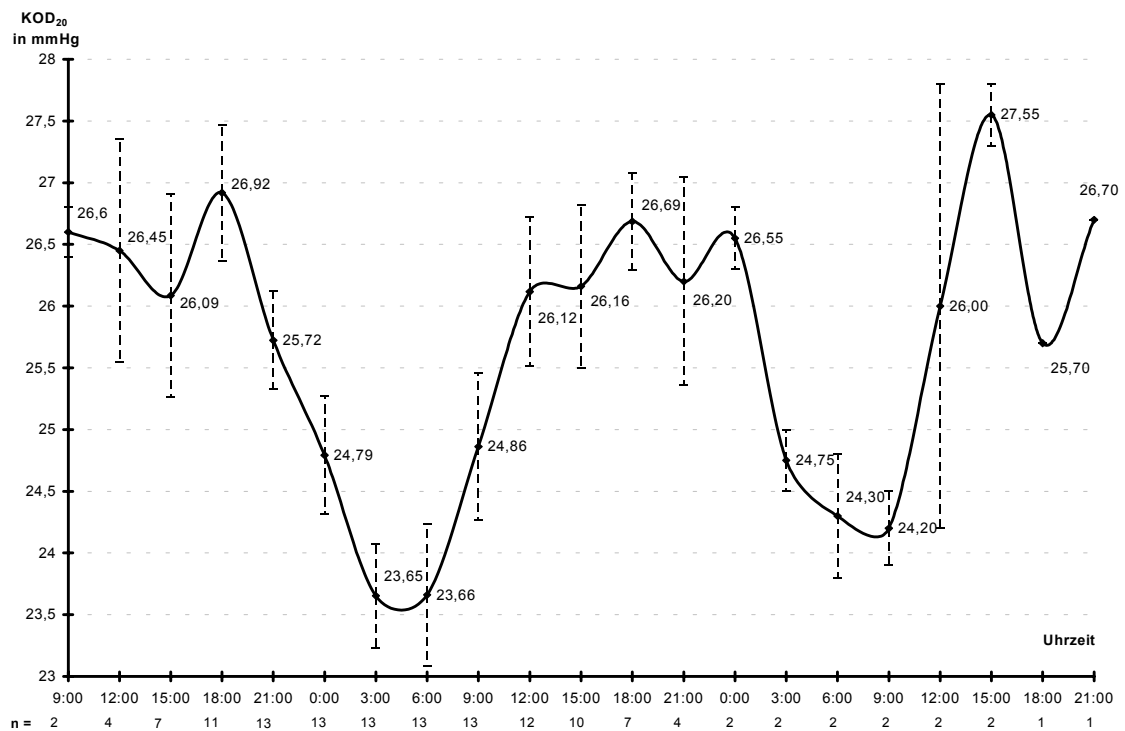


Abb. 4.2.5: Circadianer Verlauf des KOD₂₀-Werte gemäß Abb. 4.2.1; an 9 Probanden in einem Durchgang, an 2 Probanden in zwei unabhängigen Durchgängen gemessen, darunter dreimal länger als 24h. Mittelwerte mit Standardfehler (±SE) (n=13).

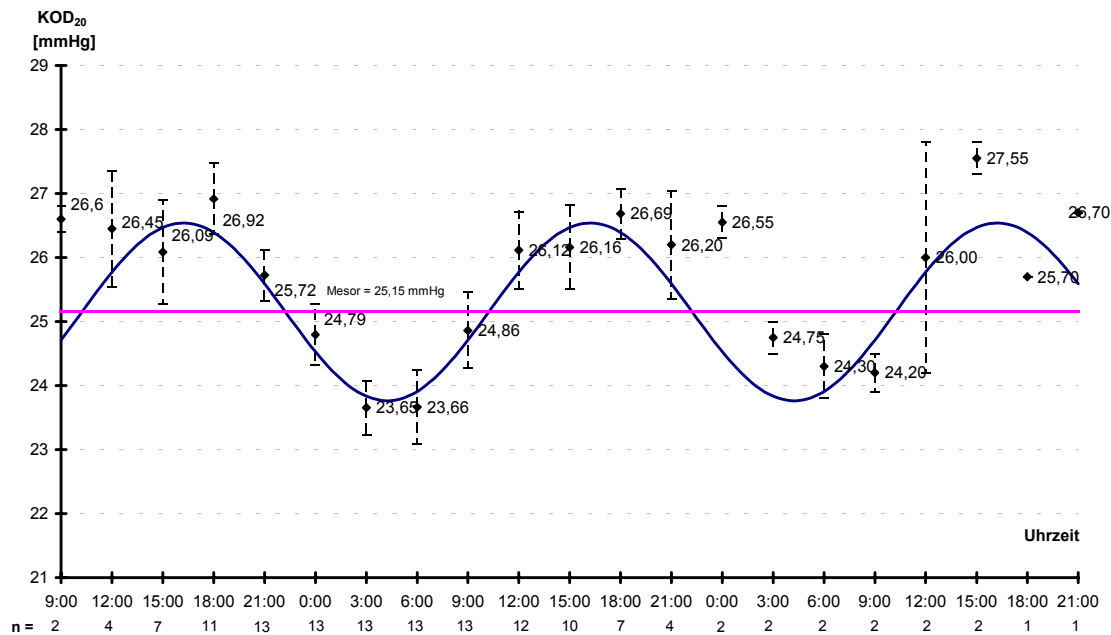


Abb. 4.2.6: Die KOD₂₀-Werte über die maximale Untersuchungszeit von 60 Stunden, erfaßt mit der Cosinor-Ausgleichsfunktion. Die Punkte mit Beschriftung und Balken entsprechen Mittelwert und Standardfehler (\pm SE). Unter der Zeitachse ist die Anzahl (n) der zum jeweiligen Zeitpunkt vorhandenen Messwerte notiert. Der Mesor entspricht dem rhythmus-angepaßten Mittelwert. Datengrundlage liefern die Abbn. 4.2.1 und 4.2.4.

Unser kleines Probandenkollektiv von 11 Personen, welches natürlich nicht repräsentativ für die Gesamtbevölkerung sein kann, wurde bereits in Abschnitt 3.1. vorgestellt. Außenbedingungen wie Wochentag, Jahreszeit, Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme, Schlaf-Wach-Gewohnheit, weiblicher Cyclus, körperliche Aktivität, Streß, Genußmittel wie Tabak und Alkohol, etc. mußten unberücksichtigt bleiben. Noch weniger Einfluß hatten wir auf die routinemäßigen Blutprobenentnahmen unserer sehr unterschiedlichen HNO-Patientengruppen, wobei die KOD-Messung nur als „Nebenprodukt“ anfallen konnte.

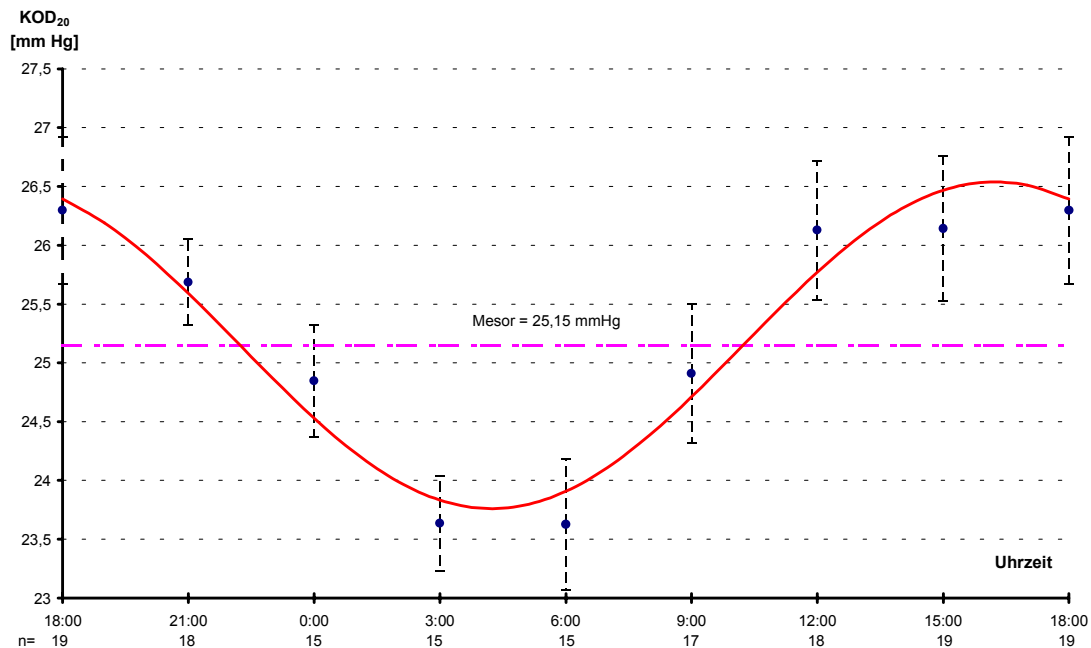


Abb. 4.2.7: Circadianer KOD_{20} -Verlauf über 24 Stunden, erfaßt mit der Cosinor-Ausgleichsfunktion. Die Punkte mit Balken entsprechen Mittelwert und Standardfehler (\pm SE). Unter der Zeitachse ist die Anzahl (n) der zum jeweiligen Zeitpunkt vorhandenen Meßwerte notiert. Der Mesor entspricht dem rhythmus-angepaßten Mittelwert. Datengrundlage sind die auf 24 h gerafften Werte der Abb. 4.2.4.

Weiteres zur Circadianität des kolloidosmotischen Druckes

Die einzige uns bekannte systematische externe Untersuchung zur circadianen Rhythmik des KOD stammt von Graf und Retzke [1993]. Trotz experimenteller Unterschiede wie der Verwendung einer 30 kD-Membran in einem Knauer-Onkometer, uns nicht sicher bekannter Probenart (wahrscheinlich heparinisiertes Blutplasma; eventuell aber auch Vollblut oder Blutserum), 29 stationär aufgenommenen normotensiver nichtschwangerer Frauen unbekanntes Alters, dokumentierter Flüssigkeitsaufnahme und einer Blutentnahme im 4 Stundentakt, weisen unsere Ergebnisse vorzügliche Übereinstimmung mit den Befunden von Graf und Retzke auf. Sie beschreiben eine deutlich sinusförmige Tagesrhythmik des KOD mit individuellen tageszeitlichen Schwankungen von 4,3% bis 28,1%, durchschnittlich von 13,5% ($4,1 \pm 1,3$ mmHg) des Mittelwertes, einem Minimum um etwa 3^{00} und einem Maximum

um 16⁰⁰. Um dem KOD-Mittelwert (25,3 mmHg) nahezukommen, empfehlen die Autoren die Blutentnahme standardisiert morgens etwa um 8⁰⁰, wahrscheinlich infolge des getakteten Tagesablaufes ihrer Patientinnen. Für unsere Probanden wären bei Blutentnahmen um 10⁰⁰ bzw. 22⁰⁰ mesor-nahe KOD-Werte zu erwarten gewesen (siehe Abb. 4.2.7). Diese sind vor allem bei Verlaufskontrollen des KOD₂₀ zu fordern. Eine Angabe der Uhrzeit sollte bei Blutentnahmen stets, zwingend aber bei Abnahmen außerhalb der üblichen Abnahmezeiten, gemacht werden, um Abweichungen abschätzen zu können. Wie sich sowohl bei den genannten Patienten als auch bei unseren Probanden zeigte, sind - aus Zufall, oder infolge von Störungen durch die Blutabnahme selbst - der 0 h- und der 24 h-Mittelwert nicht identisch, so daß zu einer ganz zuverlässigen Erfassung der Circadianität über 2x oder sogar 3x 24 h gemessen werden sollte.

Graf und Retzke diskutieren zwei Hauptursachen der tageszeitlichen KOD-Schwankungen. 1. Die intravasale Wassermenge: Steigt der hydrostatische Druck im Gefäßbett, was einer Steigerung des Blutdruckes entspricht, so wird primär mehr Flüssigkeit aus dem Gefäßlumen in das Interstitium „abgepreßt“ [Starling 1895/96]. Die von der semipermeablen Gefäßwand zurückgehaltenen Blutbestandteile werden konzentriert, und der KOD steigt. Da simultan zu den Blutabnahmen Blutdruckmessungen erfolgten, konnte diese Theorie durch den weitgehend parallelen Verlauf der KOD- und der Blutdruck-Relativwerte im Tagesverlauf bestätigt werden. Die circadiane Rhythmik des arteriellen Blutdruckes ist eingehend untersucht [Lemmer 1994, Cornelissen et al. 1994].

2. Die intravasale Eiweißmenge : Die Autoren vermuten eine circadiane Änderung der Kapillarpermeabilität als Ursache der circadianen Rhythmik des KOD. Laut Graf und Retzke führt eine Erhöhung der Kapillarpermeabilität zu vermehrtem Eiweißübertritt aus dem Plasma in das Interstitium. Daraus resultiere ein Abfall des plasmatischen KOD mit verstärktem Übertritt von Flüssigkeit vom Intra- in den Extravasalraum. Da die Anzahl der Blutzellen intravasal - im Gegensatz zum sinkenden Plasmavolumen - gleich bliebe, steige der Hämatokrit an. Diese Theorie würde nach den Autoren durch eine

um vier Stunden vorseilende circadiane Rhythmik des Hämatokrit bestätigt. Von Graf und Retzke wird zudem eine intravasal gleichbleibende Anzahl an Blutzellen über den 24-Stundenverlauf angenommen. Diese Annahme ist nicht belegt. Es sind vielmehr tageszeitliche Schwankungen unterschiedlichen Ausmaßes der verschiedenen Blutzellen beschrieben [Touitou et al. 1994], so daß diese schwerlich als inerter Indikator für eine Plasma-Volumen-Verschiebung dienen können.

Für eine circadiane Änderung der Kapillarpermeabilität wiederum gibt es keine Hinweise in der Literatur. Änderungen der Kapillarpermeabilität bei Entzündung, Hypertonie und Diabetes mellitus hingegen sind unbestritten [Touitou et al. 1994].

Da indessen eine Korrelation zwischen Gesamteiweiß und KOD-Werten des Blutplasmas besteht [u.a. Hampe 2000], erscheint eine Diskussion des circadianen Verhaltens beider Parameter angebracht. In der Übersichtsarbeit von Y. Touitou und E. Haus [1994, S. 673] sind Ergebnisse zur circadianen Rhythmik von Gesamteiweiß und Albumin zusammengetragen. Die Acrophasen für das Gesamteiweiß finden sich zwischen 9⁰⁰ und 15⁰⁰ mit einer Schwankungsbreite von 5 – 8 % des niedrigsten Wertes. Für Albumin finden sich die Akrophasen zwischen 12⁰⁰ und 16⁰⁰ mit einer Schwankungsbreite von 3 – 7 % des niedrigsten Wertes. Die Maxima der Eiweißwerte fanden sich bei jenen Untersuchungen jeweils etwas früher im Tagesverlauf als die Maxima unserer KOD-Werte. (Vielleicht ist der Grund hierfür die frühere Aufstehenszeit um 6³⁰ – 7⁰⁰ und die frühere Schlafenszeit ab 21⁰⁰ – 23⁰⁰ bei den Untersuchungen nach Touitou und Haus.)

Das Thema plasmatischer KOD und Plasmaeiweiße ist im folgenden Kapitel näher besprochen.

4.3 Plasmaeiweiße und speziell Albumin

Zu Eiweißgehalten der Blutplasmen und –seren von Innenohrpatienten stehen uns nur lückenhaft Daten zur Verfügung, die – so wie sich das Arbeitskonzept entwickelt hatte – nur retrograd ermittelt werden konnten. Der Be-

zug auf die systematisch gemessenen KOD-Werte muß daher unvollständig bleiben.

Bei 19 Innenohrpatienten sind indessen die routinemäßigen Elektrophorese-Daten der Seren gemäß Abb. 4.3.1 vorhanden, die über den Inhalt der Tabelle hinaus kurz diskutiert werden sollen : Nach Beobachtung der Kliniker (Dr. B., HNO) sind die Albumin-Werte von Innenohrpatienten in der Regel erhöht, was sich gemäß Spalte 5 der Abb. 4.3.1 bestätigt. Zugleich finden sich hier eher verringerte Globulinwerte; allein das γ -Globulin stellt den Medianwert ein. Aus beiden Gründen – erhöhtes Albumin plus reduzierte Globuline – ist der Albumin/Globulin-Gewichtsquotient eher hoch. Das Gesamteiweiß (des Serums!) hält indessen recht genau den Medianwert.

Meßgröße	Mittelwert (n=19) \pm SD		Normbereich und zugehöriger <u>Median</u>	Wertung der Meßdaten	1
Gewichtsquotient Albumin/Globuline	2,02 \pm 0,23		1,30 – <u>1,75</u> – 2,20	Gegen Normobergrenze	2
Dimension	g/l	%	g/l bzw. %	/	3
Gesamteiweiß (TP)	73,08 \pm 5,33	100,00	66,0 – <u>74,5</u> – 83,0g/l	Medianbereich	4
Albumin	48,76 \pm 3,41	66,77 \pm 2,41	55,0 – <u>61,5</u> – 68%	Normobergrenze	5
α 1-Globulin	1,94 \pm 0,35	2,63 \pm 0,46	1,0 – <u>3,0</u> – 5,0%	Knapp Medianwert	6
α 2-Globulin	5,02 \pm 1,21	6,88 \pm 1,66	6,0 – <u>8,5</u> – 11,0%	Unter Medianwert	7
β -Globulin	6,89 \pm 1,31	9,47 \pm 1,48	8,0 – <u>11,0</u> – 14,0%	Unter Medianwert	8
γ -Globulin	10,49 \pm 1,86	14,29 \pm 1,69	9,0 – <u>14,0</u> – 19,0%	Medianwert	9
Endsummen (Zeilen 5-9)	73,10	100,04	/ - <u>98,0%</u> - /	Diese Kontrollwerte stimmen gut	10

Abb. 4.3.1: Mittelwerte der Elektrophorese-Daten der Blutseren (Olympus-Hite-System) von 19 Innenohrpatienten*) der Universitäts-HNO-Klinik Würzburg (5.12.1996 – 9.4.1997).

*) 10x Tinntus/ 5x Hörsturz/ 1x Neuropathia vestibularis/ 1x Grippe-Otitis/ 2x „Infusion“

Die nur wenigen zufälligen Werte der Abb. 4.3.1, zusammen mit den breiten Spannen der Normalbereiche, gestatten indessen allein den Hinweis auf einen Trend. Für 11 der 19 Innenohrpatienten waren die simultanen KOD₂₀-

Werte vorhanden, welche immerhin den beachtlichen Mittelwert von $30,0 \pm 3,2$ mmHg ergaben. Eine systematische Überprüfung hätte zu folgen; und die prinzipiell gleichfalls mögliche routinemäßige Elektrophorese aus dem Blutplasma zur Erfassung sämtlicher Eiweißanteile wäre der aus dem Blutserum vorzuziehen.

Da auch im Jahr 2000 von 7 Firmen noch 16 unterschiedliche Humanalbumin-Infusionslösungen mit garantiert 95-96%iger Reinheit auf dem Markt angeboten werden (siehe Kap 3.3.), erschien es uns umso interessanter, das meßtechnische Verhalten reiner Albumin-Lösungen an unserem Onkometer BMT 921 zu prüfen – abgesehen von dem physiologischen Umstand, daß Albumin nahezu $2/3$ des Gewichts des Plasma-Gesamteiweißes ausmacht. Abb. 4.3.2 zeigt in diesem Sinn die Ergebnisse, insbesondere die KOD_{20} -Mittelwerte, die in Langzeitkontrollen mit standardisierten Albumin-Testlösungen gewonnen wurden, bezüglich Genauigkeit, Reproduzierbarkeit, Drift, etc., wobei zahlreiche Störpotentiale wie Chargenwechsel der Albumin-Testlösung, Membranalterung und -wechsel, tägliche Geräte-Eichung, unterschiedliche Meßkammern, etc. eingehen.

Wie Abb. 4.3.2 zeigt, hatten wir mit insgesamt 131 Messungen in 10 Gruppen über 2,5 Jahre hin die KOD_{20} -Werte von Humanalbumin-Testlösungen (50,0 – 50,4 g/l) gemessen. Zu betonen ist nochmals, daß diese Lösungen nur zur Funktionskontrolle, nicht aber zur Kalibrierung des Onkometers dienten. Der über alles gemittelte KOD_{20} -Endwert betrug $20,25 \pm 1,0$ mmHg. Die mittlere Einstellzeit bis zum Endwert betrug $10,0 \pm 2,4$ min. Bei der routinemäßigen Verwendung des Onkometers wird – zur Beschleunigung der Meßfolge – durch ein akustisches Signal (Pfiff) ein Quasi-Endwert angezeigt, sobald der Gradient der KOD-Zeit-Kurve per Programm eine endlich kleine Steilheit erreicht hat. Dieser Quasi-Endwert wird in dieser Arbeit natürlich nirgendwo verwendet, zeigt indessen, daß er bei den Albumin-Lösungen mit $19,2 \pm 1,0$ mmHg recht genau um $1,0 \pm 0,25$ mmHg unter dem wahren Endwert liegt.

Folge	Messung			Anzahl n	Mittelwerte \pm SD (mmHg)			Zeit (min) bis Endwert	Bemerkungen
	von	bis	Zeitraum		1. Pfiff	Endwert	delta		
M1	10.03.95	13.03.95	3d	12	17,7 \pm 0,9	18,9 \pm 0,6	+1,2	13,7 \pm 7,3	eine Albumin-Charge/ 2BMT-Geräte/ schnelle u. langsame Membran beider Kammern im Mittel um 1,1 mmHg differierend
M2	06.07.95	31.08.95	56d	10	18,7 \pm 0,3	19,2 \pm 0,5	+0,5	6,8 \pm 2,4	4 Albumin -Chargen an gleicher Membran ohne Differenz
M3	07.02.96	15.04.96	67d	13	18,45 \pm 0,45	19,75 \pm 0,25	+1,3	9,9 \pm 2,5	bei Membranwechsel keine Differenz
M4	22.04.96	09.07.96	70d	11	19,1 \pm 0,55	20,5 \pm 0,3	+1,4	14,2 \pm 4,2	gleiche Albumin-Charge an 3 Membranen ohne Differenz
M5	05.08.96	10.10.96	66d	11	20,7 \pm 0,25	21,6 \pm 0,35	+0,9	7,8 \pm 1,4	2 Albumin-Chargen mit gleichen Werten/ Werte insgesamt zu hoch (zunehmende Membran-Verstopfung?)
M6	30.09.96	09.01.97	101d	17	18,0 \pm 0,2	19,0 \pm 0,3	+1,0	9,0 \pm 1,4	in 3 Monaten an einer Albumin-Charge Abfall um ca. -0,5mmHg
M7	25.03.97	23.03.97	75d	9	19,4 \pm 0,15	20,3 \pm 0,3	+0,9	10,0 \pm 1,0	einheitlich: eine Meßkammer, eine Membran, eine Albumin-Charge
M8	25.03.97	26.06.97	95d	22	20,15 \pm 0,35	21,2 \pm 0,3	+1,05	9,8 \pm 1,5	Albumin-Charge zu 50,4g/l; nach Analyser 5,1g/100ml
M9	05.07.97	07.08.97	34d	15	20,5 \pm 0,3	21,45 \pm 0,3	+0,95	9,7 \pm 0,8	Membran-Verquellungen? Korrekturbedarf um 1mmHg?
M10	07.08.97	15.09.97	45d	11	19,5 \pm 0,55	20,6 \pm 0,35	+1,1	9,0 \pm 1,6	neue Membran gegenüber M9
gesamt	10.03.95	15.09.97	2,5a	131	19,2 \pm 1,0	20,25 \pm 1,0	+1,0 \pm 0,25	10,0 \pm 2,4	siehe Begleittexte!

Abb 4.3.2: Zeitbereichsweise und endgültige Mittelwerte aus den KOD₂₀-Messungen der Humanalbumin-Testlösungen der Firma Dr. Karl Thomae (5 Gew-% in 0,9%iger NaCl-Lösung zwischen 10.03.1995 und 15.09.1997. Daten extrahiert aus n= 131 Einzelmessungen. Zeichenerklärungen: „Pfiff“ und „Endwert“ bedeuten das Signal zur routinemäßigen automatischen Einschätzung bzw. der wirkliche Endwert wie er per Schreiber und Bildschirm abgewartet wurde; M₁, M₂, M₃ ... bedeuten zeitintervallweise Mittelwerte samt Fehlerangaben; M_{gesamt} ist der definitive Mittelwert über den gesamten Beobachtungszeitraum samt Fehlerangabe.

Augenscheinlich sind beim elektrischen Kalibrieren des Onkometers und beim Messen höchstmögliche Exaktheit gefordert. Von Testlösung zu Testlösung können maximal Differenzen von 0,5 mmHg auftreten, auch von Meßkammer zu Meßkammer. Die größten Unsicherheiten – bis 1 mmHg – bringen unterschiedliche Membran-Chargen und/oder Änderungen der Membranpermeabilität (vgl. Kap. 3.4.).

Der Albumingehalt des menschlichen Blutplasmas wird mit etwa 45 g/l veranschlagt (Spannbreite etwa 35 – 55 g/l), was etwa 0,65 mmol/l entspricht und etwa 52 – 62 Gewichts-% des Plasma-Gesamteiweißes ausmacht. Da das Plasmaalbumin für etwa 80% des plasmatischen kolloidosmotischen Druckes verantwortlich gemacht wird [Lutz 1994], können wir annäherungsweise eine bestätigende simple Gegenprobe machen : Mit den Albumin-Testlösungen zu 50 g/l Reinalbumin fanden wir einen KOD_{20} um 20 mmHg (Abb. 4.3.2), der, von 80% auf 100% gebracht, zu einem End- KOD_{20} von ca. 25 mmHg hochzurechnen wäre. Genau in dieser Größenordnung bestimmten wir dann die KOD_{20} -Werte gesunder Personen (siehe Kap. 4.2. und auch S. 8). Vor der linearen Hochrechnung des Albumin-KOD von der gemessenen 5%igen Lösung auf 6%ig und 7%ig zum vermuteten KOD_{20} von 24,2 bzw. 28,2 mmHg hat man sich indessen zu hüten. Nach dem Gibbs-Donnan-Effekt (siehe Kap. 4.1.) dürften die Werte höher liegen; sie können nur experimentell exakt ermittelt werden. Die zur Infusionstherapie verfügbaren Humanalbuminlösungen konnten wir aus Zeitgründen bezüglich ihrer KOD-Werte leider nicht kontrollieren.

Bei einer sehr schmalen Molekulargewichtsverteilung (um 65 000 bis 69 000 Dalton) mit wenig Präalbumin (55 000 bis < 60 000 Dalton) ist das Humanalbumin betont einheitlich – etwa im Kontrast zu dem mit semipermeablen Membranen nach unseren Erfahrungen kaum meßbaren Hühnerei-Albumin.

Aus dem Humanalbumin-„Profil“ der Abb. 4.3.3, gemessen mit je einer 3kD, 5kD, 8kD und 10kD-Membran, erkennen wir den stets prinzipiell gleichen Verlauf : Die rasche und saubere Einstellung zu einem mittleren KOD-Endwert von $19,5 \pm 0,1$ mmHg (einzelne Endwerte 19,5 bzw. 19,4 bzw. 19,4 bzw. 19,7 mmHg; 1. Pfiff nach ca. 4 min, Endwert nach ca. 25 min).

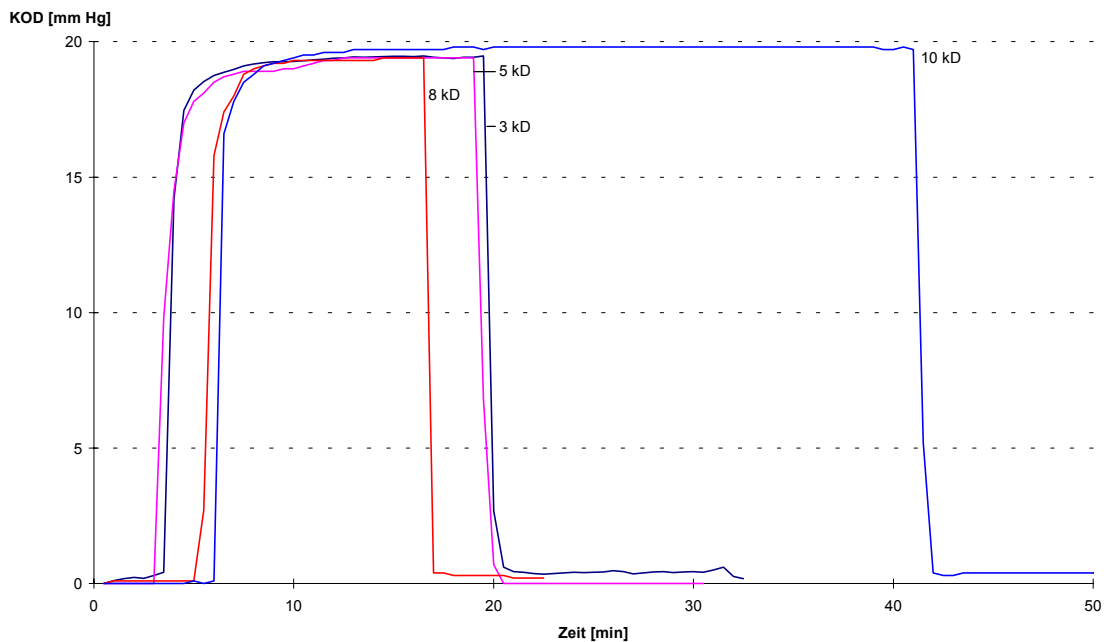


Abb. 4.3.3: Kolloidosmotisches Profil einer standardisierten Humanalbumin-Lösung (5%ig, Thomae®), gemessen mit 3 – 5 – 8 – 10kD-Membranen

Offensichtlich sind alle diese Membranen einer Reinalbuminlösung gegenüber vergleichbar dicht; für Albuminmoleküle impermeabel, die Lösungen frei von kleineren „Makromolekülen“.

Mit Abb. 4.3.4 ist das Humanalbumin-Profil, gemessen mit je einer 10kD, 20kD, 30kD, 50kD und 70kD-Membran, fortgesetzt. Membranen für den Zwischenbereich eines MWCO von 40kD und insbesondere 60kD sowie 80kD waren nicht verfügbar (Kap 3.4.). Die Kurve der 10kD-Membran ist wiederum eingetragen, zur Anbindung an Abb. 4.3.3.

Unabhängig von der eingetragenen 20kD-Kurve sei an das Ergebnis der Gesamtmessungen mit 20kD-Membranen erinnert (siehe Abb. 4.3.2).

Aus 5 unabhängigen Messungen mit 30kD-Membranen läßt sich – etwa analog zu Abb. 4.3.2 – eine Kleintabelle Abb. 4.3.5 angeben. Die Endwerte stellen sich auch hier wiederum nach etwa 10 min ein. Der KOD_{30} -Endmittelwert mit $19,1 \pm 0,6$ mmHg liegt noch im Bereich der genannten KOD-Werte für die 3kD- bis 10kD-Membranen und höchstens infinitesimal kleiner als für 20kD-

Membranen. Mit anderen Worten, für eine Reinalbuminfraktion erweisen sich Membranen bis einschließlich eines nominellen MWCO von 30kD als nahezu impermeabel.

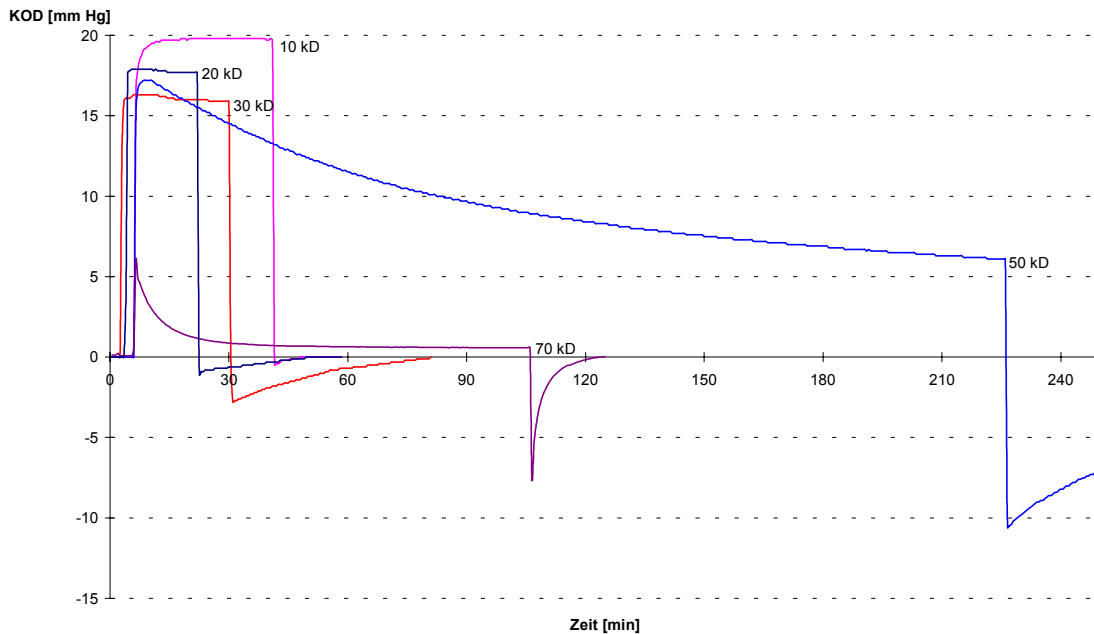


Abb. 4.3.4: Kolloidosmotisches Profil einer standardisierten Humanalbumin-Lösung (5%ig, Thomae®), gemessen mit 10 – 20 – 30 – 50 – 70kD-Membranen

	KOD ₃₀ (mmHg)		
	1. Pfiff	Endwert	Differenz
Probe 1	18,1	19,8	1,7
Probe 2	17,6	18,9	1,3
Probe 3	18,3	19,0	0,7
Probe 4	18,0	18,2	0,2
Probe 5	18,9	19,5	0,6
Mittelwert ± SD	18,2 ± 0,5	19,1 ± 0,6	0,9 ± 0,6

Abb. 4.3.5: KOD₃₀-Messungen an 5 Humanalbumin-Testlösungen (5%ig) der Firma Dr. Karl-Thomae.

Mit einer 50kD-Membran (deren strenge Spezifikation wir natürlich nicht kennen!) dagegen beobachten wir einen kontinuierlichen KOD-Abfall binnen 3,5 Std. von etwa 17,5 auf 6,0 mmHg, noch weitab von einem Gleichgewicht, das aus Zeitgründen nicht abgewartet werden konnte. Mit der 70kD-Membran ergibt sich ein steiler KOD-Abfall, binnen 100 min auf einen ungefähren Restwert von 0,6 mmHg (geringe Mengen deutlich größerer Proteine oder andersartiger Bestandteile?). Die Spitze beim Spülen der Oberkammer zeigt spiegelbildlich das typische kinetische Muster (vgl. Kap. 3.5.) einer relativ raschen Membranpassage für - gegenüber der Porengröße - kleine Partikel besonders deutlich. Dies ist offensichtlich für eine reine Humanalbuminlösung (MW 63 000 – 69 000, genaueste Angabe 66 300) ohne begleitende Höhermolekulare (wie Globuline und Fibrinogene) gegeben.

Ein bereits etwas kompliziertes System ist das Humanserum-Präparat Biseko[®] der Firma BIOTEST : 50 g Protein, darunter etwa 31 g Albumin und etwa 10 g Immunglobuline, ohne Konservierungsstoffe in 1 Liter Kochsalzlösung gelöst; blutgruppen-unabhängig applizierbar zur Hämodilution und Volumentherapie, bei Antikörper-Mangel und zur Infektprophylaxe, bei Hypoproteinämien sowie zur Erythrozyten-Resuspension.

Aus dem KOD-Profil des Biseko[®] können wir gemäß Abb. 4.3.6 folgendes entnehmen : Die Messungen waren bezüglich Kinetik, Reihenfolge der Kurven, Spülphase und Nullpunktstabilität mit allen 5 eingesetzten Membranen technisch einwandfrei gelaufen und entsprechend bewertbar.

10kD-Membran : Sofort ein stabiler Endwert um 18,5 mmHg, welcher den maximalen KOD der Lösung wiedergeben dürfte (1 – 3 – 5 – 8kD-Membranen aus Zeitgründen nicht verwendet!).

20kD-Membran : Leichter Abfall kontinuierlich über die gesamte Meßzeit von etwa 6 Std., geringe Anteile kleiner permeabler Partikel anzeigend.

30kD-Membran : Über die gesamte Meßzeit von etwa 5 Std. starker Abfall, d.h. beträchtliche Mengen an Partikeln kleiner als das Albumin-Molekül anzeigend (vgl. Abb. 4.3.4).

50kD-Membran : bei stärkstem primärem Abfall scheint nach ca. 7 h nahezu das Diffusionsgleichgewicht eingestellt zu sein.

70kD-Membran : nach steilem Abfall ist bereits nach 2 h der KOD auf weniger als 1,5 mmHg gesunken, ohne einen Endwert erreicht zu haben. Mit der (nicht eingesetzten) noch größeren 100kD-Membran wäre vermutlich bereits die Meßgrenze des Onkometers erreicht gewesen.

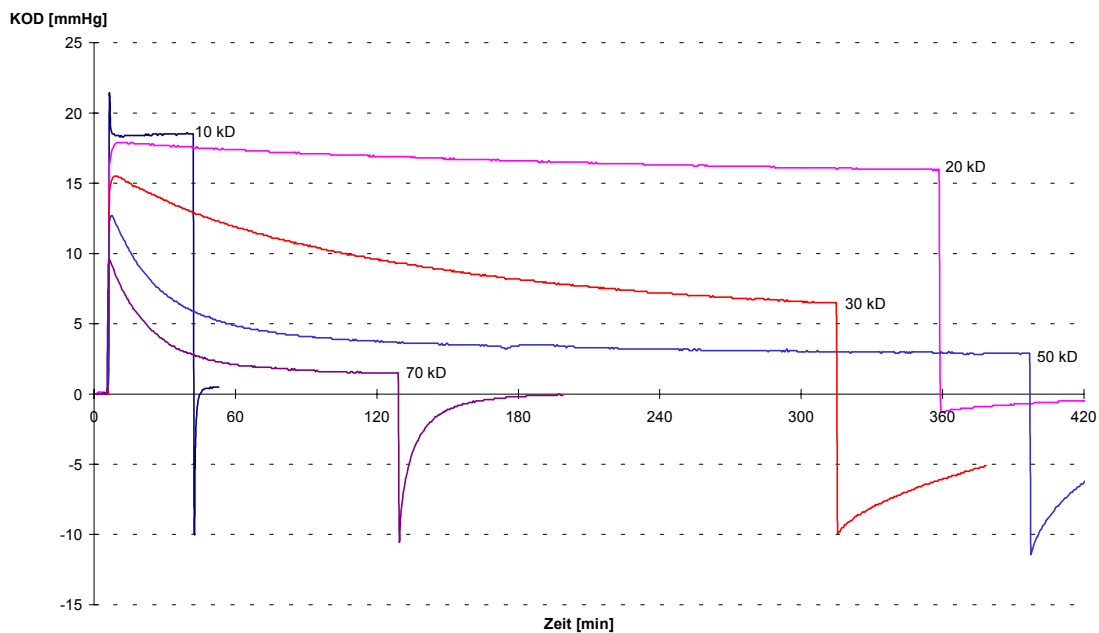


Abb. 4.3.6: Kolloidosmotisches Profil einer standardisierten Humanserumprotein-Lösung (Biseko[®], BIOTEST), gemessen mit 10 – 20 – 30 – 50 – 70kD-Membranen.

Erhöhte Werte für das Gesamtprotein (TP) des Blutplasmas bei Innenohrpatienten sind bereits klinisch aufgefallen (Dr. Sch. HNO-Klinik Würzburg). Mit TP-Messungen parallel zu unseren KOD-Messungen an Innenohrpatienten konnten wir diese Beobachtung bestätigen. Da die Ergebnisse der (wenigen) Serum-Elektrophoresen (siehe Abb. 4.3.1) eher auf Medianwerte des Serum-Gesamtproteins hindeuten, liegt die Vermutung nahe, daß die definitive Gesamtprotein-Erhöhung mit den Eiweißen der plasmatischen Gerinnung, speziell also mit dem Fibrinogen, zu tun haben könnte. Die Untersuchungen von

Klemm und Holotiuk [1997] an insgesamt 88 Hörsturz- und Vestibularpatienten mit idiopathischen Labyrinthstörungen belegen in der Tat eine signifikante Erhöhung der Fibrinogenspiegel, zusammen mit pathologischen Verhältnissen bei der Blut- und Plasmaviskosität sowie der Erythrozytenaggregation, dem Hämatokrit und der Blutsenkungsgeschwindigkeit. Fibrinogen (Mittelwert \pm SD) : Normalwert nach Geigy-Tabellen 2,6 – 2,95 – 3,3 g/l; nach jenen Autoren bei Vergleichsgruppe 2,9 \pm 0,4 g/l, bei Hörsturzgruppe 3,3 \pm 0,9, bei Vestibularispatienten 3,4 \pm 0,9 g/l.

Die Berechenbarkeit des KOD aus dem Gesamteiweiß(TP)gehalt von Blutplasma oder –serum ist umstritten [Barclay et al. 1987]. Retzke und Graf [1991] haben indessen 10 unterschiedliche, empirisch gefundene Näherungsformeln zur KOD-Berechnung aus der Literatur zusammengetragen und im Beispiel für ein TP von 70 g/l die KOD-Werte gerechnet : Bei untragbar weiten Extremwerten von 19,4 bis 27,3 mmHg ergibt sich - quasi zufällig - ein akzeptabler mittlerer KOD-Wert von 24,65 \pm 2,5 mmHg. Die ausgewogenste und allgemein verwendete Formel stammt von Landis und Pappenheimer [1963], wenn der KOD in mmHg, das TP in g/l eingesetzt werden :

$$\text{KOD} = 0,21\text{TP} + 0,0016\text{TP}^2 + 0,000009\text{TP}^3$$

Hierbei entspricht das erste Glied etwa der van 't Hoff'schen Idealgleichung, die beiden Folgeglieder repräsentieren etwa den Gibbs-Donnan-Effekt. Nach Mullins et al. [1983] ergab sich mit dieser Formel sowohl für Serum-Gesamteiweiß als auch für Albumin-Standardlösungen eine vorzügliche Übereinstimmung gemessener und berechneter KOD-Werte. Wichtig ist eine qualitätsgesicherte, also exakte, Eiweißbestimmung. Von keinem Autor genannt, unseres Erachtens als *conditio sine qua non* aber zu fordern, ist die Verwendung für alle Eiweißanteile sperrender semipermeabler Membranen, um den vollen onkotischen Druck zu erzielen.

Wie im folgenden ausgeführt wird, konnten wir bei unseren KOD₂₀-Messungen, sofern die parallel dazu bestimmten plasmatischen Gesamteiweißwerte vorlagen, auch die Korrelationen beider Größen bestimmen, wie bereits von Hampe [2000] (S.54-55, Tab. 13, Abb. 20) angesprochen. Bei Ver-

gleichsgruppen (= Innenohrgesunden) ist die Korrelation nicht allzu schlecht ($r = 0,835$), bei Innenohrpatienten ist sie merklich schlechter, was auf eine gewisse Irritation des Eiweißspiegels hinweisen könnte. Mit den gegenüber Hampe [2000] ergänzenden Abbildung 4.3.7 bis 4.3.9 wurde versucht, die Ergebnisse unserer Messungen weiter zu verdeutlichen. Unter Heranziehen aller Einzelwertpaare TP-KOD₂₀ ist Abb. 4.3.7 entstanden. Das Gesamteiweiß wurde nach der KOD₂₀-Messung aus derselben Blutprobe bestimmt.

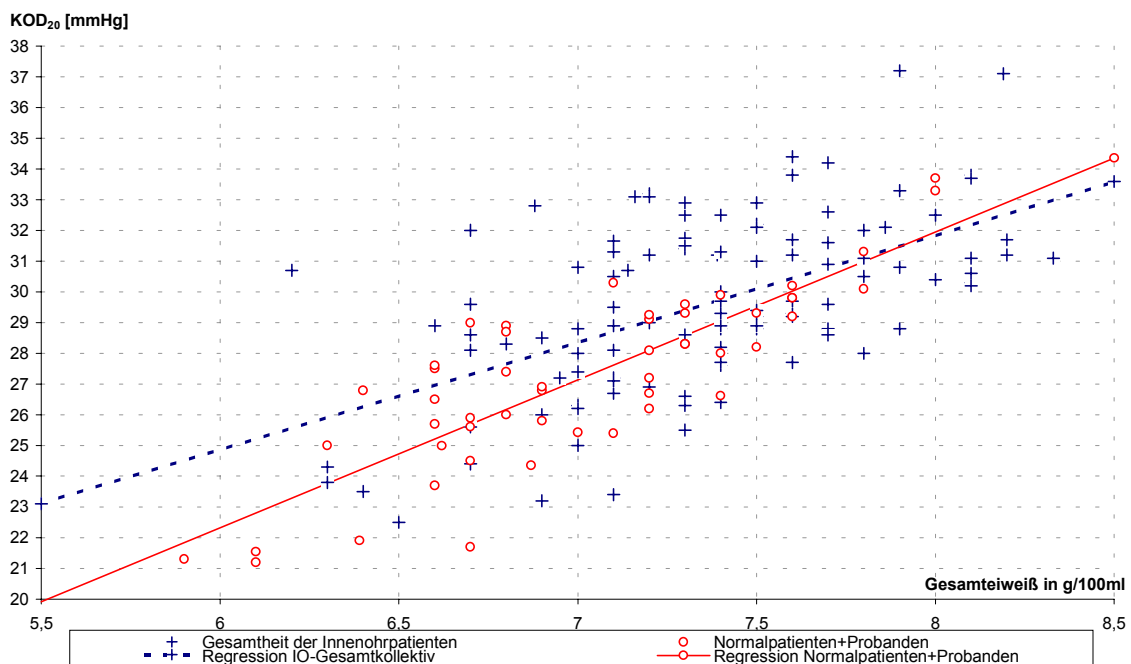


Abb. 4.3.7: Zur Korrelation des plasmatischen Gesamteiweißes (TP) mit dem plasmatischen KOD₂₀ an 2 Vergleichsgruppen und 5 Gruppen von Innenohrpatienten ($n_{\text{gesamt}} = 163$). (Siehe dazu auch die Wertetabelle in Abb. 4.3.8).

Allerdings stehen nicht bei allen Patienten Gesamtproteinmessungen zur Verfügung, so daß nicht alle KOD₂₀-Werte in die Berechnung eingehen konnten. Man erkennt bereits aus der Punktwolke – in der die Meßwerte der einzelnen Kollektive durch unterschiedliche Zeichen kontrastiert sind –, daß das Feld der Innenohrkranken bevorzugt mehr oben und mehr rechts liegt. Eingetragen sind zwei Ausgleichsgeraden, welche a) für die kombinierte

Vergleichsgruppe (Probanden und die bereits definierten Normalpatienten) und b) für die Gesamtheit der Innenohrpatienten gelten. Referenzdaten – auch für die Einzelkollektive – finden sich in Abb. 4.3.8. In ähnlicher Weise waren bereits bei Hampe [2000] (dort S. 54-55. Tab. 13 und Abb. 20) die 7 Ausgleichsgeraden für alle Einzelkollektive gerechnet und gezeigt worden, was jedoch die Übersichtlichkeit beeinträchtigt hat und infolge der teilweise (zu) kleinen Kollektive problematisch ist.

Kollektiv	n*)	TP (g/100ml)		KOD ₂₀ (mmHg)		Regressionsgerade**)			Zeile
		MW	±SD	MW	±SD	Steigung	r	P	
Probanden	24 (31)	7,0	0,5	27,0	2,6	4,62	0,84	<0,0001	1
Normalpatienten	27 (31)	7,1	0,5	27,2	2,8	5,12	0,83	<0,0001	2
Vergleichsgruppen	51 (62)	7,0	0,5	27,1	2,7	4,82	0,83	<0,0001	1+2
Tinnitus	42 (61)	7,4	0,4	29,5	2,7	3,85	0,60	<0,0001	3
Hörsturz	43 (55)	7,4	0,5	30,6	3,0	3,80	0,58	0,0001	4
Lärmtrauma	12 (18)	7,4	0,4	30,4	2,9	2,30	0,36	0,31	5
Neuropath.vest.	9 (10)	7,4	0,6	28,9	2,7	2,64	0,62	0,07	6
M.Ménière	6 (7)	7,1	0,4	28,3	1,7	0,66	0,15	0,76	7
5 x IO-Kranke	112 (151)	7,4	0,5	29,9	2,8	3,50	0,56	<0,0001	3-7
Gesamtkollektiv	163 (213)	7,3	0,5	29,1	3,1	4,27	0,69	<0,0001	1-7

*) die Zahlen in Klammer beziehen sich auf die insgesamt vorhandenen KOD-Messungen, die offenen Zahlen auf solche mit dazu parallel vorhandenen TP-Werten

***) Steigung gemessen in mmHg pro g TP/100ml

Abb. 4.3.8: Die wichtigsten Werte zur Beurteilung der Korrelation von TP- und KOD₂₀-Wert, getrennt nach den verschiedenen Kollektiven und für das Gesamtkollektiv. Anzahl (n), Korrelationskoeffizient (r), Wahrscheinlichkeit (p), Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD).

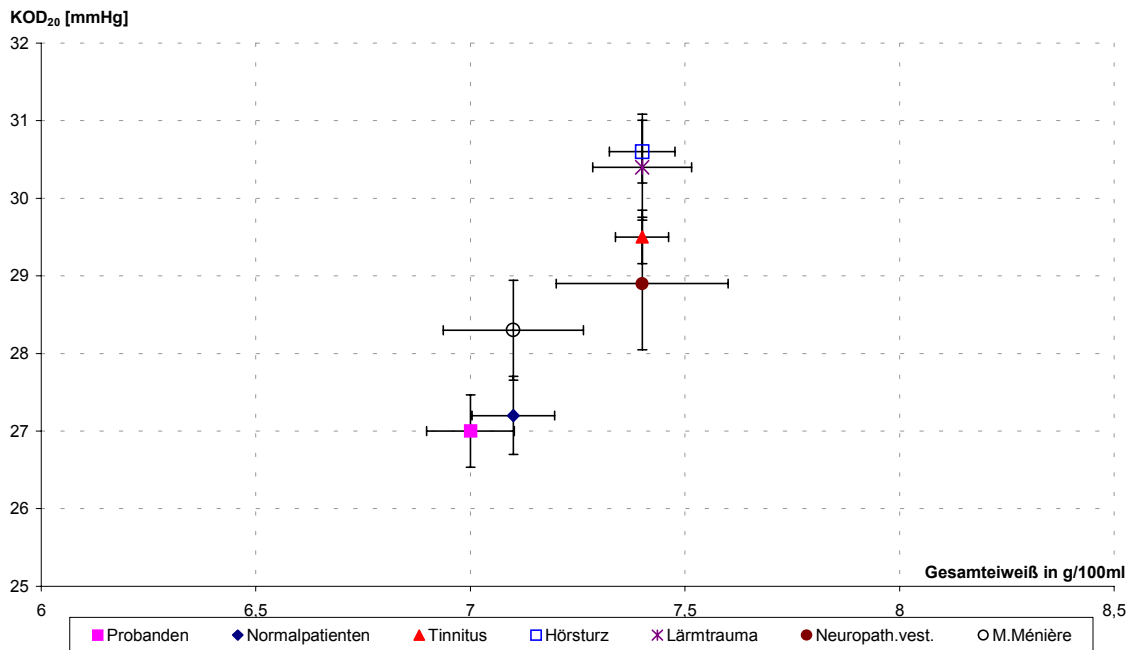


Abb. 4.3.9: Als Fazit aus den Abbn. 4.3.7 und 4.3.8 : Orientierende Übersicht, kollektivweise, über die Beziehung zwischen plasmatischem KOD₂₀ und plasmatischem Gesamtproteingehalt. Zugrunde liegen die Daten der „Hauptversuche“ nach Hampe [2000]. Dargestellt sind Mittelwerte und \pm SE.

4.4. Blutplasmen von Normal- und Patientenkollektiven

Mit Abb. 4.4.1 ist das kolloidosmotische Profil des Blutplasmas einer Normalperson, gemessen mit 6 Membranen unterschiedlicher Porenweite (MWCO), vorangestellt:

Die 1kD- und die 10kD-Membran führen spontan zu stabilen und gleichen Endwerten. Sie erweisen sich gegenüber sämtlichen kolloidalen Plasmaanteilen somit als völlig impermeabel. Die 20kD-Membran – das Hauptinstrument unserer gesamten Experimente – liefert geringfügig etwas kleinere KOD-Werte, aber höchstens mit dem Hauch eines zeitlichen Trends, im Bereich der zahlreichen in dieser Arbeit genannten Messungen. Angedeutet ist damit bereits eine minimale Permeabilität. Bei der 30kD-Membran ist dieser

Trend deutlich erkennbar, ohne daß bei einer Meßzeit von 80 min bereits ein Endwert erreicht wird. An der 50kD-Membran ist auch nach 4,5 Stunden die Diffusionskinetik noch in vollem Gange, ohne daß ein KOD-Endwert erreicht wird. Die 70kD-Membran führt nach etwa 2 Stunden zu stabilen Endwerten. Der geringe KOD_{70} -Endwert deutet auf den zahlenmäßig kleinen Anteil der hochmolekularen Eiweiße im Plasma hin.

Aus meßtechnisch-zeitlichen Gründen mußten wir uns bei der großen Anzahl unserer Vergleichspersonen und Innenohrpatienten auf die Routinemessung mit der 20kD-Membran beschränken (die in der Tat vorhandenen Messungen mit 30 – 70 – 100kD-Membranen an über 40 Innenohrpatienten sind noch nicht ausgewertet; sie würden den Rahmen dieser Arbeit sprengen!).

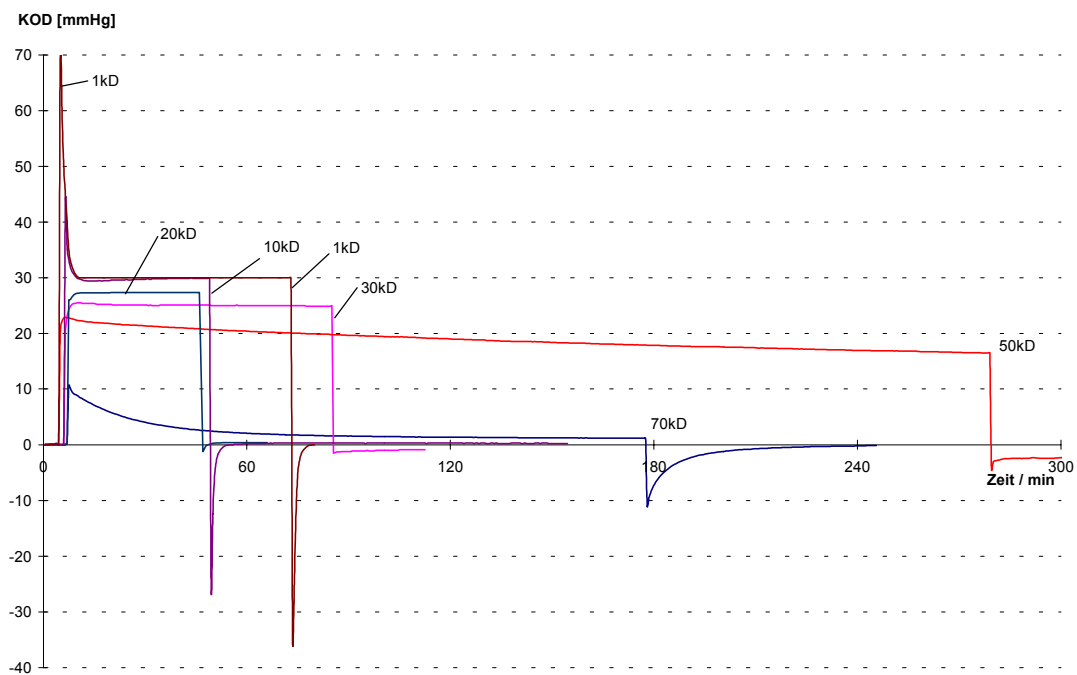


Abb. 4.4.1: Kolloidosmotisches Profil des Blutplasmas einer Normalperson, gemessen an sechs unterschiedlichen Membranen (1 – 10 – 20 – 30 – 50 - 70kD)

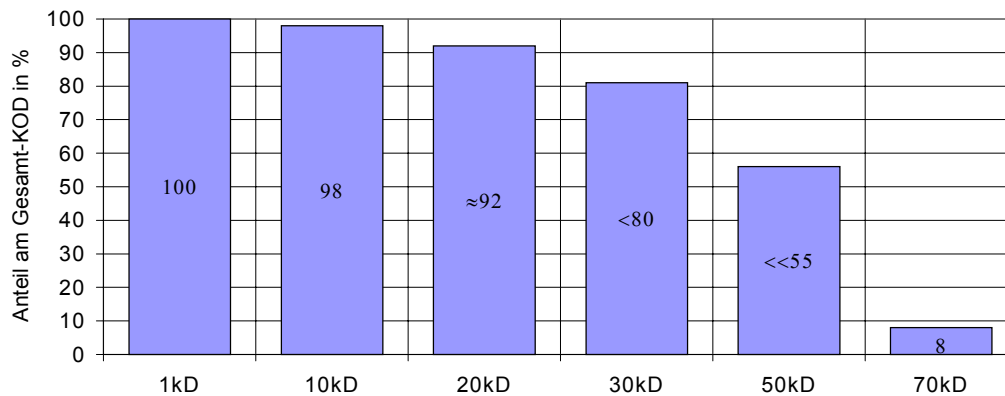


Abb. 4.4.2: KOD-Relativwerte des Blutplasmas einer Normalperson, gemessen an unterschiedlichen semipermeablen Membranen. Bezug auf den KOD-Wert der 1kD-Membran zu 100% (vgl. Abb. 4.4.1).

Korrelation des Probanden- bzw. Patientenalters mit dem plasmatischen KOD_{20}

Die Abbildungen 4.4.3 bis 4.4.5 erlauben ein Urteil über den Zusammenhang von Alter und KOD_{20} -Wert bei den verschiedenen Kollektiven.

Kollektiv	n	Alter (Jahre)		KOD_{20} (mmHg)		Regressionsgerade			Zeile
		m	$\pm SD$	m	$\pm SD$	Steigung*)	r	p	
Probanden	31	29,9	12,1	27,0	2,6	-0,030	-0,137	0,46	1
Normalpatienten	31	42,2	17,6	27,2	2,8	-0,049	-0,303	0,05*	2
Vergleichsgruppen	62	36,0	16,2	27,1	2,7	-0,034	-0,205	0,11	1 + 2
Tinnitus	61	44,0	17,3	29,5	2,7	-0,0269	-0,159	0,22	3
Hörsturz	55	45,0	15,0	30,6	3,0	-0,063	-0,318	0,02*	4
Lärmtrauma	18	25,9	11,1	30,4	2,9	0,013	0,049	0,87	5
Neuropath. vest.	10	41,5	15,7	28,9	2,7	-0,067	-0,397	0,31	6
M.Menièrè	7	47,7	10,6	28,3	1,7	-0,037	-0,224	0,63	7
5 x IO-Kranke	151	42,2	16,5	29,9	2,8	-0,037	-0,217	0,01*	3 - 7
Gesamtkollektiv	213	40,4	16,6	29,1	3,1	-0,023	-0,122	0,08	1 - 7

*) in mmHg / Jahr

Abb. 4.4.3: Die wichtigsten Werte zur Beurteilung der Korrelation von Alter und KOD_{20} -Wert der verschiedenen Kollektive.

Anzahl (n), Korrelationskoeffizient (r), Wahrscheinlichkeit (p), Mittelwert (m), Standardabweichung (SD).

Eine signifikante Abhängigkeit ($p < 0,05$) des KOD_{20} -Wertes vom Alter konnte bei den Normalpatienten und dem Hörsturzkollektiv sowie den vereinten Kollektiven der Innenohrkranken nachgewiesen werden. Für das Gesamtkollektiv resultiert der Trend, daß mit zunehmendem Alter die KOD_{20} -Werte abnehmen.

Abbildung 4.4.4 stellt die Korrelation zwischen Alter und KOD_{20} graphisch dar. Die Linien entsprechen den Regressionsgeraden, welche a) für die kombinierte Vergleichsgruppe, nämlich Probanden plus Normalpatienten (ausgezogene Linie), und b) für die Gesamtheit der Innenohrpatienten (gestrichelte Linie) gelten. In ähnlicher Weise waren bereits bei Hampe [2000], dort S. 51 Abb. 17, Ausgleichsgeraden für alle sieben Einzelkollektive gezeigt worden. Man erkennt bereits aus der Punktwolke, daß das Feld der Innenohrerkrankten bevorzugt mehr oben und mehr rechts liegt.

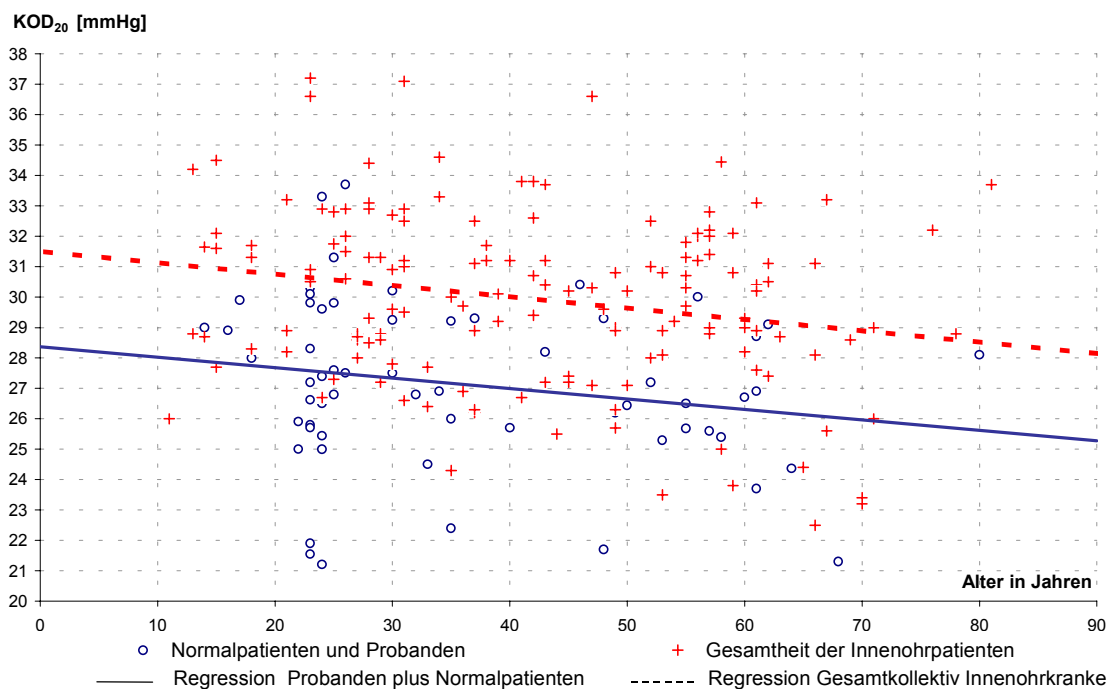


Abb. 4.4.4: Zur Korrelation von Alter und plasmatischem KOD_{20} an 2 Vergleichsgruppen und 5 Gruppen von Innenohrpatienten ($n_{\text{gesamt}}=213$) (siehe auch die Tabelle gemäß Abb. 4.4.3).

Abbildung 4.4.5 zeigt die KOD_{20} -Mittelwerte des Gesamtkollektivs nach Altersstufen. Signifikante Unterschiede konnten nicht festgestellt werden (t-Test $>0,05$).

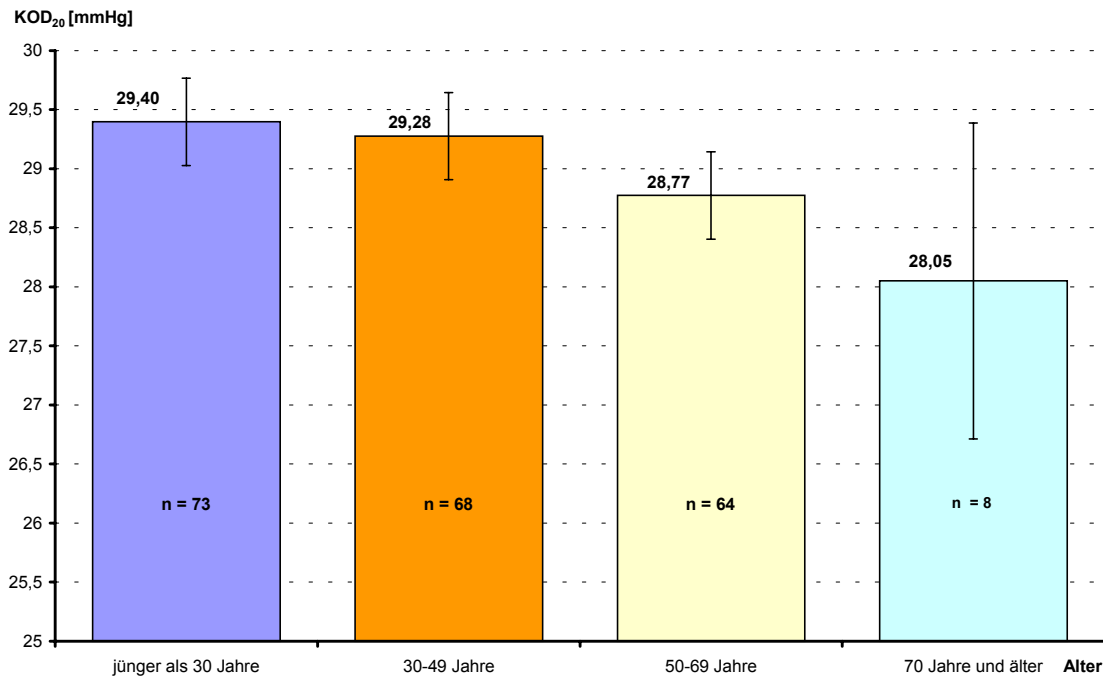


Abb. 4.4.5: Zusammenhang von Alter und KOD_{20} im Gesamtkollektiv.

Zusammenhang von Geschlecht und KOD_{20} -Werten

Die Abbildungen 4.4.6 und 4.4.7 verschaffen einen Überblick über den Zusammenhang zwischen Geschlecht und KOD_{20} -Wert in den einzelnen Kollektiven. Wir verwendeten den t-Test bzw. den U-Test, um für jedes Kollektiv die Unterschiede der KOD_{20} -Werte bei Mann und Frau abzuschätzen. Keines der Kollektive zeigte indessen signifikante Unterschiede (d.h. niemals $p < 0,05$), wobei die Kollektive teilweise zu klein sind! Bei den Probanden, den Normalpatienten und den Tinnituspatienten lagen die KOD_{20} -Mittelwerte der Männer ein wenig höher als die der Frauen; die Frauen hatten in den Hörsturz-, Neuropathia- und M. Menière-Kollektiven leicht höhere KOD_{20} -Werte. Betrachtet man das Gesamtkollektiv, ergab sich ein um 0,3 mmHg höherer Mittelwert für die Männer.

		n	KOD ₂₀	Differenz	P	Test
Probanden	→	19	27,7	+1,7	0,07	T*)
	←	12	26,0			
Normalpatienten	→	14	27,8	+1,1	0,25	U**)
	←	17	26,7			
Tinnitus	→	33	29,7	+0,3	0,64	T*)
	←	28	29,4			
Hörsturz	→	24	30,5	-0,2	0,73	U**)
	←	31	30,7			
Lärmtrauma	→	14	30,4	-0,1	0,96	U**)
	←	4	30,5			
Neuropath. vest.	→	5	28,1	-1,6	0,40	U**)
	←	5	29,7			
M.Menière	→	4	28,0	-0,7	0,86	U**)
	←	3	28,7			
Gesamtkollektiv	→	113	29,3	+0,3	0,50	T*)
	←	100	29,0			

*) : T: t-Test für Normalverteilte Variablen mit gleicher Streuung der Werte.

**): U: U-Test für nicht Normalverteilte Variablen oder nicht gleicher Streuung der Werte.

Abb. 4.4.6: Zusammenhang zwischen Geschlecht und KOD₂₀-Mittelwerten der einzelnen Kollektive.

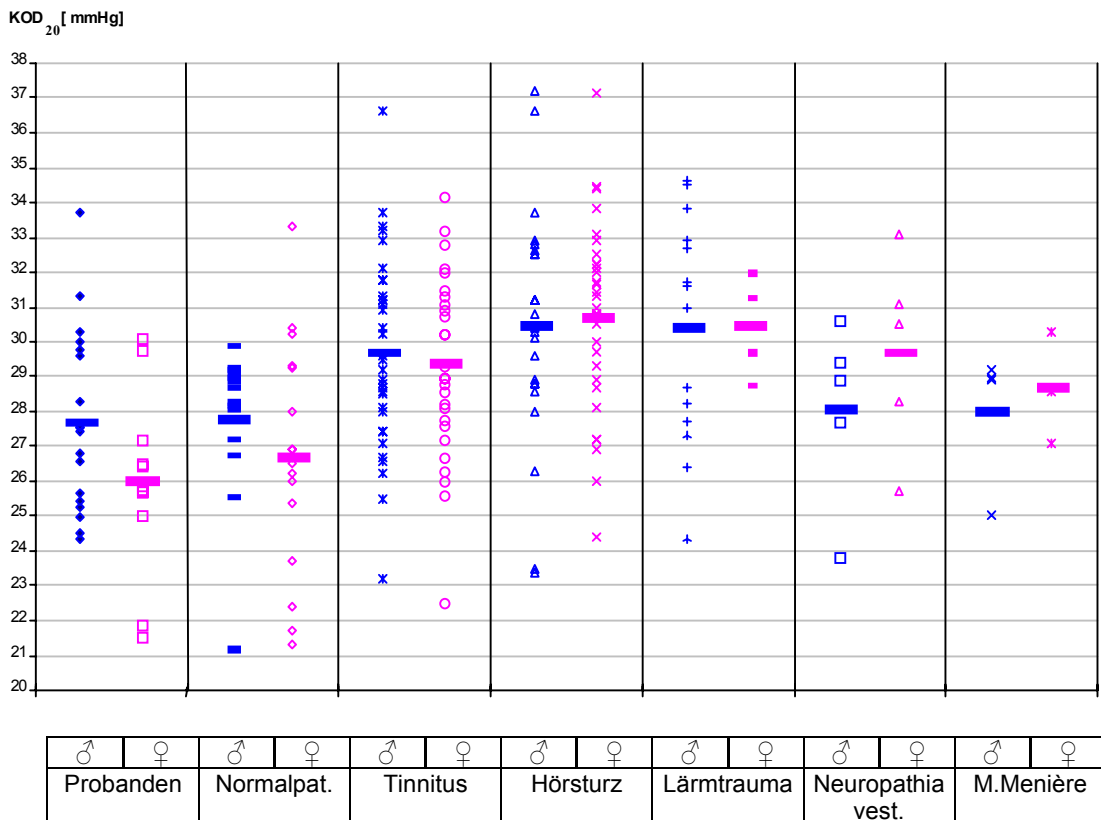


Abb. 4.4.7: Zusammenhang zwischen Geschlecht und KOD₂₀-Einzelwert in den einzelnen Kollektiven. Die gemäß Abb. 4.4.6 zugehörigen Mittelwerte sind als dicke Balken eingetragen.

4.5. Plasma(Volumen)ersatzmittel an Beispielen

Wie in Kapitel 4.4. für Blutplasma und Lösungen mit körpereigenen Proteinen gezeigt, haben wir auch für Plasma(Volumen)ersatzmittel kolloidosmotische Profile erstellt, um einen gewissen Überblick über die Größenverteilung der Kolloide zu erreichen. Aus solchen „Profilen“ kann auf die Wirkung eines Plasma(Volumen)ersatzmittels an den Flüssigkeitskompartimenten des

Medium			Anzahl der Proben	KOD ₂₀ -Wert [mmHg] ± SD	KOD ₁₀ -Wert [mmHg] ± SD
Substanzgruppe	mittl. Molgew. [kD]***)	Gew.- Anteil			
Blutplasmen von Probanden	92,5 °)	6,5– 8,5%	14(1)	25,9 ± 1,2	30,0
Humanalbumin	63 - 69	5%	9(1)	20,3 ± 0,9	19,8
HES	450	6%	3(1)	28,2 ± 1,3	31,8
HES	200	10%	4(1)	72,1 ± 8,7	89,6
		6%	5(3)	30,5 ± 2,4	37,8 ± 2,0
		3%	1	9,9	-
Dex	75	6%	1	38,7	64,8
HES	70	6%	1	13,1	29,5
Dex	70	6%	1	51,9	63,2
Dex	60	6%	3	33,4 ± 4,4	65,6 ± 3,0
HES	40*)	6%	2	12,3 ± 1,8	31,2 ± 2,1
Dex	40**)	5%**)	7	20,2 ± 2,9	46,8 ± 4,0
Gel	35	3,5%	1	6,3	16,0
		3%	1	8,9	24,8
Gel	30	5,5%	1	6,2	29,6
		4%	1	9,2	30,3

*) wurde später als HES 70 vermarktet

**) aus meßtechnischen Gründen mußte die Originallösung „Dextran 40, 10%“ mit Kochsalzlösung 1:1 verdünnt werden, sind also Dextran 40, 5%-Lösungen

***) vom Hersteller angegebene mittlere Molekulargewichte bzw. °)

°) nach Katz (1985) gewichtet, unter Berücksichtigung der molaren Mengen von 35 Proteinen des Humanplasmas

Abb. 4.5.1: KOD₂₀- und KOD₁₀-Werte von 32 Plasma(Volumen)ersatzmitteln am deutschen Pharmamarkt im Vergleich zu Blutplasmen von Probanden und Humanalbumin-Lösungen (vgl. Abb. 3.2.2), geordnet nach mittleren Molekulargewichten (Firmenangaben!). Es handelt sich um orientierende Richtwerte aus ersten Messungen, ohne daß in der Regel Endwerte (=Gleichgewichte) erreicht waren.

menschlichen Körpers geschlossen werden, so daß sich eine Infusionstherapie je nach Situation in etwa optimieren läßt. Eine Übersicht über die von uns gemessenen Plasma(Volumen)ersatzmittel gibt Abb. 3.2.2. Die an jenen Lösungen orientierend bestimmten KOD_{10} - bzw KOD_{20} -Werte können aus Abb. 4.5.1 entnommen werden.

In der Behandlung cochleo-vestibulärer Störungen hat sich ein Therapie-schema durchgesetzt, das sowohl eine antiphlogistische Wirkung – meist durch Corticosteroide – anstrebt, aber auch einen rheologischen Benefit erzielen will. Michel et al. [2000] verwenden das Infusionsschema nach Stenert, bei dem neben Prednisolon in absteigender Dosierung und neben Pentoxifyllin Dextran-40-Lösungen (10%) verabreicht werden. An der Universitäts-HNO-Klinik Würzburg wird statt Dextran – sofern Kolloide überhaupt eingesetzt werden - eine HES-200-Lösung (6%) verwendet, wie diese auch Wilhelm et al. [2000] vorschlagen. Deshalb wollen wir die Verhältnisse für die im HNO-Bereich am häufigsten verwendeten Substanzen Dextran 40 und HES 200 genauer darstellen.

Dextran-40-Lösungen:

Abb. 4.5.2 zeigt exemplarisch das kolloidosmotische Profil einer Dextran-40 – Lösung 10%, die mit Kochsalzlösung 1:1 verdünnt werden mußte, da die KOD-Werte der unverdünnten Lösung teilweise außerhalb des Messbereichs unseres Onkometers lagen. Dabei betragen die echten KOD-Werte der unverdünnten Lösung mit Sicherheit deutlich mehr als das Doppelte der in Abb. 4.5.3 angegebenen Werte, da der Gibbs-Donnan-Effekt ja zu überproportionaler Steigerung der KOD-Werte bei steigender Kolloidkonzentration führt (vgl. Kap. 4.1.).

Wir gehen davon aus, daß bei der feinporigen 1kD-Membran nahezu der volle onkotische Druck (ca. 65 mmHg) wirkt. Die 3kD-Membran präsentiert sich noch mit ähnlichem Befund. Die 5kD-Membran liefert erheblich kleinere KOD-Werte mit überdies zeitlich fortdauernd starkem Gradienten, so daß ihre

KOD-Kurve sogar unter jene der 10kD-Membran läuft. Offensichtlich ist die Porigkeit der 5kD-Membran größer als der nominelle MWCO aussagt.

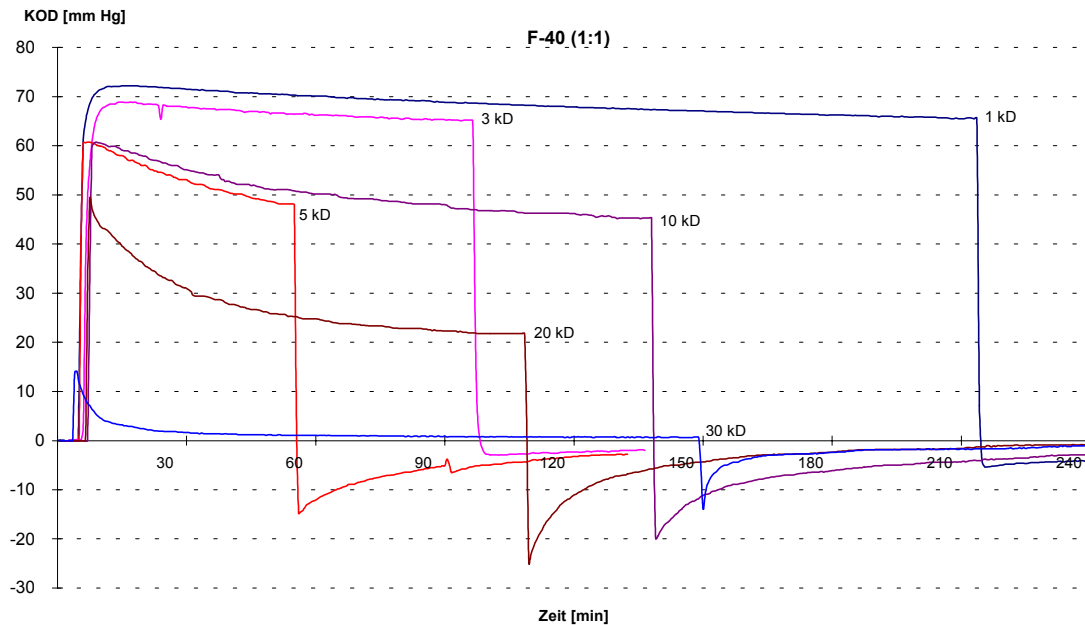


Abb. 4.5.2: Kolloidosmotisches Profil einer Dextran-40-Lösung (Fresenius, 10%); Für Messungen mit den 1 – 3 – 5 – 10 – 20kD-Membranen mußte die Lösung aus meßtechnischen Gründen 1:1 mit Kochsalzlösung verdünnt werden. Die Messung mit der 30kD-Membran wurde ohne Verdünnung durchgeführt.

Als diesbezüglich zuverlässig einzuschätzen sind die 10kD- und die 20kD-Membran, die hier größenordnungsmäßig KOD-Endwerte um 40 mmHg bzw. 20 mmHg signalisieren. Deutlich ist die nahezu vollständige Durchlässigkeit der 30kD-Membran für die Dextranmoleküle, so daß nur ein Rest-KOD von etwa 1 mmHg verbleibt, obgleich diese Messung an der 10%igen Originallösung gemacht wurde.

Zusammenfassend kann festgehalten werden : 1. Die Dextran-40-Lösungen 10% sind enorm hyperonkotisch, da die gemessenen KOD-Meßwerte nicht allein wegen der Verdünnung verdoppelt werden müssen, sondern weil der Gibbs-Donnan-Effekt mit der realen Konzentration mehr als linear ansteigt. 2. Die vom Hersteller angegebenen "mittleren Molekulargewichte" – hier 40.000 – verleiten eventuell zur völlig falschen Annahme, daß es sich um „wahr-

scheinlichste Molekulargewichte“ handeln könnte und daraus etwas über kolloidosmotische Drucke, renale Rückhaltungen und biologische Verweilzeiten auszusagen wäre. Die Größenverteilungen sind mit Sicherheit sehr „schief“ und asymmetrisch. 3. Gestattet ist vielleicht die praxisbezogene Aussage, daß bei einer Porenweite, welche zwischen jenen der 10kD- und 20kD-Membran liegt – wohl näher bei der 10kD-Membran – etwa die Hälfte der Dextranmoleküle die Poren passieren kann, der KOD also etwa noch den halben Maximalwert beträgt (vgl. Abb. 4.5.2). Da, zuverlässig kalibriert und enger gefächert, keine semipermeablen Membranen verfügbar sind, läßt sich diese Aussage nicht schärfer fassen.

Firma	Kürzel	KOD ₁₀ [mmHg]	KOD ₂₀ [mmHg]	Faktor
Kabi	K 40-3	41,9	16,2	2,59
Kabi	K 40-4	47,9	23,9	2,00
Braun	B 40	48,3	17,0	2,84
Fresenius	F 40	47,9	21,8	2,20
Clintec	C 40	41,5	19,0	2,18
Bernburg	W 40-1	53,0	21,8	2,43
Bernburg	W 40-2	47,2	21,8	2,17
Mittelwert ± SD		46,8 ± 4,0	20,2 ± 2,9	2,34 ± 0,29

Abb. 4.5.3: Übersicht über die KOD₁₀- und KOD₂₀-Werte der sieben 10%igen Dextran 40-Lösungen vom nominell mittleren Molekulargewicht 40.000. Aus meßtechnischen Gründen mußten die Originallösungen mit Kochsalzlösung 1:1 verdünnt werden, waren definitiv also 5%ig. Die KOD-Werte sind keine Endwerte, liegen aber auf flachen Kurvenschultern bei Meßzeiten um 2 Stdn.

HES-200-Lösungen:

Als wichtige Plasma(Volumen)ersatzlösungen – auch für Anwendungen im HNO-Bereich – gelten die HES-200-Lösungen. In Vorversuchen wollten wir uns über die Meßgenauigkeiten informieren. Dazu führten wir mit einer HES-

200-Lösung KOD-Messungen an verschiedenen Membranen vom nominellen Molecular Weight Cutoff (MWCO) 20kD durch (Abb. 4.5.4). Gemäß Abb. 4.5.4 ergaben sich beträchtliche Spannen für die KOD₂₀-Endwerte wie auch für die zugehörigen Einstellzeiten.

	KOD ₂₀ [mmHg]			Zeit [min]	
	1. Pfiff	Endwert	Differenz	1. Pfiff	Endwert
Membran 1	23,0	23,4	0,4	4	7
Membran 2	32,7	33,3	0,6	3	5,5
Membran 3	27,0	27,9	0,9	5	8
Membran 4	29,6	30,1	0,5	5	7
Membran 5	25,2	25,6	0,4	4	6
Membran 6	32,5	33,2	0,7	2	4
Membran 7	30,3	31,4	1,1	7	12
Mittelwert ± SD	28,6 ± 3,7	29,3 ± 3,8	0,66 ± 0,26	4,3 ± 1,6	7,1 ± 2,5
Spannen	23,0 - 32,7	23,4 - 33,3	0,4 - 1,1	2 - 7	4 - 12

Abb. 4.5.4: KOD-Messungen derselben HES 200/0,62-Lösung (Elohäs® 6%; Schiwa-Fresenius) mit verschiedenen 20kD-Membranen (n=7) in der gleichen Meßkammer.

Durch die breite Molekülgrößenverteilung der HES-Lösungen (die nach Herstellerangaben nahezu einer Normalverteilung gleichen soll) werden fertigungsbedingte, vermutlich geringgradige Unterschiede nominell gleicher Membranen sowohl in den KOD-Werten wie auch in den Einstellkinetiken deutlich. Eine HES-Lösung als „Hilfsstandard“ ist offensichtlich ein sehr anspruchsvolles Meßsystem zum Test semipermeabler Membranen auf Einheitlichkeit. Im Vergleich dazu traten nämlich mit Albumin-Lösungen, die relativ einheitliche Molekülgrößen aufweisen, keine derart großen Unterschiede auf (vgl. Abb. 4.3.2).

Vergleicht man das kolloidosmotische Profil der Dextran-40-Lösung (Abb. 4.5.2) mit dem der HES-200-Lösung (Abb. 4.5.5), so fällt dreierlei ins Auge:

Zum einen mußte die HES-200-Lösung nicht verdünnt werden, d.h. sämtliche KOD-Werte lagen primär im Messbereich unseres Onkometers. Zum zweiten zeigt sich bei HES-200 bereits an der engporigen 3kD-Membran eine deutlich abfallende Kinetik, d.h. infolge augenscheinlich extrem breiter Größenverteilung geschieht bereits ein merklicher Durchtritt kleinster kolloidaler Partikel. Zum dritten wird bei der HES 200-Lösung an der 30kD-Membran durch entsprechend große Partikel noch ein KOD von ca. 10 mmHg aufrecht erhalten. Im Vergleich dazu ist der KOD_{30} der 10%igen Dextran 40-Lösung kaum mehr meßbar klein.

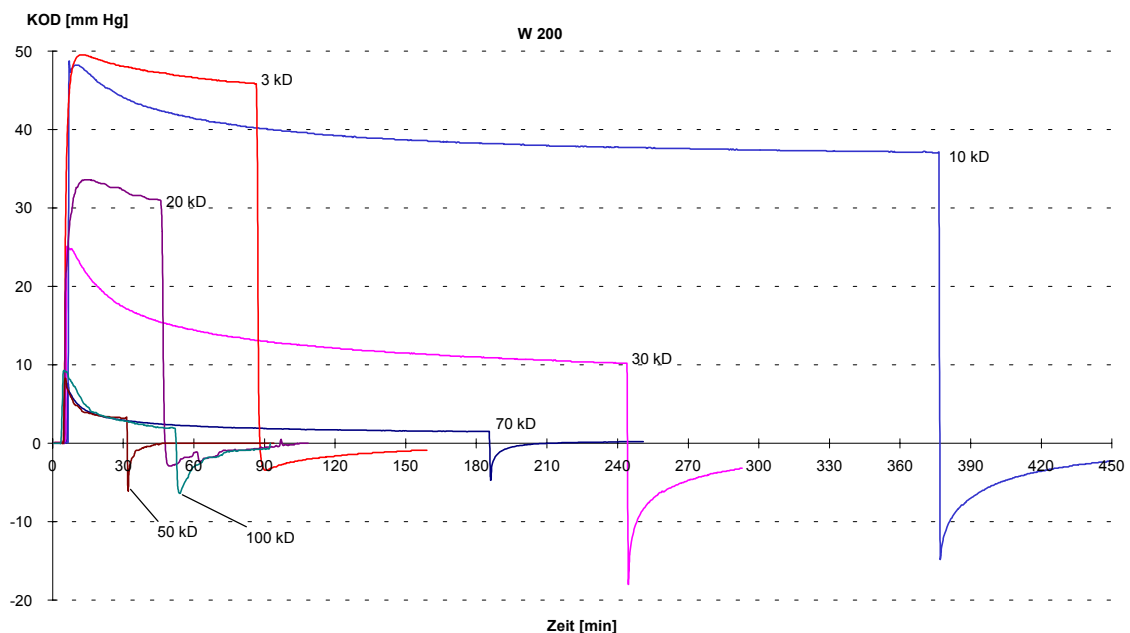


Abb. 4.5.5: Kolloidosmotisches Profil einer HES-200-Lösung (Bernburg, 6%). Messungen mit 3 – 10 – 20 – 30 – 50 – 70 - 100kD-Membranen. (In Kap 5.2. sind die 10 – 30 – 70kD-Kurven mit Extrapolationsdaten aufgeführt.)

Erst bei Membranen mit einem MWCO über 30kD bleibt auch bei der HES 200-Lösung nur noch ein geringer Rest-KOD; eine 40kD-Membran war leider nicht verfügbar! Die 70kD- und 100kD-Membran zeigen dabei ungefähr dieselbe Kinetik wie die 50kD-Membran und vermutlich ähnliche KOD-Endwerte (ca. 1,5 mmHg).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß HES 200 (6%) - Lösungen beträchtlich weniger hyperonkotisch sind als Dextran 40 (10%) - Lösungen. Das gegenüber dem Dextran 40 höhere mittlere Molekulargewicht des HES 200 bedingt einen mittleren MWCO, der zwischen der 20kD- und der 30kD-Membran zu suchen ist, wenn man annimmt, daß nahezu der volle onkotische Druck mit etwa 45 mmHg an der 3kD-Membran gemessen wird. Die 1kD-Membran war leider nicht eingesetzt worden! Die HES 200-Lösung scheint aufgrund der kolloidosmotischen Profile zur Volumentherapie besser geeignet als die Dextran 40-Lösung, da ein größerer Kolloidanteil oberhalb der Nierenschwelle (ca. 20.000 Dalton) liegt und somit länger positive rheologische Effekte bewirken kann. Kritisch in Bezug auf die Innenohrtherapie ist jedoch die extreme Hyperonkoazität der Dextran 40 (10%) - Lösung, denn ein erhöhter KOD des Blutplasmas ist eindeutig ein Risikofaktor zur Entstehung cochleo-vestibulärer Störungen (siehe Hampe [2000]). Die Infusion einer Dextran 40 (10%) - Lösung hebt den plasmatischen KOD zwangsläufig weiter an, vor allem bei hoher Infusionsgeschwindigkeit und -menge.

Die Abbildungen 4.5.6 bis 4.5.9 zeigen exemplarisch die KOD-Profile weiterer Plasma(Volumen)ersatzmittel, die allerdings im HNO-Bereich weniger zum Einsatz kommen.

Die Dextran 70-Lösung (Abb. 4.5.6) zeigt die erwarteten graduellen Unterschiede zur Dextran 40-Lösung (Abb. 4.5.2) : Die KOD-Kurven für die 1kD-, 3kD-, 5kD-, 10kD- und 20kD-Membranen liegen höher. Indessen wird auch hier der KOD_{30} -Wert infinitesimal klein ($< 2\text{mmHg}$), trotz der Herstellerangabe, daß das mittlere Molekulargewicht 70.000D beträgt. Die KOD-Sprünge zwischen der 10kD-, der 20kD- und der 30kD-Membran sind wiederum außerordentlich groß.

Weiterhin sei noch auf ein Kuriosum der „hypertonen Therapie“ aufmerksam gemacht : Unter vitaler Indikation, z.B. beim hämorrhagischen Schock, kann bei der hyperosmotischen Small-Volume-Resuscitation (4 ml 7,5%iger NaCl-Lösung/kgKG) durch zusätzliche Gabe der hoch hyperonkotischen Dextran 70 - (6%) Lösung die Überlebenschance weiter verbessert werden. Das eventu-

elle Schicksal des Innenohres, etc. ist dabei selbstverständlich ohne Interesse.

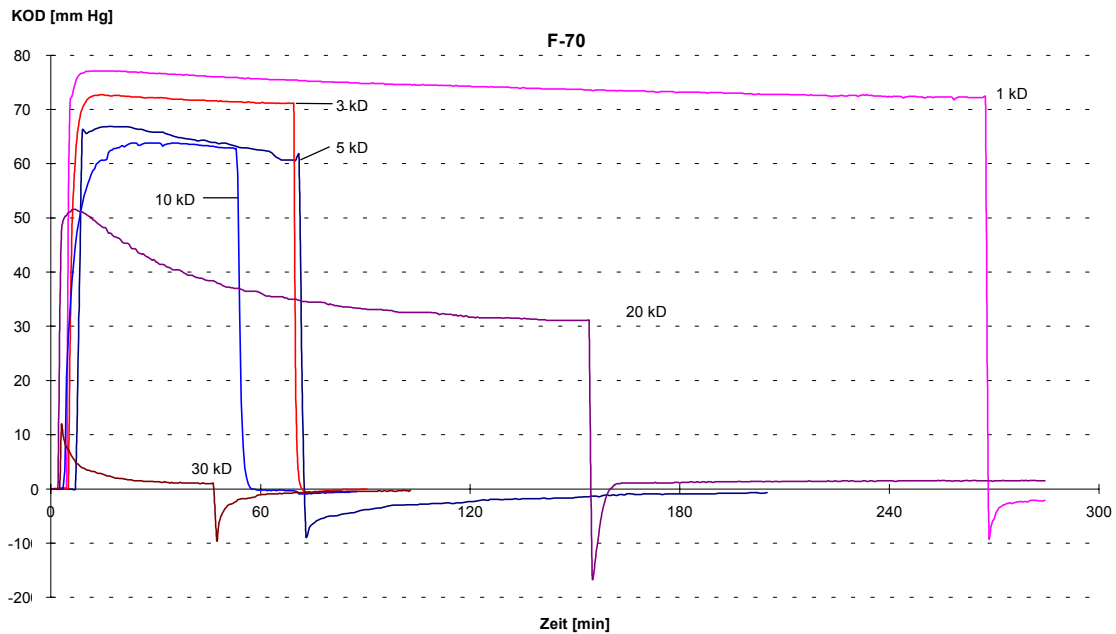


Abb. 4.5.6: Kolloidosmotisches Profil einer Dextran 70-Lösung (Fresenius, 6%), gemessen mit 1 – 3 – 5 – 10 – 20 – 30kD-Membranen.

Eine Lösung modifizierter Gelatine besitzt gemäß Abbildung 4.5.7 augenscheinlich einen hohen Anteil extrem kleiner Kolloide, wie der zeitliche Drift an der 1kD- und 3kD-Membran, sowie der geringere Anfangs-KOD an der 5kD-Membran erkennen lassen. Der mittlere MWCO (d.h. die Porenweite, welche noch 50 % des maximalen KODs zu erhalten erlaubt) dürfte $< 3\text{kD}$ betragen. Dennoch bleibt gegenüber den Dextran 40- und Dextran 70-Lösungen an der 20kD-Membran – selbst noch der 30kD-Membran – ein deutlich meßbarer KOD von ca. 7 bzw. 3 mmHg, also von Partikeln herrührend, die oberhalb der Nierenschwelle (ca. 20kD) liegen.

Ähnlich wie in der Gelatine 35 (3,5%) -Lösung (Abb. 4.5.7) sind in der HES 40 (6%) -Lösung (Abb. 4.5.8) sehr viele niedermolekulare Kolloide vorhanden. Allerdings wirkt bei der HES 40-Lösung oberhalb der Nierenschwelle, d.h. an der 10kD- und 20kD-Membran, auch längerfristig noch ein KOD von nahezu 30mmHg bzw. $>10\text{mmHg}$, der im Organismus eine gewisse Volumenwirk-

samkeit garantiert. Übrigens wurde diese HES 40-Lösung nach korrigieren-
der Angabe der Hersteller später als HES 70-Lösung angeboten!

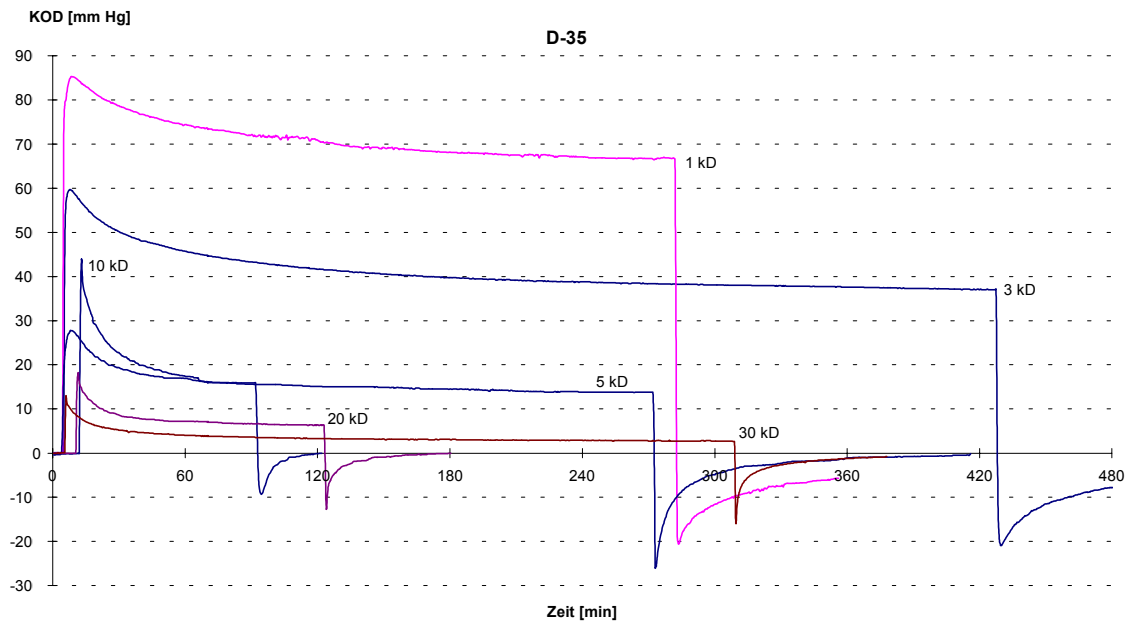


Abb. 4.5.7: Kolloidosmotisches Profil einer Gelatine 35-Lösung (Behring, 3,5%), gemessen mit 1 – 3 – 5 – 10 – 20 – 30kD-Membranen.

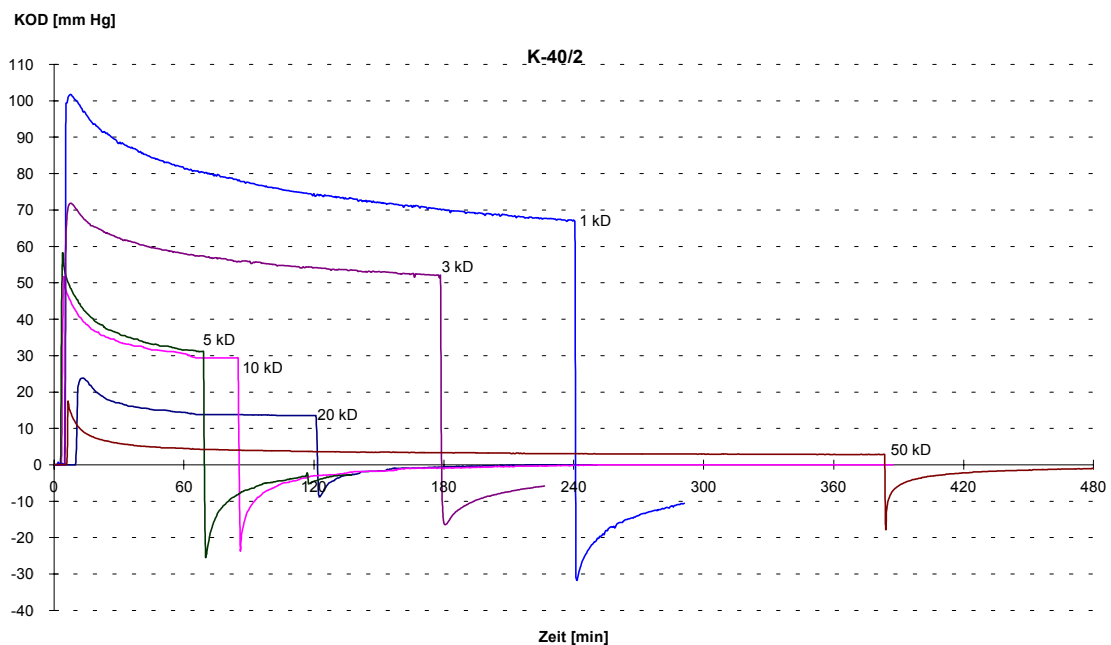


Abb. 4.5.8: Kolloidosmotisches Profil einer HES 40-Lösung (Kabi, 6%), gemessen mit 1 – 3 – 5 – 10 – 20 – 50kD-Membranen.

Bei der HES 450-Lösung (Abb. 4.5.9) wurde aus Zeitgründen leider nicht mit „kleinporigen“ Membranen (1kD, 3kD) gemessen. Somit können wir keine eindeutige Aussage über den maximalen KOD machen, da bereits die 10kD-Membran einen merklichen Anfangsdrift zeigt, dabei aber nach nahezu 10 Std. einen KOD-Endwert (von ca. 32mmHg) nahekann. Das vom Hersteller angegebene mittlere Molekulargewicht von 450.000 Dalton als Massenmittel liegt nach unseren Messungen weitab vom Zahlenmittel, also weitab von einer symmetrischen Partikelverteilung.

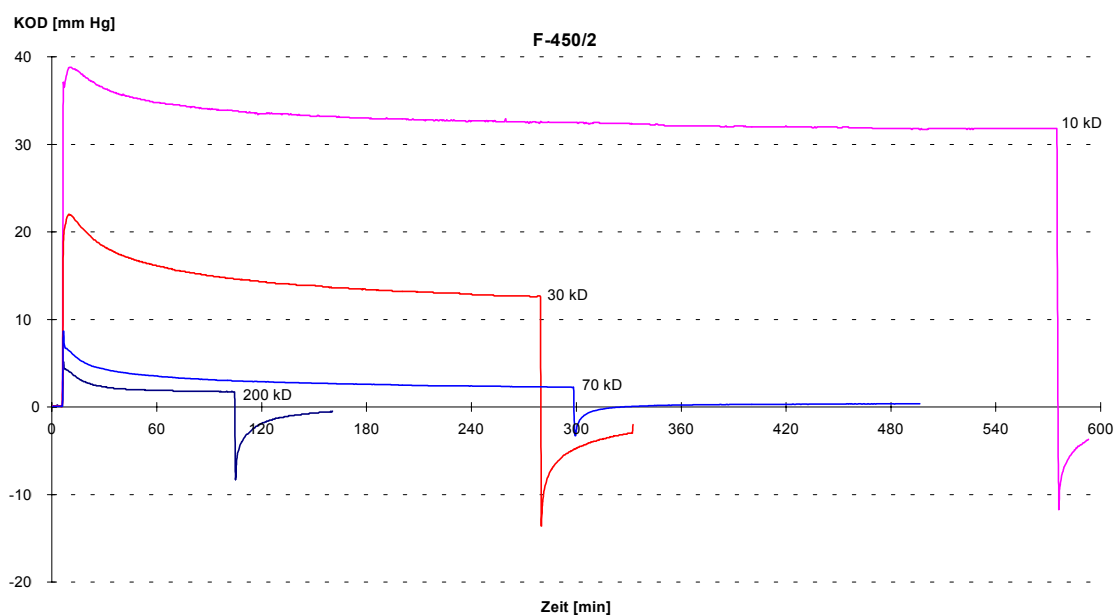


Abb. 4.5.9: Kolloidosmotisches Profil einer HES 450-Lösung (Fresenius, 6%), gemessen mit 10 – 30 – 70 – 200kD-Membranen.

Wir möchten nochmals darauf hinweisen, daß die in den vorgestellten KOD-Profilen abgebildeten Kurven nahezu nie zu Endwerten kommen. Obwohl sehr lange Meßzeiten – teilweise bis ca. 10 Stunden – eingehalten wurden, und obwohl anhand der Kurvenverläufe häufig keine großen KOD-Änderungen mehr zu erwarten waren, haben wir im Kapitel 5.2. exemplarisch für eine HES 200-Lösung (siehe Abb. 4.5.5) Extrapolationsdaten aufgeführt und rechnerisch-theoretische Endwerte dargestellt (siehe auch Kap. 3.6.).

5. Diskussion

5.1. Der KOD-Endwert als Ergebnis des Diffusionsgleichgewichts

Die Einstellung von Diffusionsgleichgewichten ist ein von Natur aus langsamer Vorgang [Andreoli et al. 1980, Katz 1985, Moore et al. 1986, Thews 1966], der – bei vorgegebener Temperatur – lediglich durch möglichst große Diffusionsflächen und zugleich möglichst kurze Diffusionswege zeitlich vorteilhaft gestaltet werden kann. Bei unseren KOD-Messungen waren uns indessen mit der Raumtemperatur, den Meßkammerdimensionen, den gewählten semipermeablen Membranen – und schließlich den zu prüfenden kolloidalen Lösungen selbst – alle Größen vorgegeben.

Der KOD-Wert im Gleichgewicht, der KOD-Endwert oder der sogenannte „End-KOD“, ist die stets gesuchte und aussagekräftigste Meßgröße. Er wird zeitlich um so eher (leichter) erreicht, je enger einerseits die Verteilung der kolloidalen Partikel ist, um so weiter weg diese andererseits von der mittleren Porengröße, dem Molecular Weight Cutoff (MWCO), der semipermeablen Membran liegt. Allerdings sind diese relativ seltenen Situationen zum Erkennen der physiologischen onkotischen Wirkungen der Plasma(Volumen)ersatzmittel nicht unbedingt die interessantesten.

Daher haben wir betont versucht, unter Einsatz von Membranen unterschiedlichster Porenweite das onkotische Verhalten der kolloidalen Lösungen quasi abzutasten und in sogenannten „KOD-Profilen“ darzustellen – wie für einige Beispiele bereits gezeigt.

Folgendermaßen haben wir uns bemüht, jeweils den KOD-Endwert zu finden:

- A - zeitaufwendiges Abwarten von Gleichgewichten oder Beinahe-Gleichgewichten
- B - mathematische Extrapolation der Meßkurven
- C - Schätzung aus späten flachen Kurvenverläufen
- D - ersatzweise Klassifizierung einer fraglichen Lösung nach ihrem halbmaximalen KOD aus dem gesamten KOD-Profil

In Abb. 5.1.1 ist der typische KOD-Verlauf einer 20kD-Membran dargestellt, wie sie für Routinemessungen an Blutplasma verwendet wurde. In diesem Fall hat sich das Gleichgewicht beinahe spontan eingestellt. Die Partikelgrößen der Plasmaeiweiße liegen also offensichtlich deutlich über der Größenordnung des MWCO der 20kD-Membran. Infolgedessen bildet das Verhalten kolloidaler Lösungen jeglicher Art an einer 20kD-Membran – an der auch mit Albumin-Lösungen rasch konstante Endwerte gefunden werden – ein kritisch wichtiges Kriterium.

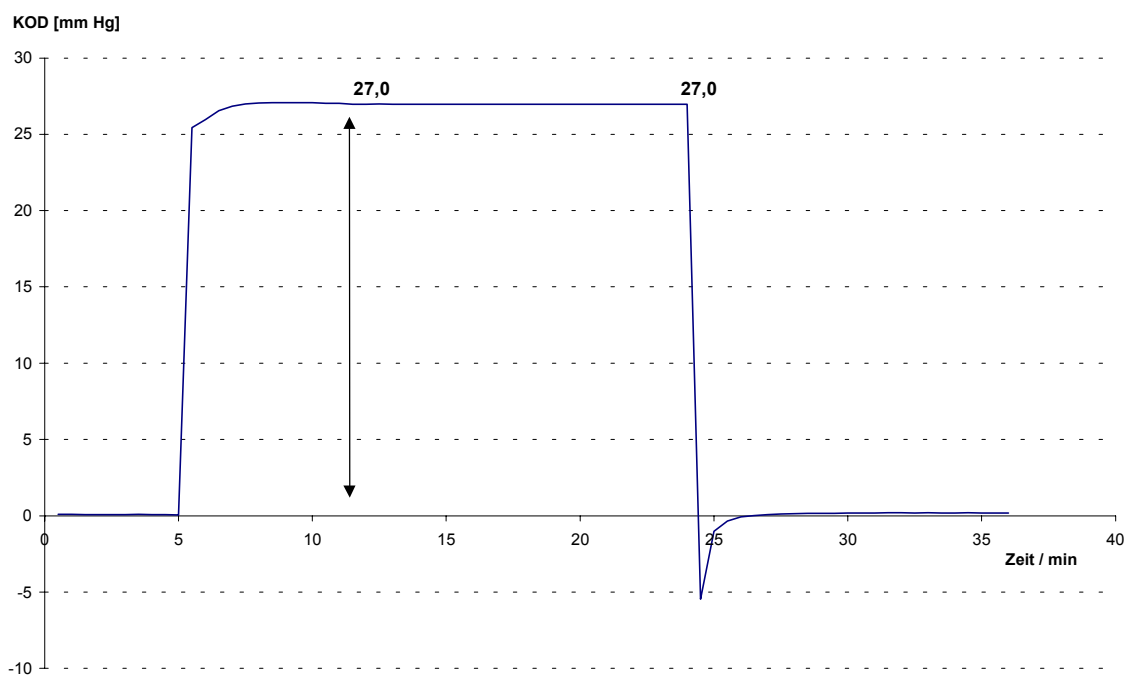


Abb. 5.1.1: Verlauf des KOD_{20} über etwa 20 min am Blutplasma eines Probanden. Gleichgewicht ist bereits nach 10 min erreicht.

Besonders bei den kolloidalen Plasma(Volumen)ersatzmitteln mit ihren unbestritten breiten Partikelgrößenverteilungen wird die meßtechnische Situation schwieriger : Infolge teils extrem langer Meßzeiten kann nur in Einzelfällen die Einstellung des Gleichgewichtes und damit der KOD-Endwert experimentell abgewartet werden.

Ein Kurvenverlauf, bei dem ein KOD-Gleichgewicht abgewartet wurde, ist derart für eine HES 200-Lösung in Abb. 5.1.2 dargestellt.

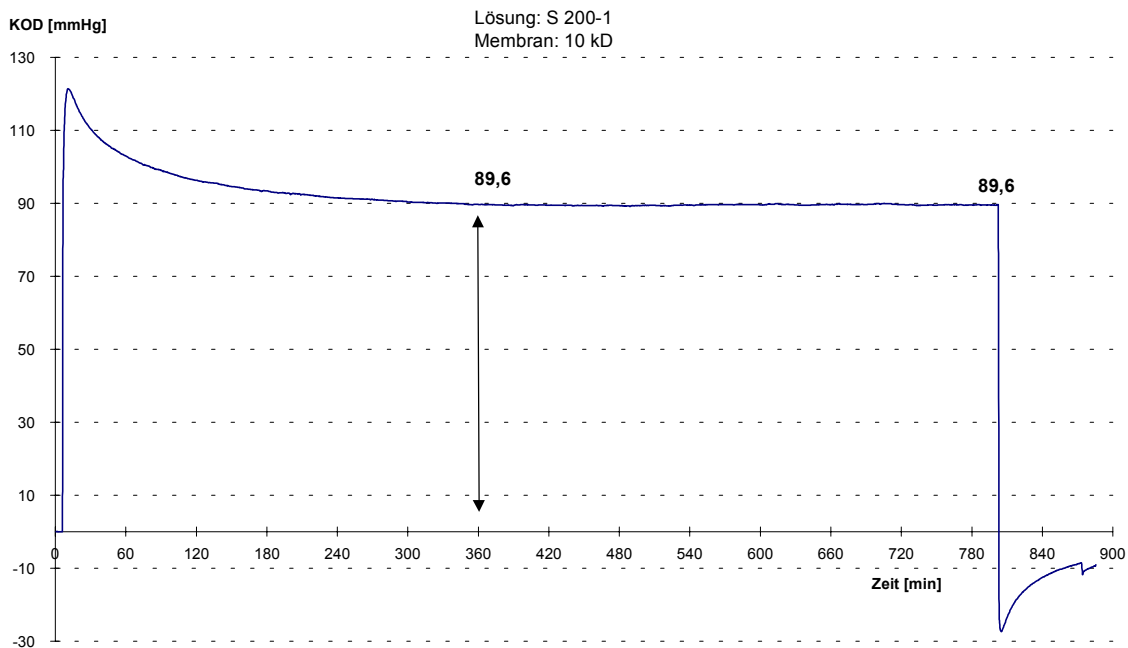


Abb. 5.1.2: Verlauf des KOD_{10} über mehr als 13 Stunden an einer HES 200-Lösung (Serag, 10%). Das Gleichgewicht ist nach etwa 6 Stunden erreicht.

In den ersten 2 Stunden fällt der KOD deutlich, was darauf hinweist, daß Kolloide, die kleiner als der MWCO der Membran sind, die Membran passieren. Nach ca. 6 Stunden ist das Diffusionsgleichgewicht, d. h. der KOD-Endwert, erreicht. Damit ist zugleich der Beweis für die absolute Dichtigkeit der Meßkammer erbracht – eine *conditio sine qua non* für eine zuverlässige Messung!

Einige solcher abgewarteter KOD-Gleichgewichte sind aus KOD-Profilen zu entnehmen, wie sie in Kapitel 4.3. und 4.4. gezeigt worden sind:

- für Humanalbumin (Abbn. 4.3.3 und 4.3.4) an 3-5-8-10-20kD-Membranen;
- für Biseko[®] (Abb. 4.3.6) an der 10kD-Membran;
- für Blutplasma (Abb. 4.4.1) an 1-10-20kD-Membranen.

Um bei akzeptablen Meßzeiten verlässliche KOD-Endwerte zu finden, war ein Extrapolationsprogramm erforderlich. Durch Herrn Prof. v. Golitschek (Institut für Angewandte Mathematik, Universität Würzburg) konnte ein Ansatz erar-

beitet werden zum bestmöglichen Kompromiß zwischen rechnerischem Aufwand und erreichter Genauigkeit (siehe Kap.3.6.). Im folgenden werden derart die bereits in Kap. 4.4. und 4.5. diskutierten Lösungen mit Extrapolationsdaten näher vorgeführt.

Das KOD-Profil der Albumin-Lösung (Abb. 5.1.3) zeigt mit dem Verlauf der extrapolierten 20 kD-Kurve deutlich die Grenzen der Methoden. Die berechnete Kurve ist nicht realistisch. Ursache dürfte der zu kurz gewählte Meßzeitraum mit Störwerten sein. Ein Beispiel einer gelungenen Extrapolation ist die 30 kD-Kurve. Die Berechnung führt zu einem stabilen KOD-Endwert von 15,84 mmHg bereits kurz nach Abbruch der Messung. Die 50 kD-Kurve erreicht einen KOD-Endwert bei 4,75mmHg erst nach etwa 24 Stunden.

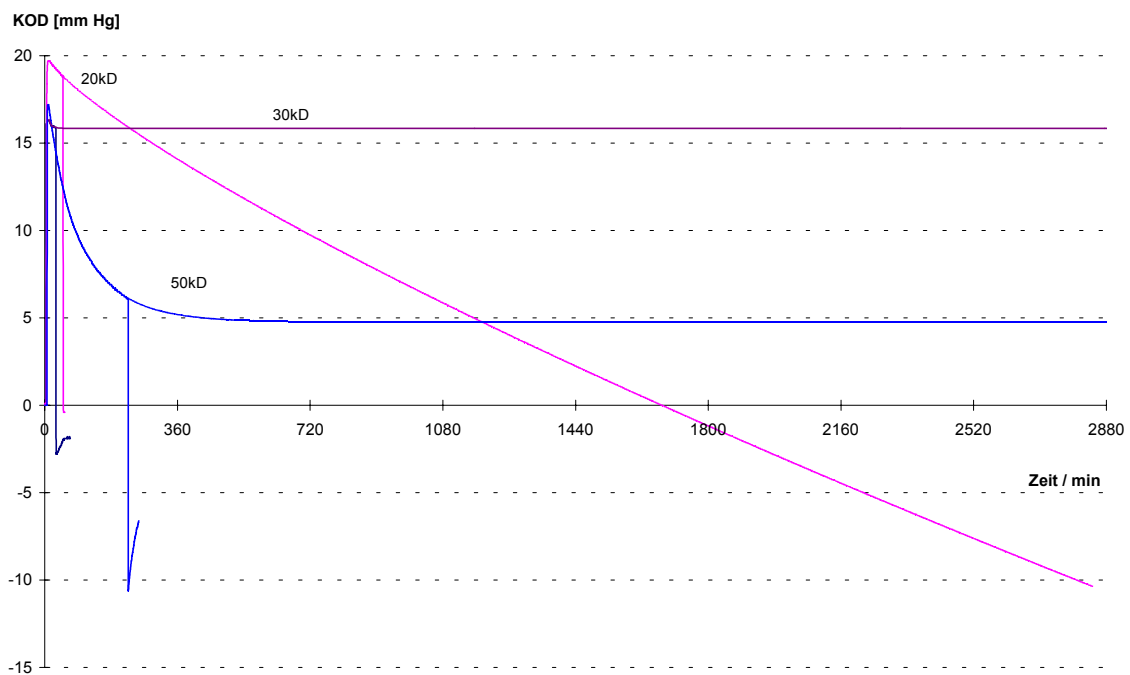


Abb. 5.1.3: KOD-Profile einer Albumin-Lösung (5%, Thomae) mit Extrapolation, gemessen mit 20-, 30- und 50kD-Membranen (für die 30- und 50kD-Kurven vgl. Abb. 4.3.4).

Die extrapolierten Biseko[®]-Kurvenverläufe (Abb. 5.1.4) zeigen für die 70 kD-Membran einen bereits während der Meßzeit erreichten KOD-Endwert von 1,46 mmHg. Die 50 kD-Kurve liegt bei 6 Stunden nur um 0,1 mmHg höher als

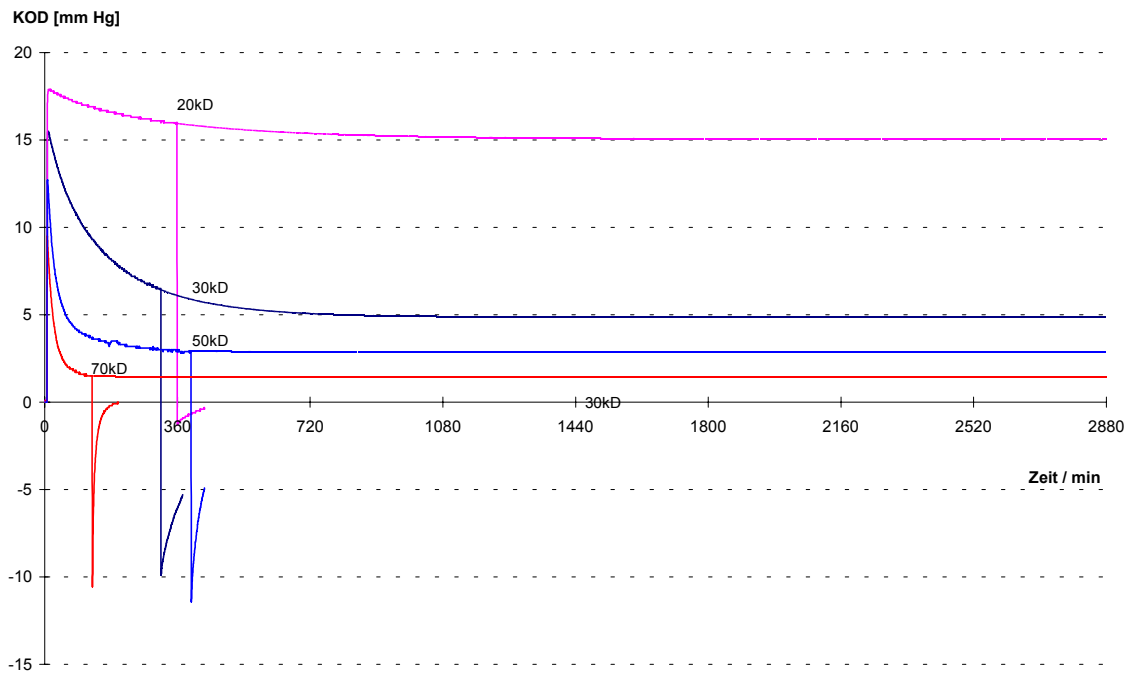


Abb. 5.1.4: KOD-Profile einer Biseko[®]-Lösung (BIOTEST) mit Extrapolation, gemessen mit 20-, 30-, 50- und 70 kD-Membranen (vgl. Abb. 4.3.6.)

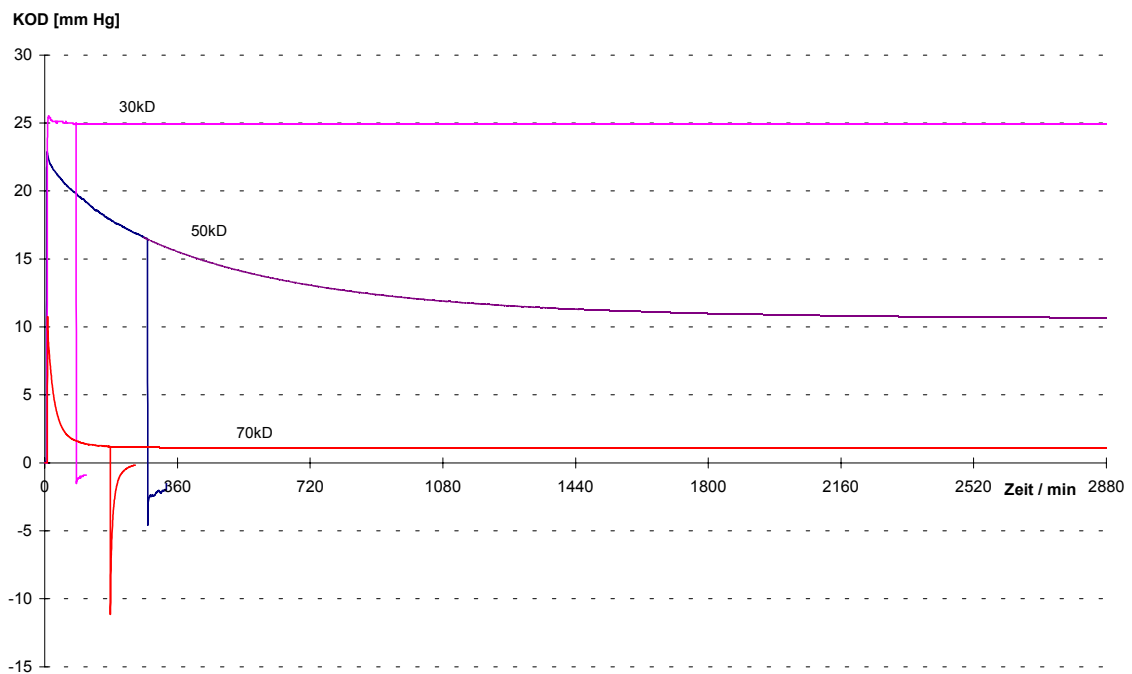


Abb. 5.1.5: KOD-Profile vom Blutplasma eines Probanden mit Extrapolation, gemessen mit 30-, 50- und 70kD-Membranen (vgl. Abb. 4.4.1)

der rechnerische KOD-Endwert bei 48 Stunden. Bei der 30kD- und der 20kD-Kurve setzen sich rechnerisch die Kinetiken fort, die aber beide nach 48 Stunden einem KOD-Endwert entsprechen.

Bei der Betrachtung des extrapolierten KOD-Profiles des Probandenplasmas (Abb. 5.1.5) fällt auf, daß für die 30kD- und 70kD-Membran praktisch bereits während der Messung ein KOD-Endwert erreicht war. Die 50kD-Kurve setzt sich indessen nach Meßende noch über mehr als 12 Stunden in harmonischem Abfall fort und scheint erst nach etwa 48 Stunden einen stabilen KOD-Endwert von 10,67 mmHg erreicht zu haben.

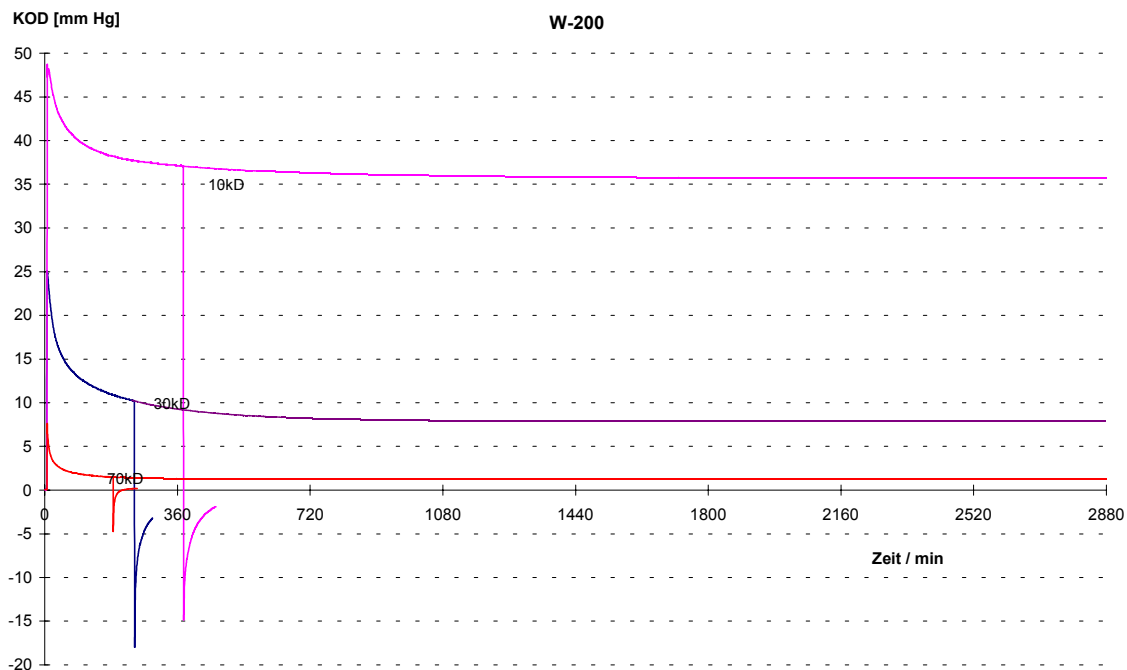


Abb. 5.1.6: KOD-Profil einer HES 200-Lösung Bernburg (6%) mit Extrapolation, gemessen mit 10-, 30- und 70kD-Membranen (vgl. Abb. 4.5.5).

Mit Abbildung 5.1.6 seien noch drei eindrucksvoll gelungene Extrapolationen für eine 6%ige HES 200-Lösung präsentiert, mit folgenden KOD-Endwerten : 10kD-Membran nach 30 Std. zu 35,68 mmHg; 30kD-Membran nach 42 Std. zu 7,81 mmHg; 70kD-Membran nach 30 Std. zu 1,25 mmHg. Die 3kD-Kurve gemäß Abb. 4.5.5 konnte leider nicht extrapoliert werden; ihr ungefähre Endwert läßt sich per Auge auf ≤ 45 mmHg schätzen. Mit der 1kD-Membran,

welche vermutlich einen Eindruck vom maximal möglichen KOD verschafft hätte, wurde bedauerlicherweise nicht gemessen.

Zeit [min]		360	720	1440	2880	Bemerkungen
Albumin (Abb. 5.1.3)	20kD	14,09	9,78	2,27	n.m.	Fehlmessung
	30kD	15,84	15,84	15,84	15,84	Endwert erreicht
	50kD	5,18	4,78	4,75	4,75	Endwert erreicht
Biseko (Abb. 5.1.4)	20kD	15,95	15,38	15,09	15,03	Endwert erreicht
	30kD	6,11	5,07	4,86	4,85	Endwert erreicht
	50kD	2,97	2,87	2,87	2,87	rasch Endwert
	70kD	1,46	1,46	1,46	1,46	nahe Meßgrenze
Plasma (Abb. 5.1.5)	30kD	24,89	24,89	24,89	24,89	rasch Endwert
	50kD	15,53	13,06	11,33	10,67	ca. Endwert
	70kD	1,13	1,13	1,13	1,13	nahe Meßgrenze
W200 (Abb. 5.1.6)	10kD	37,13	36,30	35,82	35,68	Endwert erreicht
	30kD	9,28	8,22	7,88	7,85	Endwert erreicht
	70kD	1,29	1,24	1,24	1,24	nahe Meßgrenze

Abb. 5.1.7: Extrapolierte KOD-Werte (in mmHg) verschiedener Lösungen mit Zeitschnitten bei 360, 720, 1440 und 2880 min gemäß Abb. 5.1.3 bis 5.1.6.

5.2 Abschätzung von Partikelgrößenverteilungen aus KOD-Profilen

Dem Anwender kolloidaler Infusionslösungen steht seitens des Herstellers in der Regel nur die Angabe „Mittleres Molekulargewicht“ zur Verfügung. Es ist eine dürftige Angabe, in mehrerlei Hinsicht: Meist ist die Partikelverteilung außerordentlich breit und überdies nahezu immer stark asymmetrisch (kleine Partikel in Überzahl bei weit auslaufendem Kurvenende im hochmolekularen Bereich; siehe z.B. Abb. 5.2.1). Andererseits bleibt oft unklar, ob das Zahlenmittel (=arithmetisches Mittel) der Molmassen M_n oder das Massenmittel der Molmassen M_m , oder nochmals eine andere Größe wie etwa das wahrscheinlichste Molekulargewicht M_w (das Molekulargewicht, welches am häufigsten auftritt), das mediane Molekulargewicht, etc., gemeint ist.

$$M_n = \frac{\sum n_i M_i}{\sum n_i}$$

Das Zahlenmittel der Molmassen M_n überbewertet die kleinen Massen und ist aus den kolligativen Eigenschaften einer Polymerlösung bestimmbar : Gefrierpunkt- oder Dampfdruckerniedrigung, Siedepunkterhöhung, osmotischem oder kolloidotischem Druck. Der Meßbereich liegt zwischen MW 30.000 bzw. 1.000.000.

$$M_m = \frac{\sum n_i M_i^2}{\sum n_i M_i}$$

Hier wird mit den Massen absolut gerechnet; M_m kann aus der Lichtstreuung, durch Verteilungs-/Ausschluß-Chromatographie oder Gradientenzentrifugation errechnet werden (Nach Moore und Hummel [1986,Kap.23]).

Stets ist $M_n < M_m$; Für HES 450 als Plasmasteril[®] (60g/l) wird beispielsweise angegeben : M_n 71.000, M_m 450.000.

n_i = Molzahl, Anzahl Mole einer Spezies i ; M_i = Molmasse (g/Mol) einer Spezies i ;

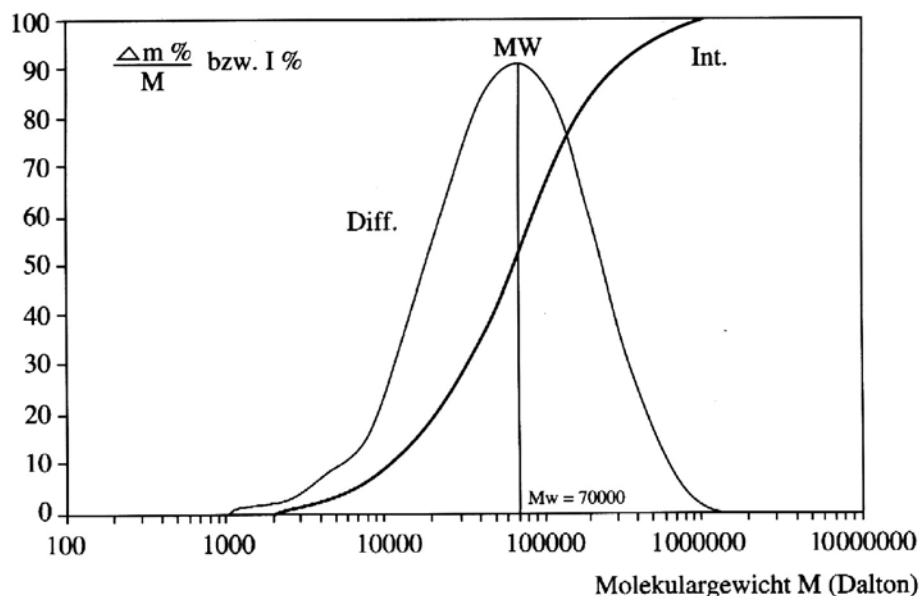
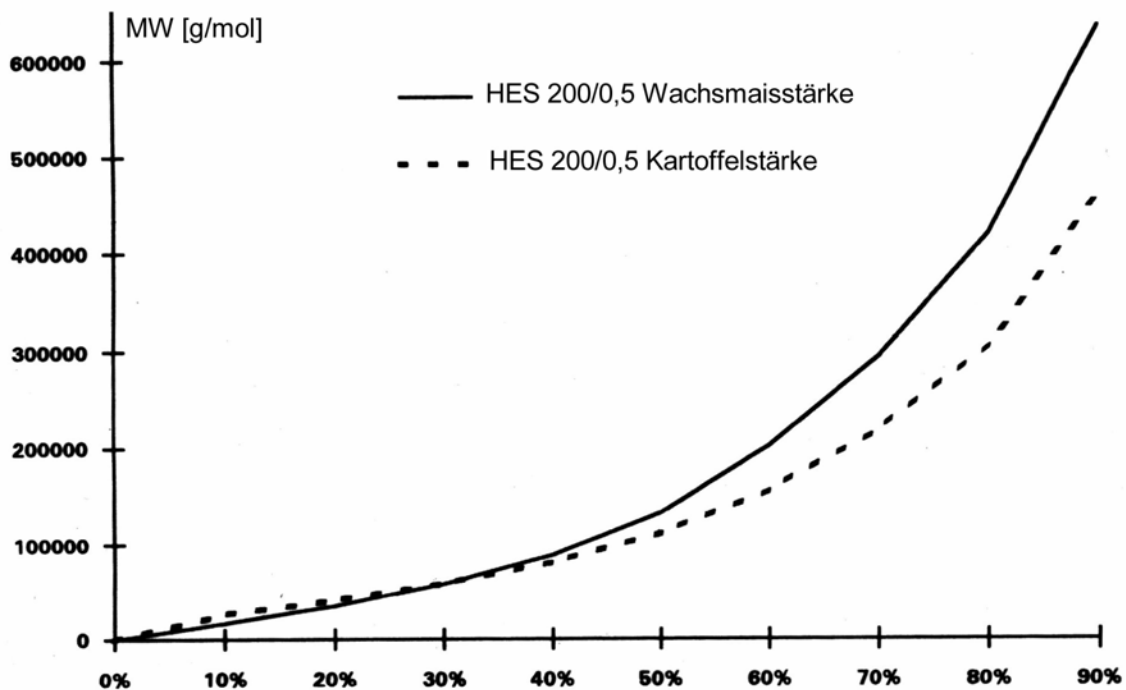


Abb. 5.2.1: Die stark asymmetrische Molekulargewichtsverteilung von „niedermolekularem HES“ HES 70 (früher „HES 40“ = Expafusin[®]). Beachte die logarithmische Darstellung! „Int., Diff.“ bedeuten Verteilung integral bzw. differential. Nach dem Werbe-prospekt der Firma KABI-PFRIMMER-Pharmacia.

Ein Beispiel für die Leistungsfähigkeit der Laser-Nephelometrie gibt Abb. 5.2.2, in welcher die Molekulargewichtsverteilungen formal gleich spezifizierter HES 200/0,5-Proben aus Wachsmaisstärke und Kartoffelstärke einander gegenübergestellt sind. Nach dieser Untersuchung von 1993 hatte das Kartoffelstärke-HES das kleinere Massenmittel M_m und den geringeren Anteil an Höchstmolekularen, war also bezüglich der Speichereffekte als günstiger zu beurteilen.



	HES Wachsmaisstärke	HES Kartoffelstärke
Mittleres Molekulargewicht MW	264.910	197.440
%-Fläche aus Verteilungskurve	Molekulargewicht bezogen auf %-Fläche *)	
10%	17.146	26.591
20%	35.171	41.355
30%	58.259	59.923
40%	88.930	81.248
50%	132.928	111.904
60%	200.196	155.650
70%	293.334	216.563
80%	419.023	304.633
90%	636.726	459.158

*) Prüfvorschrift: GPC-Lichtstreu-Kopplung Wyatt Dawn F/RI; dn/dc 0,144; linearer Fit im niedermolekularen Bereich

Abb. 5.2.2: Kumulative Molekulargewichtsverteilungen von HES 200/0,5 aus handelsüblicher Wachsmaisstärke und aus Kartoffelstärke in 10%-Intervallen der Flächen der Verteilungskurven. Aus der Produktinformation der Firma Serag-Wiesner GmbH [1993]

Ähnliche graphische Darstellungen erhält man – allerdings für das Zahlenmittel der Molmassen M_n – wenn man aus einem KOD-Profil KOD-Endwerte gegen die Ausschlußgrenzen der Membranen aufträgt. Das KOD-Profil für ein HES 200/0,5 aus Kartoffelstärke war mit Abb. 4.5.5 gezeigt worden. Aus den insgesamt fünf von uns ausführlich vermessenen unterschiedlichen HES 200/0,5 (6%)-Proben konnten mittlere KOD-Endwerte gemäß Abb. 5.2.3 geschätzt werden.

Membran (kD)	3	10	20	30	50	70	100	200
End-KOD (mmHg)	45	39,5	31,5	9,5	4,0	2,5	2,0	1
n	1	3	4	3	4	3	5	1

Abb. 5.2.3: Aus unseren KOD-Messungen an fünf HES 200 (6%)-Proben ermittelte ungefähre KOD-Endwerte.

Die Ergebnisse einer weiteren Laborarbeit (Laser-Nephelometrie!) zur Molekulargewichtsverteilung diverser HES-Chargen seien mit Abb. 5.2.4 tabellarisch vorgestellt. Heraussortiert sind jeweils mit 10% die höchst- und die niedrigstmolekularen Anteile als sogenannte Spitzen- und Bodenfraktion; die Hauptfraktion umfaßt damit 80%.

Handelsname Generic Name Abkürzungen	Molmassenverteilung (M_m)		
	Hauptfraktion 175.000-225.00	Spitzenfraktion MG 10%, max. 600.000	Bodenfraktion MG 90%, min. 20.000
Infukoll® HES 200/0,5 10% u. 6% W-200; W-200/2	(n=5) 199.680 ± 3.580	(n=8) 459.567 ± 10.003	(n=8) 25.329 ± 2.68
HAES-steril® HES 200/0,5 6% F-200/1	?	527.386	23.776
Hemohe® 6% HES 200/0,45-0,55 B-200/2	?	549.942	28.687
Rheohe® 6% HES 70/0,5 B-70	?	134.204	11.083

Abb. 5.2.4: Zur Molmassenverteilung einiger HES-Spezialitäten (1. Zeile : aus Kartoffelstärke, 2. – 4. Zeile : aus Wachsmaisstärke) nach Labormessungen (Laser-Nephelometrie) Serumwerk Bernburg.

Unsere Methode, biologische und synthetische kolloidale Infusionslösungen systematisch onkometrisch zur Erstellung von KOD-Profilen zu überprüfen, ist in dieser Form neuartig. Der prinzipielle Vorteil der Methode besteht darin, daß eine für den kapillären Austausch wichtige physiologische Größe – der kolloidosmotische Druck – unmittelbar gemessen wird.

Einen unseres Wissens ersten diesbezüglichen Ansatz lieferten Webb et al. [1989] für verschiedene Plasma(Volumen)ersatzmittel. Die unterschiedlichen Partikelgrößenverteilungen wurden durch KOD-Messungen mit 10kD und 50kD-Membranen untersucht. Die Lösungen wurden mit dem Quotienten des KOD_{50} - und KOD_{10} -Wertes charakterisiert. Ein kleiner KOD_{50}/KOD_{10} -Quotient bedeutet einen hohen Anteil an Niedermolekularen. Beim Vergleich der Quotienten schien Gelofusine® (Gelatine 4%) unter diesem Aspekt am ehesten dem Bezugsobjekt Albuminlösung zu entsprechen. Vergleiche dazu unsere weitergehenden Aussagen gemäß Abb. 4.5.7 und Abb. 4.3.4!

Da der kolloidosmotische Druck eine kolligative Eigenschaft einer Kolloidlösung ist, sollte der KOD proportional zur Anzahl der wirksamen Partikel sein, so daß man von „völlig undurchlässig“ bis zu „vollständig permeabel“ eine Prozent-Skalierung durchführen kann, wie dies in Abb. 5.2.5 in einer ersten Übersicht geschehen ist.

Abbildung	4.3.4		4.3.6		4.4.1		4.5.5		4.5.2	
Membran	Albumin		Biseko®		Blutplasma		HES 200		Dextran 40	
	Wert	Zeit	Wert	Zeit	Wert	Zeit	Wert	Zeit	Wert	Zeit
1 kD	-	-	-	-	100%	86	-	-	100%	210
3 kD	-	-	-	-	-	-	100%	88	<98%	95
10 kD	100%	40	100%	45	98%	55	80%	375	<70%	140
20 kD	90%	20	<85%	360	92%	53	<<70%	50	33%	110
30 kD	81%	30	<<35%	320	<80%	100	22%	245	<1%	150
50 kD	<30%	225	≤13%	400	<<55%	280	-	-	-	-
70 kD	3%	105	≤6%	130	8%	175	4%	190	-	-

Abb. 5.2.5: Gegenüberstellung von KOD-Werten mit den zugehörigen Meßzeiten zu den in den Kapiteln 4.3. bis 4.5. gezeigten kolloidosmotischen Profilen. (Der KOD-Wert der jeweils feinstporigen verwendeten Membran wurde auf 100% gesetzt; Zeitangaben in Minuten).

Unsere Rohdaten gemäß Abb. 5.2.5 zeigen, daß eine physiologische Albumin-Lösung – wie zu erwarten – am ehesten dem KOD-Profil eines Probanden-Plasmas entspricht, während die Biseko-Lösung relativ viele Anteile enthält, welche kleiner als das Albumin-Molekül sind. Diese „standardisierte Human-serumproteinlösung“ ist also keineswegs eine optimierte Humanplasmaersatzlösung!

Theoretisch war bei der Albumin-Lösung ein sehr einfaches KOD-Profil zu erwarten : Der gesamte kolloidosmotische Druck sollte durch Albumin-Moleküle nahezu gleichen Molekulargewichts (63.000 - 69.000 Dalton) erzeugt werden. Damit sollte der maximale KOD bis zu Membranen vom MWCO etwa 60kD wirken und über dieser Grenze (d. h. ab der 70kD-Membran) kein merklicher KOD mehr vorhanden sein. In der Tat fällt der KOD aber bereits beim Übergang von der 10kD-Membran (KOD = 100%) zur nächst größeren Membran (20kD), etc.. Dafür gibt es folgende Erklärungsmöglichkeiten : 1) Vorhandensein kleinerer Kolloide, z.B. Präalbumin und/oder Abbauprodukte des Albumins. 2) Die Membranen haben keine derart exakt definierte Porengröße, wie dies durch die Angaben eines MWCO durch die Hersteller suggeriert wird. Nach den Abbildungen 1.5 und 1.6 kann diese Einschätzung auch nachvollzogen werden. 3) Molekülgestalt und Gewicht gehen nicht nahtlos konform (Albumin etwa ist globulär, siehe Abb. 4.1). Trotzdem kann am KOD-Profil der Albumin-Lösung folgendes beobachtet werden (vgl. Abb. 4.3.4 und 5.1.3) : Während die 20kD-Membran noch 90% des KOD der 10kD-Membran „erzeugt“, und die 30kD-Membran noch 81%, fällt der KOD an der 50kD-Membran auf unter 30% mit sehr langsamer Kinetik. D. h. die Porengröße der 50kD-Membran liegt ungefähr im Größenbereich des Albumin-Moleküls. Der KOD_{70} schließlich beträgt nur noch 3% vom KOD_{10} , und man kann davon ausgehen, daß diese Membran für Albumin frei permeabel ist.

Bei der Beurteilung des Blutplasmas des Probanden ergibt sich : Der KOD_{20} mit 92% und der KOD_{30} mit weniger als 80% des KOD_1 -Wertes sind nahezu identisch mit den Albuminwerten (90% bzw. 81%, jedoch bezogen auf den KOD_{10}). Dies verdeutlicht die wesentliche Rolle des Albumins als Träger des plasmatischen KOD. Ein Unterschied in der richtigen Richtung wird in der

langsameren Kinetik und im höheren Wert des KOD_{50} sichtbar (<55% gegenüber <30% bei der Albumin-Lösung). Dies ist auf den Anteil hochmolekularer Proteine des Blutplasmas zurückzuführen, welche von der 50kD-Membran zurückgehalten werden. Auch der KOD_{70} ist mit 8% höher als der Wert der Albumin-Lösung (3%).

Von den Plasma(Volumen)ersatzmitteln entspricht die HES 200-Lösung bei breiterem Dynamikbereich grob näherungsweise den physiologischen Verhältnissen des Blutplasmas, besser aber der Biseko-Lösung. Die Dextran 40-Lösung enthält einen so hohen Anteil an Niedermolekularen, daß bereits an der 30kD-Membran nur noch weniger als 1% des KOD der 1kD-Membran wirken.

Und die Frage ist durchaus offen, ob optimale Plasma(Volumen)ersatzmittel in ihren KOD-Profilen dem Blutplasma angepaßt sein sollen, oder nicht! Um es nochmals zu verdeutlichen : Das Gewichtsmittel der Molmassen M_m ist die wichtige und richtige Größe zur Beurteilung des Risikos einer Rückhaltung und Speicherung im Organismus. Das Zahlenmittel der Molmassen M_n dagegen ist das adäquate Maß für die Onkosität, gegebenenfalls für die Hyperonkosität und auch die Hyperosmolarität (die Übergänge je nach Membranporigkeit sind ja fließend!).

Die Hoffnung, aus den sauber meßbaren KOD-Kurven, mit den für sich genommen exakt richtigen und wichtigen experimentellen KOD-Werten, auf die Häufigkeitsverteilung kolloidaler Partikel unterschiedlicher Größe, also das kumulative Zahlenmittel M_n der Molmassen, schließen zu können, muß etwas gedämpft werden :

Aus Abb. 4.1.7 wissen wir, daß an Proteinlösungen, die an dichten Membranen gegen niedermolekulare Lösungen onkometriert werden, bei 20 gTP/l ein nichtlinearer KOD-Zuwachs einsetzt, der bei 80 gTP/l bereits ein Plus von 70% ausmacht. Wie sich Lösungen von Gelatinen, Dextranen und Hydroxyethylstärken bei solchen Konzentrationen verhalten, ist uns unbekannt und müßte mit umfangreichen Verdünnungsreihen geprüft werden. Noch weniger durchsichtig wird die Situation an partiell permeablen Membranen, bei denen sich der Anteil an permeablen Kolloiden mit der Unterkammer ins

Gleichgewicht gesetzt hat. Ursächlich ist ja immer der „Kampf“ der Kolloide um die nicht unbeschränkte Anzahl der Wassermoleküle! Mit anderen Worten, wenn wir in den KOD-Profilen die End-KOD-Werte in Prozent des maximalen KOD (= keine Permeation kolloidaler Partikel) angeben, so sind diese Prozentwerte nur rohe Richtwerte für den Prozentsatz der nicht permeablen Partikel.

Aber für eine anspruchsvolle Onkometrie bestehen derzeit auch noch Probleme technischer Art : 1) im Bereich 5(10)kD bis 80(100)kD ist das Membranangebot nicht eng genug gefächert; 2) der Toleranzbereich der Porigkeit ist zu groß, wie bereits in Kap. 3.4 erwähnt. Eine Zukunftsperspektive bezüglich sehr scharf definierter Porigkeit bieten beispielsweise die „Nanotubes“ nach Nesper et al. [2001]; 3) die Empfindlichkeit und der Meßbereich der Onkometrie, insbesondere zu kleinen und kleinsten Druckdifferenzen, sollten ausgebaut werden.

Abschließend sei in zwei Bildern dennoch die Leistungsfähigkeit der Onkometrie demonstriert : In Abb. 5.2.6 ist die KOD-Kurve einer handelsüblichen Dextran 40 (10%)-Lösung mit 10%igem Mannitol-Zusatz an einer 1kD-Membran zu sehen. Der scharfe rasche Anfangspeak kommt dem niedermolekularen Mannitol (MW 182) zu, das infolge endlicher Permeationszeit für einige Minuten an der relativ engen 1kD-Membran einen enormen osmotischen Druck aufbaut. Ähnliche Verhältnisse dürften an den Blutkapillaren des Hirnkreislaufs herrschen, wenn mit hypertonen Harnstoff-, Glycerol- oder Mannitol-Lösungen notfallmäßig entwässert wird. Der weitere Kurvenverlauf kommt allein dem Dextran 40 zu (vgl. Abb. 4.5.2). Das gute Funktionieren des Systems zeigt sich in der Spülphase, in welcher der scharfe Peak reziprok erscheint. Um die Dynamik des Primärpeaks fassen zu können, war die Lösung 1 : 3, also auf $\frac{1}{4}$ der ursprünglichen Konzentration, verdünnt worden.

Abb. 5.2.7 zeigt die gleiche Dextran 40-Lösung mit Mannit-Zusatz, diesmal in der Kinetik einer 5kD-Membran im Vergleich zur analogen mannit-freien Lösung. Die 1 : 1-Verdünnungen waren etwas grob gemacht worden, so daß ein belangloser Versatz beider Kurven zustande kam.

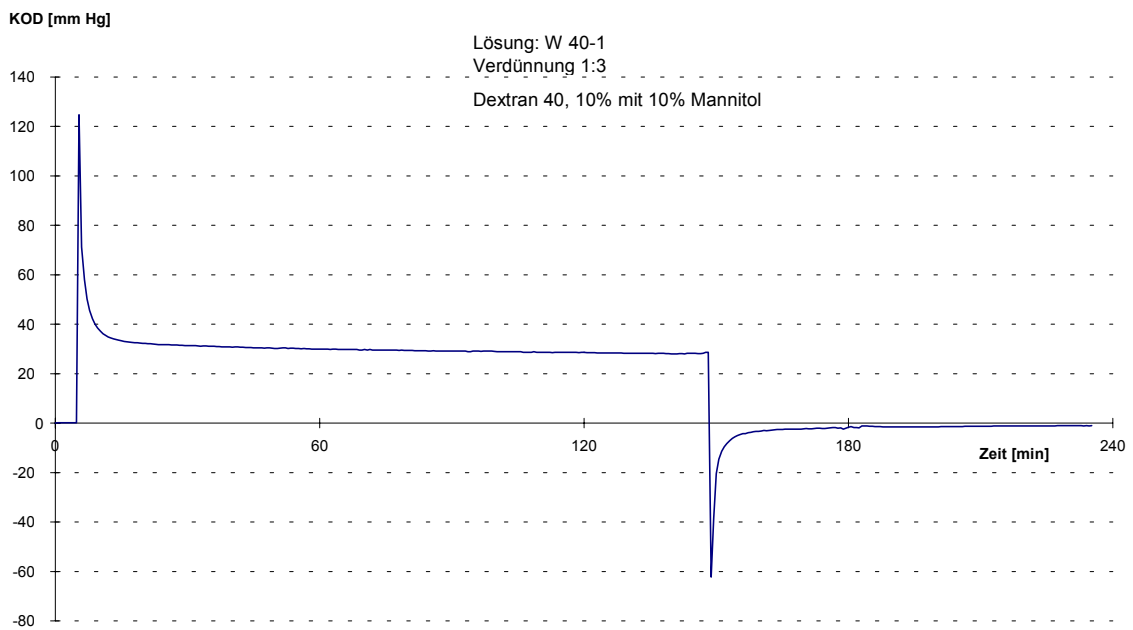


Abb. 5.2.6: Kinetik einer Dextran 40-Lösung mit Mannitzusatz an einer 1kD-Membran (Dextran 40 (10%) plus 10% Mannit; Serumwerk Bernburg); Originallösung 1 : 3 verdünnt.

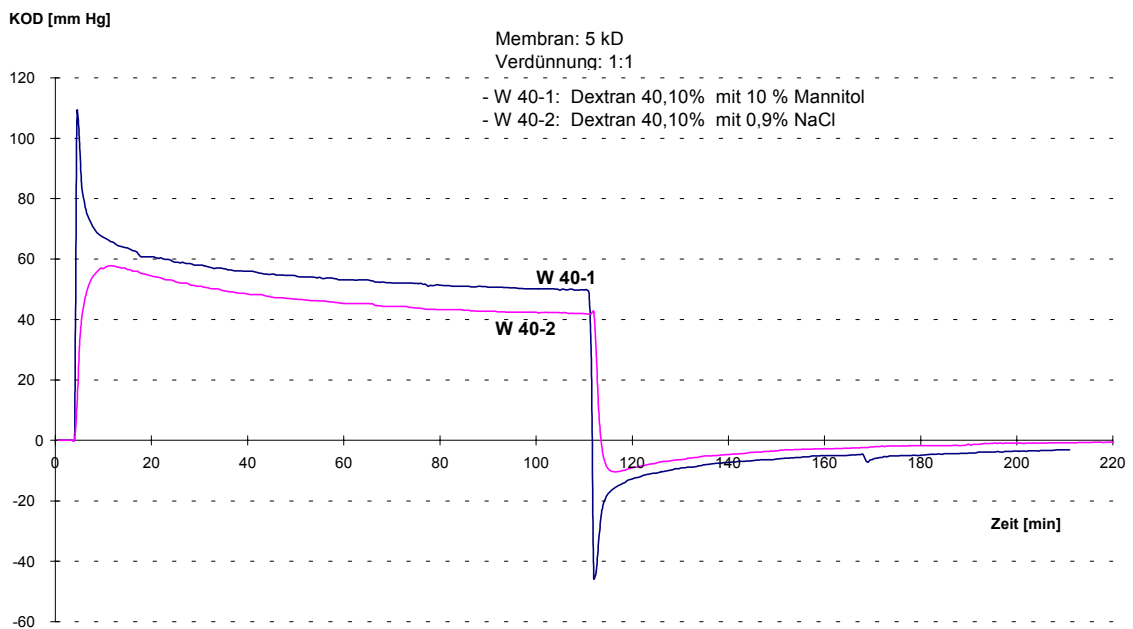


Abb. 5.2.7: KOD-Kinetiken zweier analoger Dextran 40-Lösungen mit bzw. ohne Mannitzusatz an einer 5kD-Membran (Serumwerk Bernburg; 10%); Originallösung 1 : 1 verdünnt.

5.3. Korrelationsversuche des plasmatischen KOD mit diversen Parametern

Im Zusammenhang mit den KOD₂₀-Messungen von Patienten und Probanden wurde versucht, das Gesamteiweiß, hämatologische Größen, die Blutsenkungsgeschwindigkeit, sowie den Blutdruck jeweils mit dem plasmatischen KOD₂₀ zu korrelieren (siehe auch Hampe [2000]).

Gesamteiweiß

In Kapitel 4.3. wurde die Korrelation zwischen KOD₂₀ und dem Gesamteiweiß des Plasmas aufgezeigt. Die Steigung der Regressionsgeraden (siehe Abbn. 4.3.7 und 4.3.8) läßt Rückschlüsse auf den Albumin- / Globulinquotienten zu : Je flacher die Regressionsgerade (z. B. die der Hörsturzpatienten im Vergleich zu den Probanden), umso langsamer steigen die KOD₂₀ - Werte mit der Menge des Gesamteiweißes; d. h. die Eiweißzusammensetzung ändert sich. Diese Beobachtung läßt nur zwei Schlußfolgerungen zu : Zum einen wäre denkbar, daß das Plasmagesamteiweiß mehr niedermolekulare Bestandteile (Molekulargewicht <20kD) enthält, welche die 20kD-Membran passieren können. Allerdings weisen die wichtigsten Proteine des Plasmas weitaus höhere Molekulargewichte auf (siehe Anhang bei Hampe [2000]), so daß eine Proteinverschiebung des Plasmas zugunsten sehr niedermolekularer Bestandteile unter 20kD unwahrscheinlich erscheint; zudem sollten die absoluten KOD₂₀ - Werte dann unter dem Normalwert liegen. Die andere Möglichkeit ist, daß sich das Plasmagesamteiweiß bei Hörsturzpatienten aus einem größeren Anteil an Globulinen oder anderen hochmolekularen Proteinen (mit Molekulargewicht > Albumin) zusammensetzt.

Ein weiterer Diskussionspunkt betrifft die Frage, ob es nötig ist, den KOD₂₀ direkt zu messen, oder ob er indirekt aus dem Totalproteingehalt zu errechnen ist. Die erwähnten unterschiedlichen Proteinmuster sind der Grund, weshalb die direkte KOD₂₀-Bestimmung der Errechnung überlegen ist [Barclay et al. 1987]. Da die KOD₂₀-Messung ein mittlerweile standardisiertes und zuverlässiges Verfahren ist und zudem wenig Zeit benötigt (ca. 5 min pro Messung), wäre bei Patienten mit den Diagnosen Hörsturz, Tinnitus, akutem

Lärmtrauma, etc. eine initiale KOD_{20} - Messung vor Therapiebeginn durchzuführen, um bei erhöhten KOD - Werten die Infusionstherapie adäquat steuern zu können und zusammen mit Verlaufsmessungen einen zusätzlichen Überwachungsparameter zur Erfolgskontrolle zur Verfügung zu haben.

Hämatokrit, Erythrozytenanzahl, Hämoglobingehalt (Abb. 5.3.1)

Im Rahmen der Korrelationsversuche zeigte sich bei allen Kollektiven ein – allerdings meist schwacher – Zusammenhang von hohen Werten des Hämatokrits, des Hämoglobins und der Erythrozytenzahl mit einem erhöhten plasmatischen KOD_{20} -Wert (Hampe [2000]). Diese Beobachtung läßt sich trivial als Effekt einer physiologischen Hämokonzentration bzw. -dilution interpretieren. In diesem Sinne spricht auch die beobachtete nächtliche Absenkung des plasmatischen kolloidosmotischen Druckes, die nach Graf et al. [1993] mit einer Reduktion des Hämatokrits um 4% und nach Hagen et al. [1990] mit einem Abfall der Plasmaproteine um bis zu 1 g/dl und einem Abfall der Blutviskosität im Sinne einer endogenen nächtlichen Hämodilution als Folge des Blutdruckabfalls einhergeht.

Leukozytenanzahl, Blutsenkungsgeschwindigkeit (Abb. 5.3.1)

Die Einzelkollektive verhalten sich beim Vergleich der Parameter r und p heterogen. Allein für die Hörsturzgruppe und das Gesamtkollektiv ergibt sich eine befriedigende Korrelation KOD_{20} / Leukozyten, welche auf eine geringe Entzündungsreaktion unter mäßiger Erhöhung beider Größen hinweisen mag. Die in allen Patientengruppen (außer Tinnitus) etwas erhöhten mittleren Leukozytenanzahlen (die aber allesamt im Normbereich bleiben!) könnten wiederum für eine Entzündungsreaktion sprechen. Allerdings kann eine Leukozytose auch durch körperliche Anstrengung, Steroide oder Rauchen hervorgerufen werden. Aus der Kapillaroskopie ist bestens belegt, wie sehr jeder einzelne Leukozyt aufgrund seiner Größe die Kapillardurchblutung behindert, so daß erhöhte Leukozytenanzahlen für die Innenohrdurchblutung eine gewisse pathogenetische Bedeutung haben dürften.

Zwischen BSG und KOD_{20} besteht keine signifikante Korrelation. Die BSG-Mittelwerte liegen sämtlich im Normbereich. Allein bei massiven Entzündungsreaktionen unter Erhöhung der Plasmaeiweiße oder durch Dysprotein-

		HK [%]			Erys [n/pl]			Hb [g/dl]			Leukos [n/nl]			Thrombos [n/nl]			BSG [mm/h]			
Kollektiv	n	r	p	m	r	p	m	r	p	m	r	p	m	r	p	m	n	r	p	m
Probanden	31	0,373	0,039*	41,8	0,429	0,016*	4,8	0,384	0,033*	14,5	0,080	0,670	6,1	0,400	0,026*	227	0	-	-	-
Normal-kollektiv	30	0,298	0,197	41,5	0,400	0,028*	4,7	0,275	0,140	14,1	0,217	0,250	7,1	0,126	0,510	235	19	0,087	0,720	8,2
Hörsturz	55	0,216	0,110	41,5	0,218	0,110	4,7	0,229	0,092	14,3	0,408	0,002**	7,5	0,128	0,350	232	42	0,110	0,490	8,4
Tinnitus	60	0,195	0,140	42,3	0,313	0,015*	4,8	0,208	0,110	15,0	0,079	0,550	7,1	0,304	0,018*	242	39	-0,307	0,057	6,1
Neuropath. Vest.	10	0,139	0,720	44,0	0,333	0,390	5,0	0,073	0,850	15,6	0,456	0,240	8,6	0,505	0,190	201	9	-0,276	0,470	7,9
M. Menière	7	0,429	0,340	45,7	0,321	0,480	5,1	0,527	0,220	14,9	0,577	0,180	8,3	0,179	0,700	308	4	0,4	0,500	13,8
Lärmtrauma	18	0,363	0,250	43,0	0,241	0,430	4,9	0,382	0,230	14,5	0,089	0,770	9,2	-0,029	0,920	257	14	-0,154	0,650	4,8
gesamt	211	0,227	0,001**	42,2	0,265	0,000**	4,8	0,250	0,000**	14,5	0,263	0,000**	7,4	0,206	0,003**	238	127	0,041	0,650	7,4

*) schwach signifikant

**) signifikant

Abb. 5.3.1: Zusammengefaßte Ergebnisse der Korrelationsversuche diverser Parameter mit dem KOD₂₀ gemäß der "Hauptversuche" (Details siehe Hampe [2000]).

m : Mittelwert (\pm SD/ \pm SE bei Hampe [2000]),

r : Korrelationskoeffizient, p: Irrtumswahrscheinlichkeit,

ämien (Akute-Phase-Proteine, Immunglobuline etc.) müßte bei erhöhter BSG auch mit korreliert erhöhten KOD - Werten gerechnet werden.

Thrombozytenanzahlen (Abb. 5.3.1)

Die Mittelwerte der Thrombozytenanzahlen liegen für alle Kollektive ganz unauffällig etwa mittig im Normbereich. Bei sehr mäßigen Korrelationskoeffizienten r sind für die Probanden- und die Tinnitusgruppe schwache, für das Gesamtkollektiv deutlichere Signifikanzen gegeben. Möglicherweise ist die schwache Beziehung KOD - Thrombozytenanzahl durch eine physiologische leichte Hämokonzentration bedingt.

Blutdruck

In der Dissertation Hampe [2000] sind die Tabellen und Abbildungen zur Korrelation des Blutdrucks und des KOD_{20} dargestellt. Die Regressionsgeraden KOD_{20} / Blutdruck der einzelnen Kollektive nehmen meist einen flachen Verlauf. D. h., im Mittel ergibt sich aus Einzelmessungen an insgesamt 164 Personen (Vergleichskollektive und Innenohrpatienten) erstaunlicherweise eine nur geringe und nicht signifikante Abhängigkeit des KOD_{20} vom Blutdruck. Lediglich bei den Lärmtraumapatienten ($n = 17$) resultiert für den systolischen Wert eine signifikante Korrelation zum KOD_{20} . Denkbar ist, daß sich bei den hier sehr jungen Patienten durch das Lärmtrauma akut mitverursachte Blutdruckerhöhungen in der „Spätphase“, d. h. zur Zeit der Klinikaufnahme, noch als KOD - Erhöhungen zu erkennen geben. Auch an eine zusätzliche Trinkkarenz mit der Folge einer KOD-Erhöhung ist zu denken!

Theoretisch führt eine akute Zunahme des arteriellen Blutdruckes zu einer Erhöhung des effektiven Filtrationsdruckes im afferenten Schenkel des Kapillarsystems und somit zu verstärktem Flüssigkeitsstrom in das extravasale Kompartiment. Als Folge erhöht sich der plasmatische KOD. Dieser wiederum führt - mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung - zu erhöhter Flüssigkeitsresorption im venösen Schenkel des Kapillarsystems. Nach Mohsenin et al. [1984] genügen 3 Minuten Fahrrad-Ergometrie und der damit erhöhte Blutdruck, um den plasmatischen KOD von $25,1 \pm 0,6$ auf $30,6 \pm 1,4$ mmHg zu erhöhen. Nach Morissette [1977] bewirkt jeder Blutdruckanstieg um 10mmHg eine plasmatische KOD-Zunahme um 0,75 mmHg. Die systematischen Unter-

suchungen von Graf et al. [1993] zeigen, daß circadiane Schwankungen des kolloidosmotischen Druckes eng mit der Tagesrhythmik des Blutdruckes korreliert sind. Da zu unseren KOD-Versuchen nur Blutdruckwerte der üblichen Routine verfügbar waren, nicht aber gezielt zu den Blutentnahmen, können unsere Ergebnisse nicht als repräsentativ gelten.

5.4. Fazit aus den KOD-Messungen für das Innenohr

Im vermutlich multifaktoriellen Geschehen der Innenohrerkrankungen spielt nach unseren Ergebnissen der **plasmatische kolloidosmotische Druck** eine Rolle (siehe auch Hampe, 2000) : Ein gegenüber der Norm erhöhter plasmatischer KOD ist für das Innenohr ein Stör- und Risikofaktor. Ein Beleg sind unsere Messdaten gemäß Abb. 5.4.1, wenngleich einige Kollektive zu klein sind und das nach Anamnese und Diagnose zu heterogene Kollektiv „Vertigo“ später nicht weiter berücksichtigt wurde.

Sechs Patientengruppen mit Innenohrstörungen im Vergleich zu gesunden Probanden

(KOD - Werte des Blutplasmas , gemessen mit einer 20 kD - Membran vor Behandlungsbeginn)

KOLLEKTIV	n	KOD Mittelwert +/-SD in mm Hg		Irrtumswahrscheinlichkeit P	
				t - Test	U - Test
Gesunde Probanden	14	25,87	1,19	-	-
Hörsturz	50	30,82	2,96	0,00000 *	0,00000 *
Lärmtrauma	24	29,85	3,04	0,00009 *	0,00015 *
Neuropathia vestibularis	11	29,50	2,14	0,00015 *	0,00032 *
Tinnitus	72	29,08	3,07	0,00031 *	0,00001 *
M. Menière	10	28,08	1,74	0,00075 °	0,014 °
Vertigo	15	27,56	4,92	0,23	0,25

° signifikant * hochsignifikant

Universitäts - HNO - Klinik Würzburg

Abb.5.4.1: Aus dem Referat Nr. 246 der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hals - Nasen - Ohren - Heilkunde, Kopf- und Hals - Chirurgie, Nürnberg 1997

Aber selbst der strenge Maßstab der späteren „Hauptversuche“ mit großzügig weiter Toleranzgrenze (± 2 SD) belegt **unsere Arbeitshypothese pathologisch erhöhter plasmatischer KOD-Werte bei Innenohrerkrankungen** (siehe Abb. 5.4.2).

	Probanden		Normalpatienten		Tinnitus		Hörsturz		akutes Lärmtrauma		Neuropathia vestibularis		M. Menière	
Anzahl n	31		31		61		55		18		10		7	
KOD₂₀-Mittelwerte \pm SD (SE)	27,0 \pm 2,6 (0,5)		27,2 \pm 2,8 (0,5)		29,5 \pm 2,7 (0,3)		30,6 \pm 3,0 (0,4)		30,4 \pm 2,9 (0,7)		28,9 \pm 2,7 (0,9)		28,3 \pm 1,7 (0,7)	
KOD_{20kD}-Mittelwerte nach Geschlecht	♂ 27,7	♀ 26,0	♂ 27,8	♀ 26,7	♂ 29,7	♀ 29,4	♂ 30,5	♀ 30,7	♂ 30,4	♀ 30,5	♂ 28,1	♀ 29,7	♂ 28,0	♀ 28,7

Abb. 5.4.2: Ergebnisse der KOD₂₀ - Messungen der Hauptversuche (siehe auch Hampe, 2000) für Vergleichskollektive und Innenohrpatienten (KOD₂₀-Angaben in mmHg; Gesamt - n = 213).

Der Perilymphraum gilt morphologisch als erweiterter interstitieller Spalt, die **Perilymphe als Plasma - Ultrafiltrat**. Die Kapillarareale des Innenohres filtern scharf, wie der geringe Eiweißgehalt der Perilymphe (etwa 2000mg/l) sowie die mit zunehmender Partikelgröße rasch abnehmende Clearance belegen [Radiotracer, in den Perilymphraum eingebracht; Jung et al., 1989]. Auch die Zugehörigkeit des Arteria - labyrinthi - Systems zu den dichten Cerebralgefäßen spricht für eine enge Permeationsbarriere.

An den ultrafiltrierenden **Blutkapillaren des Innenohres** dürfte somit stets der **volle onkotische Druck des Blutplasmas** anstehen, also der maximal mögliche, etwa den Verhältnissen an engporigen synthetischen semipermeablen Membranen entsprechend. Die Filtrationsrate der Perilymphe beträgt dabei - wie die der Nierenglomerula - etwa 10% des Durchflusses, entspricht also der eines Hochleistungssystems [Jung et al., 1989]. Diese Analogie, und die moderne Vorstellung einer Nierenschwelle um 20kD stützen unser expe-

rimentelles Vorgehen und unsere Erfahrung, nämlich vorzugsweise 20kD-Membranen als Standard zu verwenden.

Die richtige Flüssigkeitshomöostase des Innenohres ist offensichtlich beim Gesunden mit einem plasmatischen KOD_{20} um 25mmHg (ca. 80.000mg Eiweiß/l) und einem arteriellen Mitteldruck um 80 - 100mmHg gegeben. Der kolloidosmotische „Gegendruck“ der Perilymphe beträgt aufgrund ihres geringen Eiweißgehaltes nur 0,5 bis 1mmHg. Es besteht also ein starker **kolloidosmotischer Sog des Blutplasmas auf das Perilymphsystem**, was jedoch physiologischer Normalzustand ist.

Über die Druckverhältnisse der Innenohrkompartimente am Meerschweinchen hat sich Böhmer [1993] geäußert. Nach seinen Experimenten wird infolge hoher Compliance der Reissner-Membran bei Druckänderungen auf den Endo- oder Perilymphraum dieser Druck sofort an das andere Kompartiment weitergegeben. Druckunterschiede ($\geq 100\text{Pa} \geq 0,75\text{mmHg}$) zwischen den Kompartimenten traten erst mehrere Wochen nach Verschuß des Saccus endolymphaticus als **endolymphatischer Hydrops** auf, nachdem die Reissner-Membran ihre Compliance aufgrund langdauernder Überdehnung verloren hatte. Dann aber war eine Verschlechterung der akustisch evozierten Potentiale zu verzeichnen.

Neben anderen Autoren hat Arnold et al. bereits 1979 daran erinnert, wie entscheidend osmotische Gradienten für die Wasserverschiebung zwischen Perilymphe, Endolymphe, Liquor cerebrospinalis und Blut sind. Der prinzipielle Unterschied osmotischer Störungen durch Niedermolekulare gegenüber Hochmolekularen besteht darin, daß Störungen im ersten Fall rascher an- und abklingen und in der Regel kompensabel und reversibel sind (z.B. Glycerol- und Harnstoff-Test).

Arenberg [1989], Walsted et al. [1991 a, b] und Höhmann et al. [1995] weisen besonders eindrücklich auf die bekannten Innenohrstörungen durch Liquor(druck)-Verluste hin. Betroffen sollten insbesondere Personen mit offenem Aquaeductus cochleae sein (Inzidenz nimmt mit zunehmendem Alter ab!). Jedenfalls sprechen die Autoren bereits von einem „**sekundären endo-**

lymphatischen Hydrops“, hervorgerufen durch **primären Volumenmangel im Perilymphraum**, also einer **perilymphatischen Hydropenie** nach unserer Begriffsbildung. Ein sekundärer endolymphatischer Hydrops läßt sich nach Arenberg [1989] am Meerschweinchen experimentell durch Setzen einer Perilymphfistel unter leichtem Sog erzeugen, wobei es in der Folge sogar zu Schrumpfung und Verkleben des Saccus endolymphaticus kommen kann.

Durch einen erhöhten plasmatischen KOD hervorgerufene Innenohrstörungen sollten insbesondere dann passieren, wenn der Aquaeductus cochleae verschlossen, also die Flüssigkeitsreserve des Liquor cerebrospinalis nicht verfügbar ist. Nach Teschner [1997] sind auch bei modernster Hämodialyse-Technik nach bis zu 2 l Flüssigkeitsverlust mit plasmatischer Gesamteiweiß- und Hämatokrit-Zunahme „Hörstörungen gängige Dialysefolgen“. – Eine weitere klinische Beobachtung, welche gut zu unseren Vorstellungen paßt!

Bei dieser Gelegenheit ist auf die drastische Innenohrwirkung (Hörstörungen) aller High-ceiling-Diuretika (z.B. Furosemid, Ethacrynsäure) hinzuweisen. Über eine Störung der Na^+/K^+ - Pumpe der Stria vascularis hinaus dürfte die enorme spontane Wasserdiurese (Hämokonzentration) mit plötzlicher temporärer Erhöhung des plasmatischen KOD zum Wasserentzug aus dem Perilymphraum als interstitiellem Raum führen.

Nach dem bereits Gesagten muß eine Hyperonkozytät des Blutplasmas gegenüber dem Perilymphraum voll wirksam werden, was den kapillären Filtrationsdruck und somit die Filtratmenge reduziert. Der resultierende perilymphatische Volumenmangel wirkt als (relativer) Sog auf das „tiefere“ und besser stabilisierte Kompartiment Endolymph, welches nach dem Horror - Vacui - Prinzip das perilymphatische Volumendefizit aus der „Reserve“ des Saccus endolymphaticus zu kompensieren sucht und damit das Bild eines „sekundären“ endolymphatischen Hydrops produziert. Dabei dürfte die Basilarmembran scala-tympani-seitig aus der Ruhelage ausgelenkt sein, was im Corti - Organ die Ankoppelung der Stereozilien der Haarzellen an die Tektorialmembran beeinträchtigen muß, mit entsprechenden Folgen für die mechano - elektrische Reizwandlung. Und nur in den sehr seltenen Autopsiefällen (Innenohrstörungen sind im allgemeinen nicht lebensbedrohend!) wird aus

einer überdehnten Reissnerschen Membran ein „endolymphatischer Hydrops“ konstatiert.

Die Annahme einer primären perilymphatischen Hydropenie, gefolgt von einem (sekundären) endolymphatischen Hydrops könnte die zunächst klinisch so heterogen erscheinenden, in Genese und Ätiologie dabei nur mangelhaft verstandenen Krankheitsbilder des Innenohres (siehe Abb. 5.4.1) einheitlich erklären. Die Anfallsartigkeit, die Wiederholung, die Reversibilität und die Remission von Innenohrstörungen lassen sich mit onkotischen Störungen ebenso zwanglos erklären wie mit Durchblutungs- oder Elektrolytstörungen. Stets wären es funktionelle Störungen, die ohne jegliches anatomisch - morphologische Korrelat bleiben können.

Innenohrtherapie

Die an der HNO-Klinik Würzburg durchgeführte Infusionstherapie von Innenohrstörungen mit Elektrolytlösungen als einzigem Volumenexpander scheint in der Tat eine wirksame und eventuell hinreichende Maßnahme zu sein. Nach Bewertung „unserer“ Infusionstherapien kam es bereits nach 5 Tagen und etwa 2 - 2,5 l Flüssigkeitszufuhr zu deutlichen KOD_{20} -Abfällen in den Normalbereich [Hampe 2000].

Probst et al. [1992] untersuchten in einer randomisierten, doppelblinden und placebo-kontrollierten Studie an 382 Patienten mit plötzlichem Hörverlust und/oder Lärmtrauma den Einfluß einer Therapie mit Dextran-Lösungen im Vergleich zu NaCl-Lösungen, jeweils mit zusätzlicher Pentoxifyllin-Medikation, sowie den einer reinen NaCl-Infusionstherapie. Keine dieser drei Behandlungsgruppen unterschied sich im Ergebnis signifikant.

Vor Beginn einer Infusionstherapie sollten auf jeden Fall eine KOD-Kontrolle gemacht und der Gesamteiweißgehalt des Blutplasmas bestimmt werden, und in kritischen Fällen sogar eine Eiweiß-Elektrophorese folgen. Zeigen sich pathologisch erhöhte KOD-Werte oder pathologische Eiweißwerte, scheint uns eine hyperonkotische Infusionstherapie, sogar eine isoonkotische kontraindiziert. Bei zusätzlich sehr hohen Hämoglobin- oder Hämatokritwerten

empfiehlt sich die altbewährte, auch im Zusammenhang mit Innenohr-Erkrankungen ohne negative Nebenwirkungen beschriebene Methode des mäßigen Aderlasses, gefolgt von isovolämischer bis mäßig hypervolämischer Substitution mit Elektrolytlösungen. Die Verwendung **hyponkotischer** Plasmaersatzlösungen wäre eine „erlaubte“ Alternative wegen des unbestreitbaren zusätzlichen rheologischen Benefits. Ein solcher konnte aus Versuchen zur kapillären Durchblutung eindeutig nachgewiesen werden (Augenhintergrund; Akrenkapillaroskopie, Schleimhäute; Innenohr [Rüttger 1994]).

Ein stationärer Aufenthalt verhilft dem Innenohr-Patienten neben der Infusionstherapie zu einer gewissen Ruhephase. So konnte bei Patienten ein deutlicher Zusammenhang zwischen erhöhtem Blutdruck (und damit Streß) und erhöhtem KOD nachgewiesen werden [Graf et al. 1993, Mohsenin et al. 1984].

Die synthetischen kolloidalen Plasma(Volumen)ersatzmittel hatten uns in erster Linie teils als potentielle, teils als in der Praxis vielfach verwendete Infusionslösungen zur Therapie von Innenohrstörungen zu interessieren. Hauptargument zu ihrer diesbezüglichen Verwendung war stets das rheologische Benefit, da in der Regel – wenngleich nicht unbezweifelt – Durchblutungsstörungen als Erkrankungsursache des Innenohres angenommen werden. Beispielsweise fanden Klemm et al. [1997] bei 50% ihrer Innenohrpatienten eine gestörte Mikrozirkulation mit pathogenetischer Bedeutung.

Nachdem wir von der Schlüsselfunktion des plasmatischen kolloidosmotischen Druckes auch für das Innenohr überzeugt waren (siehe Hampe [2000]), haben wir – beinahe überwältigt von der Vielzahl verfügbarer Infusionslösungen (siehe Kap. 3.3.) – deren onkometrische Bewertung versucht. Die Onkometrie mit semipermeablen Membranen unterschiedlicher Porenweite dürfte dabei zugleich modellhaften Charakter für die Vorgänge beim Flüssigkeitsaustausch am Kapillarbett der unterschiedlichsten Organe besitzen. Mit anderen Worten, je nach Permeabilität des Kapillarbettes dürfte eine Änderung des plasmatischen KOD weitgehend belanglos sein (Leber, Milz etc.)

oder aber höchst kritisch (Lunge, Gehirn, Innenohr?!) (vgl. Forth et al. [1983] insbesondere S.18).

Nach der von uns entwickelten neuartigen Methode der Bewertung von Plasma(Volumen)ersatzmitteln aus kolloidosmotischen Profilen (KOD-Profilen) läßt sich zusammenfassen :

Modifizierte Gelatinen : An 4 Produkten, für welche mittlere Molekulargewichte (MW) von 30.000 bis 35.000 und Konzentrationen von 3 – 3,5 – 4 – 5,5% angegeben waren, resultieren an engporigen Membranen (1 – 3 – 5kD) KOD-Werte zwischen 100 und 40mmHg. An 10kD- zu 20kD-Membranen beobachtet man große KOD-Sprünge auf ca. 30 bzw. ca. 10mmHg; an gröberen Membranen werden höchstens noch 2mmHg gemessen. Eine Hyperonkozytät an engporigen Kapillararealen kann eintreten!

Dextrane : Dextranfraktionen standen uns vom nominellen mittleren Molekulargewicht MW 40.000 (8x), 60.000 (3x) sowie 70.000 (1x) und 75.000 (1x) zur Verfügung (Abbn. 2.3.4 und 2.3.5); Dextran 40 in 10%iger, die höheren Fraktionen in 6%iger Lösung. Das gerade für die Innenohrtherapie viel verwendete und empfohlene Dextran 40 (10%) (siehe Michel [1994]) wird von 6 konfektionierenden Herstellern angeboten, dürfte jedoch nach der Ähnlichkeit der von uns erstellten KOD-Profile (siehe z.B. Abb. 4.5.2) aus gleicher Rohstoffquelle stammen.

Falls man das KOD-Profil des Humanplasmas (Abb. 4.4.1) als anzustrebendes Idealmuster für kolloidale Plasma(Volumen)ersatzmittel ansieht, liegen die Dextran 40-Lösungen weit ab davon : Im ersten Fall beginnt die „KOD-Dynamik“, d.h. die merkliche Abnahme der KOD-Werte, erst ab der 30kD-Membran und ist mit der 70kD-Membran abgeschlossen; KOD-Werte über 30mmHg werden nicht beobachtet. Im Fall des Dextran 40 (Abb. 4.5.2) fände sich der maximale KOD sogar erst bei feineren als der 1kD-Membran; und der maximale KOD liegt über 2x (65-70), also etwa bei ≥ 140 mmHg. Eine große KOD-Dynamik setzt bereits ab der 5kD-Membran ein, und bereits mit der 30kD-Membran findet sich nur noch ein verschwindend geringer KOD. Mit anderen Worten, die Dextran 40-Lösungen sind extrem hyperonkotisch, je-

doch bedingt durch sehr kleine kolloidale Partikel. An der 20kD-Membran können die KOD-Endwerte knapp doppelt so hoch sein wie beim Humanplasma. Selbst wenn man – daran orientiert – bei Wahrung eines rheologischen Benefits eine 1:1-Verdünnung mit Elektrolytlösung vornimmt, hat man primär mit einer hohen Hyperonkoazität durch relativ Niedermolekulare zu rechnen.

Für die 5 höhermolekularen Dextrane ist wiederum gleiche Provenienz zu vermuten, in vielleicht etwas unterschiedlicher Fraktionierung. Der maximale KOD liegt um 70-75mmHg, gemessen mit 1kD- und 3kD-Membranen. Von der 10kD-Membran zur 30kD-Membran fällt der KOD etwa von 65mmHg gegen 2-3mmHg ab, wobei der halbmaximale KOD etwa um 35mmHg liegt und in etwa mit der 20kD-Membran erreicht wird. Zur Vermeidung jeglicher Hyperonkoazität ist eine 1:1- bis 1:2-Verdünnung empfohlen.

Hydroxyethylstärke: Bei diesem Kolloid kommen zum mittleren Molekulargewicht als weitere und schwer überschaubare Variable der Verzweigungs- und der Substitutionsgrad, sowie die Herkunft aus Wachsmais oder Kartoffel hinzu.

Zwei zunächst als „HES 40“ angebotene Lösungen wurden später zu „HES 70“ korrigiert und werden gemeinsam mit einer dritten, primär bereits als HES 70 bezeichneten Lösung diskutiert : Die drei KOD-Profile sind in der Tat nahezu gleich. Der zeitliche Gradient der 3kD-Kurve, selbst der 1kD-Kurve, ist nach Stunden noch steil, so daß ein maximaler KOD keinesfalls abgeschätzt werden kann. Die KOD_{20} -Kurven nähern sich Endwerten um 13 mmHg. Der Anteil an extrem kleinen kolloidalen Partikeln ist also enorm hoch; die Verteilung ist sehr breit, und schief, zugunsten ganz niedrigmolekularer Anteile. Der Unterschied zu den augenscheinlich enger verteilten Dextranen 60-70-75, mit denen am ehesten ein Vergleich möglich sein sollte, ist denkbar groß!

Mit $(5 + 6 + 1) = 12$ Verkaufsprodukten stellte HES 200 in 10%iger, bzw. 6%iger, bzw. 3%iger Konzentration und dem Substitutionsgrad 0,5 das Gros der kolloidalen Plasma(Volumen)ersatzmittel. Als pauschales Meßergebnis darf Abb. 5.4.3 gelten, in dem die ungefähren KOD-Endwerte an unterschied-

lichen Membranen festgehalten sind. Zwei Aspekte sind bemerkenswert: 1. Weder an der 3kD-Membran, erst recht nicht an der 10kD-Membran, läßt sich der maximale KOD ablesen, d.h. stets sind noch merkliche Anteile an Niedermolekularen vorhanden, welche eine zeitliche Kinetik bedingen. 2. Beim Versuch einer konzentrationsbezogenen Umrechnung (3%→6%→10%) der KOD-Werte scheint ein Gibbs-Donnan-Effekt zu wirken, wie er bisher nur für Proteine (siehe Abb. 4.1.7) untersucht ist. Zur quantitativen Abklärung wären umfangreiche systematische KOD-Messungen an HES-Konzentrationsreihen erforderlich!

Membran	Konzentration der HES 200/0,5-Lösungen		
	10%ig	6%ig	3%ig
3kD	-	48	-
10kD	90	40	11
20kD	75	32,5	-
30kD	<15	10	-
50kD	4,5	3	1,5
70kD	<4	3,5	-
100kD	4	2	1,5
200kD	-	1	-

Abb. 5.4.3: Mittlere gemessene oder geschätzte ungefähre KOD-Endwerte (mmHg) von HES 200/0,5-Lösungen.

Die drei verfügbaren HES 450-Lösungen, mit dem bemerkenswert hohen Substitutionsgrad 0,7, sind nach ihren KOD-Profilen von gleicher Provenienz. Aus den an unterschiedlichen Membranen gemessenen KOD-Werten (siehe Abb. 5.4.4) ist der maximale KOD als wenig über 30mmHg zu vermuten. Die mittlere Molekülgröße, das mittlere Molekulargewicht der HES 450-Lösungen ergibt sich somit auch nach den KOD-Messungen als merklich höher. Das Risiko einer primären Hyperonkozytät erscheint somit geringer, während das Risiko einer Dauereinlagerung in den Körper steigt [siehe Bundesärztekammer – Arzneimittelkommission, 1993].

Bei der breiten Größenverteilung der HES-Partikel mit den Grenfrisiken Hyperonkozytät oder Einlagerung darf man gerade auch für die Innenohrtherapie

Membran (kD)	(8)	10	20	30	50	70	100	200	300
End-KOD (mmHg)	(20,5)	31	28,5	12,5	7,0	5,0	5,2	1,75	1,1

Abb. 5.4.4: Mittlere gemessene oder geschätzte ungefähre KOD-Endwerte von HES 450-Lösungen.

auf HES-Neuentwicklungen gespannt sein (nach Rote Liste 2000, Abb. 3.3.1 ist bereits ein HES 130 verfügbar!).

Die kolloidosmotische Toleranz der Gewebe und Organe ist im allgemeinen offensichtlich unkritisch hoch. Indessen haben wir keine sicheren Kenntnisse darüber, mit welcher Dynamik sich plasmatische KOD-Änderungen auf diverse Kompartimente des Körpers fortpflanzen und auswirken. Wenn man die Gleichgewichtseinstellungen an semipermeablen synthetischen Membranen als Maß nimmt (siehe Kap. 4), so mögen es wenige Minuten bis etliche Stunden sein.

Die dynamische audiologische Schalldruckschwelle in Luft beträgt 2×10^{-4} dyn/cm² = 2×10^{-5} Pa. Im Vergleich dazu bedeutet eine – allerdings statische – KOD-Differenz von allein 1 mmHg = 13,6 mmWS = $1,33 \times 10^2$ Pa den mehr als 6-millionenfachen Druck! Selbst wenn man korrekterweise den Verstärkungsfaktor des Mittelohrapparates mit 20 bis 30 berücksichtigt [Keidel, 1970], bleibt immer noch der mehr als 200.000-fache Druck! Es ist damit verständlich, daß sich bei relativ raschen plasmatischen KOD - Änderungen im Innenohr kritisch hohe dynamische Druckgradienten aufbauen können.

In Konsequenz wäre zu fragen, ob eventuell bereits beim klinisch Ohrgesunden geringfügige akustische Schwellenverschiebungen mit dem plasmatischen KOD zusammenhängen. Untersuchungen bezüglich einer Korrelation Hörleistung - KOD müßten indessen außerordentlich subtil geführt werden.

Es erscheint plausibel, daß sich am extrem empfindlichen „**Drucksensor**“ Innenohr ubiquitäre Störungen der plasmatischen onkotischen Homöostase zuerst und ausschließlich – und lokal so dramatisch –manifestieren können, **ohne daß per se eine Innenohrerkrankung** vorliegt.

6. Zusammenfassung

Bei Innenohrstörungen unterschiedlichster Art wie Hörsturz, fluktuierendem Hören, Morbus Menière, Neuropathia vestibularis, Tinnitus, Lärmtrauma, Vertigo, Labyrinthitis, Presbycusis etc., ist die Infusionstherapie anerkannt Mittel der Wahl. Die Kardinalfragen sind jedoch bisher nirgendwo eindeutig beantwortet.

- Wie kommen diese Innenohrstörungen zustande?
- Wie ist die Infusionstherapie optimal zu führen?
- Ist die Infusionstherapie effizienter als die „Nulltherapie“?

In der vorliegenden Arbeit haben wir uns in Fortsetzung und Ergänzung der Arbeit von Hampe [2000] wiederum mit der für die Kapillardurchblutung wichtigen experimentell meßbaren Größe, dem onkotischen = kolloidosmotischen Druck (KOD), befaßt. Hampe zeigt in seiner Arbeit auf, daß ein erhöhter plasmatischer KOD für die Innenohrfunktion als Risikofaktor anzusehen ist, also vielleicht eine Antwort auf die erste der vorstehend gestellten Fragen gibt.

Gegenstand dieser Arbeit war einerseits das Meßtechnische und die Abschätzung von Einfluß- und Störfaktoren der KOD-Messung. So wurde die circadiane Rhythmik des plasmatischen KOD sowohl nach eigenen Untersuchungen wie auch nach Literaturangaben ausführlich behandelt. Andererseits galt der größere Teil der Arbeit den physiologischen körpereigenen, insbesondere aber den synthetischen kolloidalen Plasmaersatzmitteln. Hyperonkotisch – und damit überproportional volumenaktiv – wie sie meist sind, beanspruchen die synthetischen kolloidalen Plasma(Volumen)ersatzmittel, verwendet zur Innenohrtherapie, besondere Aufmerksamkeit, gerade im Hinblick auf die beobachteten erhöhten plasmatischen KOD-Werte bei Innenohrstörungen.

Einleitend werden die physikalischen und physiologischen Grundlagen des osmotischen Druckes rekapituliert, wobei sich der kolloidosmotische (= onkotische) Druck nur als Spezialfall der Wirkung kolloidaler Partikel ergibt. Die KOD-Bestimmungen wurden mit dem Onkometer BMT 921 (Dr. Wallner, BMT Meßtechnik, Berlin) durchgeführt, das von der Firma Dr. Karl Thomae GmbH, Biberach a. d. Riß, vertrieben wird. Besonderes Merkmal : Separate, binnen Minuten austauschbare Meßkammern. Ausführlich besprochen und diskutiert werden die Eigenschaf-

ten und Verfügbarkeiten der asymmetrischen semipermeablen Membranen. Es fand sich, daß bezüglich Trennschärfe und Aufeinanderfolge unterschiedlicher Porigkeit noch viele technische Wünsche offen sind, so daß diese synthetischen Membranen derzeit den Aussagemöglichkeiten einer systematischen Onkometrie die Grenzen setzen. Für die KOD-Messungen wurden Membranen mit nominellen Porigkeiten (Molecular weight cutoffs = MWCO) von 0,5kD bis 1000kD verschiedener Hersteller verwendet. Besondere Bedeutung, so für die Routinemessung der Blutplasmen, besitzen Membranen der Ausschlußgrenze 20kD der Firma Thomae, welche den Permeabilitätseigenschaften engporiger Blutkapillaren des Innenohres etwa entsprechen könnten.

Im Detail besprochen und KOD-mäßig gemessen wurden Humanalbuminlösungen, das Humanserumpräparat Biseko[®], sowie nahezu 30 synthetische kolloidale Plasmaersatzmittel, die 1995/96 auf dem deutschen Pharmamarkt verfügbar oder freundlicherweise von den Herstellern zur Verfügung gestellt worden waren. Geordnet wurde nach modifizierten Gelatinen, Dextranen, Hydroxyethylstärken.

Von allen wichtigeren kolloidalen Plasma(Volumen)ersatzmitteln haben wir sogenannte „KOD-Profile“ erstellt, d.h. die entsprechenden Lösungen wurden mit Membranen unterschiedlicher Porenweite gerastert und die resultierenden KOD-Zeit-Kurven zur Übersicht in jeweils einer Graphik zusammengefaßt. Unseres Wissens haben wir damit eine neuartige Darstellung zur onkotischen Charakterisierung kolloidaler Plasmaersatzmittel, aber auch von Blutplasmen selbst, geschaffen. Zugrunde liegt hier das Zahlenmittel M_n der Molmassen, welches unmittelbar ein Maß für die u. U. dramatische Onkozität ist. Das von den Herstellern in der Regel aus nephelometrischen Messungen hergeleitete Massenmittel M_m der Molmassen ist dagegen eher ein Maß für das Risiko der Speicherung sehr hochmolekularer Anteile. Interessante und ausführlich diskutierte KOD-Profile sind in den Abbildungen 4.3.4, 4.3.6, 4.4.1 für Humanalbumin bzw. Biseko[®] bzw. Humanplasma gezeigt. Einer unmittelbaren Umrechnung der jeweiligen KOD-Endwerte auf die Partikeldurchlässigkeiten in Prozent, also die partikelgrößenmäßige Rasterung der jeweiligen kolloidalen Lösung, steht nur die Unsicherheit entgegen, daß der Gibbs-Donnan-Effekt (siehe Abb. 4.1.7) für Plasmaersatzmittel experimentell unbekannt ist. Jedenfalls ist es mit KOD-Profilen sicher und relativ einfach möglich, kolloidale Lösungen zu klassieren, zu vergleichen und zu unterscheiden.

Recht genau betrachteten wir die im HNO-Bereich zur Infusionstherapie bei Innenohrstörungen häufig eingesetzten kolloidalen Plasma(Volumen)ersatzmittel Dextran 40 (10%) und HES 200 (6%), wie diese mit den KOD-Profilen Abb. 4.5.2 und Abb. 4.5.5 vorgestellt sind. Beim Dextran 40 ist die Hyperonkoazität extrem hoch und scheint es an feinporigen Strukturen auch extrem lange bleiben zu können (man beachte die 1:1-Verdünnung der gemessenen Lösung!). Zur erhofften und eventuell effizienten Nierenausscheidung können wir keine Aussage machen. Beim HES 200 ist auf jeden Fall mit unerwünschten Speichereffekten zu rechnen bei zugleich primärer Hyperonkoazität. Die Größenverteilungen der Kolloide sind höchst asymmetrisch, wobei die von den Herstellern angegebenen "mittleren Molekulargewichte" zur falschen Annahme verleiten, daß es sich um „wahrscheinlichste Molekulargewichte“ handeln könnte und daraus etwas über kolloidosmotische Drucke, renale Rückhaltungen und biologische Verweilzeiten auszusagen wäre.

Beim Abwägen aller Gesichtspunkte kommt man zu dem Schluß, daß bei Innenohrstörungen die Infusionstherapie mit einer hochwertigen Elektrolytlösung (keinesfalls eine reine 0,9%ige NaCl-Lösung!) als Volumenträger nicht allein die preisgünstigste und nebenwirkungsärmste sondern vermutlich die ausreichende ist!

Besonders bei den kolloidalen Plasma(Volumen)ersatzmitteln mit ihren unbestritten breiten Partikelgrößenverteilungen werden die Meßzeiten teils extrem lang, und nur in Einzelfällen können die Einstellung des Gleichgewichtes und damit der KOD-Endwert experimentell abgewartet werden. Um bei akzeptablen Meßzeiten verlässliche KOD-Endwerte zu finden, war ein Extrapolationsprogramm erforderlich. Durch Herrn Prof. v. Golitschek (Institut für Angewandte Mathematik, Universität Würzburg) konnte ein Ansatz zum bestmöglichen Kompromiß zwischen rechnerischem Aufwand und Genauigkeit erarbeitet werden. Der komplizierte Rechengang ist in Kap. 3.6. skizziert. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß für derartige Systeme keine mathematisch einfache Formel zur Berechnung eines Endwertes gefunden werden kann. Extrapolatorisch bestimmte KOD-Verläufe sind in den Kapiteln 5.1. und 5.2. dargestellt. Siehe dazu die extrapolierten KOD-Profile der Albumin-Lösung (Abb. 5.1.3), der Biseko[®]-Lösung (Abb. 5.1.4), des Probandenplasmas (Abb. 5.1.5) und einer 6%igen HES 200-Lösung (Abb. 5.1.6) sowie die Tabelle 5.1.7.

Im vermutlich multifaktoriellen Geschehen der Innenohrerkrankungen spielt nach unseren Ergebnissen der plasmatische kolloidosmotische Druck eine Rolle (siehe auch Hampe [2000]) : Ein gegenüber der Norm erhöhter plasmatischer KOD ist für das Innenohr ein Stör- und Risikofaktor.

Vor Beginn einer Infusionstherapie sollte auf jeden Fall der KOD des Blutplasmas kontrolliert und der Gesamteiweißgehalt bestimmt werden, in kritischen Fällen sollte sogar eine Eiweiß-Elektrophorese folgen. Zeigen sich pathologische KOD- oder Eiweiß-Werte, scheint uns eine hyperonkotische Infusionstherapie, sogar eine isoonkotische, kontraindiziert. Bei zusätzlich sehr hohen Hämoglobin- oder Hämatokritwerten empfiehlt sich die altbewährte, auch im Zusammenhang mit Innenohr-Erkrankungen ohne negative Nebenwirkungen beschriebene Methode des mäßigen Aderlasses, gefolgt von isovolämischer bis mäßig hypervolämischer Substitution mit Elektrolytlösungen. Die Verwendung hyponkotischer Plasmaersatzlösungen scheint eine denkbare Alternative wegen des unbestreitbaren rheologischen Benefits.

Der Perilymphraum gilt morphologisch als erweiterter interstitieller Spalt, die Perilymphe als Plasma - Ultrafiltrat. Die richtige Flüssigkeitshomöostase des Innenohres ist offensichtlich beim Gesunden mit einem plasmatischen KOD_{20} um 25 mmHg (ca. 80 000 mg Eiweiß/l) und einem arteriellen Mitteldruck um 80 - 100 mmHg gegeben. Der kolloidosmotische „Gegendruck“ der Perilymphe beträgt aufgrund ihres geringen Eiweißgehaltes nur 0,5 bis 1 mmHg. Es besteht also ein starker kolloidosmotischer Sog des Blutplasmas auf das Perilymphsystem, was jedoch physiologischer Normalzustand ist. Wird dieser Sog, z. B. durch erhöhten plasmatischen KOD stärker, so kann es zu einem primären Volumenmangel im Perilymphraum –nach unserer Begriffsbildung **„primären perilymphatischen Hydropenie“** – kommen. Der perilymphatische Volumenmangel wirkt als (relativer) Sog auf das „tiefere“ und besser stabilisierte Kompartiment Endolympe, welches nach dem Horror - Vacui - Prinzip das perilymphatische Volumendefizit aus der „Reserve“ des Saccus endolymphaticus zu kompensieren sucht und damit das Bild eines **„sekundären“ endolymphatischen Hydrops** produziert. Dabei dürfte die Basilar-membran scala-tympani-seitig aus der Ruhelage ausgelenkt sein, was im Corti-Organ die Ankoppelung der Stereozilien der Haarzellen an die Tektorialmembran

beeinträchtigen muß, mit entsprechenden Folgen für die mechano - elektrische Reizwandlung.

Die Annahme einer primären perilymphatischen Hydropenie, gefolgt von einem (sekundären) endolymphatischen Hydrops, könnte die zunächst klinisch so heterogen erscheinenden, in Genese und Ätiologie dabei nur mangelhaft verstandenen Krankheitsbilder des Innenohres einheitlich erklären. Die Anfallsartigkeit, die Wiederholung, die Reversibilität und die Remission von Innenohrstörungen lassen sich mit onkotischen Störungen ebenso „zwanglos“ erklären wie mit Durchblutungs- oder Elektrolytstörungen. Stets wären es funktionelle Störungen, die ohne jegliches anatomisch - morphologische Korrelat bleiben können.

Es erscheint plausibel, daß sich am extrem empfindlichen „Drucksensor“ Innenohr ubiquitäre Störungen der plasmatischen onkotischen Homöostase zuerst und ausschließlich – und lokal so dramatisch –manifestieren können, ohne daß per se eine Innenohrerkrankung vorliegt.

7. Literaturverzeichnis

- Abel M.: Bestimmung und klinische Bedeutung des kolloidosmotischen Druckes bei pädiatrischen Patienten. *Klin Pädiat* **197** (1985) 392-397
- Andreoli T.E., Schafer J.A.: Principles of water and nonelectrolyte transport across membranes. In: Andreoli T.E., Hoffmann J.F., Fanestil D.D.: *Membrane Physiology*, Plenum Medical Book Comp., New York - London (1980)
- Arenberg I.K., Prosper Meniere Society, Englewood CO, USA: Fortbildungsreferat an der Universitäts-HNO-Klinik Würzburg am 30.11.1989
- Arnold W, Vosteen KH: Zur Physiologie von Perilymphe und Endolymphe. In: Berendes J., Link R., Zöllinger F. (Hrsg.): *HNO - Heilkunde in Praxis und Klinik*. Thieme, Stuttgart (1979) Bd. 5, 4.1 ff.
- Aschoff J.: Circadian rhythms in man. *Science* **148** (1965) 1427-1432
- Aukland K., Johnsen H.M.: A colloid osmometer for small fluid samples. *Acta physiol Scand* **90** (1974) 485-490
- Aukland K., Noddeland H., Hommel E.: Measurement of colloid osmotic pressure in body fluids: errors caused by preheparinized glass capillaries and by CO₂ loss. *Scand J Clin Lab Invest* **47** (1987) 331-335
- Barclay S.A., Bennett D.: The direct measurement of plasma colloid osmotic pressure is superior to colloid osmotic pressure derived from albumin or total protein. *Intensive Care Med.* **13** (1987) 114-118
- Bisera J., Weil M.H., Michaels S., Bernado A., Stein B.: An "Oncometer" for clinical measurement of colloid osmotic pressure of plasma. *Clin Chem* **24** (1978) 1586-1589
- Böhmer A.: Hydrostatic pressure in the inner ear fluid compartments and its effects on inner ear function. *Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl* **507** (1993) 4-24
- Bundesärztekammer – Arzneimittelkommission: Vorsicht bei der Hämodilutionstherapie mit Hydroxyethylstärke (HES). *Bekanntgabe Dt. Ärztebl.* **90** (1993)
- Cone A.: The use of colloids in clinical practice. *Brit J Hosp Med* **54** (1995) 155-159

- Cornelissen G., Haus E., Halberg F.: Blood pressure assessment from womb to tomb. In: Touitou Y. and Haus E., 428-452 (1994)
- Dressler C., Dauberschmidt R.: Kolloidosmotischer Druck – Physiologische, pathophysiologische und klinische Bedeutung. *Anaesthesiol Reanimat* **13** (1988) 195-203
- Duncan A., Young D.S.: Measurements of serum colloid osmotic pressure are of limited usefulness. *Clin Chem* **28** (1982)141-145
- Förster H.: Künstlicher Blutersatz. *Der Chirurg* **65** (1994) 1085-1094
- Forth W., Henschler D., Rummel W.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Bibliograph. Institut Mannheim, 4.Aufl.1983
- Gaethgens P., Ley K., Pries A.R., Müller R.: Wechselwirkung zwischen Leukozyten und Blutströmung in der Mikrozirkulation. In: Meßmer K., Hammersten F.: Entzündung und Rheologie der Leukozyten. Verlag Karger, Basel 1985
- Graf H., Retzke U.: Der kolloidosmotische Druck des Blutes, Physiologie, Meßtechnik und präanalytische Einflußfaktoren. *Zentrbl Gynäkol* **113** (1991) 1005-1014
- Graf H., Retzke U.: Die circadiane Rhythmik des kolloidosmotischen Druckes des Blutes. *Anaesthesiol Reanimat* **18** (1993) 40-43
- Grundler W.G., Weil M.H., Miller J.M., Rackow E.C.: Observations on colloid osmotic pressure, hematocrit and plasma osmolality during cardiac arrest. *Crit Care Med* **13** (1985) 895-896
- Grünert, A.: Onkometrie. Kohlhammer-Verlag, Stuttgart 1985
- Guyton A.C., Granger H.J., Taylor A.E.: Interstitial fluid pressure. *Physiol. Rev.* **51** (1971) 527-563
- Hagen R, Frömel J: Circadianer Verlauf hämorheologischer Parameter. In Henrich HA, Trenkel K: 14. Jtg. Ges. f. Mikrozirk., Vortragsmanuskripte 8, Würzburg (1990)
- Hampe R.: Innenohrstörungen und kolloidosmotischer Druck. Medizinische Dissertation, Universität Würzburg (2000)

- Hansen A.T.: A self-recording electronic osmometer for quick, direct measurement of colloid osmotic pressure in small samples. *Acta Physiol Scand* **53** (1961) 197-213
- Haynes G.R., Conroy J.M., Baker III D., Cooke J.E.: Colloid oncotic pressure as a guide for the anesthesiologist in directing fluid therapy. *Southern Med J* **82** (1989) 618-623
- Hindman B.J., Funatsu N., Cheng D.C.H., Bolles R., Todd M., Tinker J.H.: Differential effect of oncotic pressure on cerebral and extracerebral water content during cardiopulmonary bypass in rabbits. *Anaesthesiology* **73** (1990) 951-957
- Hoefs J.C.: Globulin correction of the albumin gradient: correlation with measured serum to ascites colloid osmotic pressure gradients. *Hepatology* **16** (1992) 396-403
- Höhmann D., Müller S., Dornhoffer J.L.: Influence of myelography on the developmental curve of auditory brainstem responses and hearing loss. *Eur Arch Otolaryngol* **252** (1995) 97-101
- Howland W.S., Schweitzer O., Ragasa J., Jascott D.: Colloid oncotic pressure and levels of albumin and total protein during major surgical procedures. *Surgery, Gynecology, Obstetrics* **143** (1976) 592-596
- Intaglietta M., Zweifach B.W.: Measurement of blood plasma colloid osmotic pressure, technical aspects. *Microvasc Res* **3** (1971) 72-82
- Intaglietta M., Zweifach B.W.: Measurement of blood plasma colloid osmotic pressure, comparative study of different species. *Microvasc Res* **3** (1971) 83-88
- Iverson P., Johansen, E.H.: Pathogenese und Resorption von Trans- und Exsudaten in der Pleura. *Klin Wschr* **8** (1929) 1311-1312
- Jung W., Berning K., Keck W., Scharfenberger M.: Innenohrstörungen und kolloidosmotischer Druck. Referat Nr. 246, Jahrestagung Deutsche Gesellschaft für Hals - Nasen - Ohren - Heilkunde, Nürnberg 1997
- Jung W., Gattaz G., Schön F.: The kinetic Experiments with Radionuclids concerning the Perilymph-Blood Barrier in Guinea-pig model. *Arch Otolaryngol* **246** (1989) 11-19

- Kabi-Pfrimmer-Pharmacia: Expafusin und Expafusin sine. Werbefrospekt der Firma Kabi-Pfrimmer-Pharmacia.
- Kakiuchi Y., Arai T., Horimoto M., Kikuchi Y., Koyama T.: a new needle-type colloid osmometer for continuous determination of blood oncotic pressure. *Am. J. Physiol.* **236** (1979) F419-422
- Katz M.A.: New Formulation of water and macromolecular flux which corrects for non-ideality. Theory and derivation, predictions and experimental results. *J. theor. Biol.* **112** (1985) 369-401
- Keidel W.D.; Physiologie des Gehörs. In W.D. Keidel "Kurzgefäßtes Lehrbuch der Physiologie", Thieme-Verlag, Stuttgart 1970
- Kim K.E., Onesti G., Fernandes M., Mittendorf S., Swartz C.: The hemodynamic and blood volume effects of massive albumin infusion in anephric man. *Circulation* **52** (1975) (suppl. 2) 55
- Kimura R.S., Schuhknecht H.F.: Membranous hydrops in the inner ear of the guinea pig after obliteration of the endolymphatic sac. *Pract Oto – Rhino – Laryngol* **27** (1965) 343-354
- Klemm E., Holotiuk K.: Hörsturz und Vestibularisausfall; Kriterien der Hämatologie. *HNO Heute* **2** (1997) 94-97
- Konopka R., Benzer S.: Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci* **69** (1971) 2112-2116
- Ladegaard-Pedersen H.J.: Measurement of the colloid osmotic pressure in patients. *Scand J Clin Lab Invest* **20** (1967) 79-82
- Landis E.M., Pappenheimer J.R.: Exchange of substances through the capillary walls. In: Hamilton, Dow eds., *Handbook of Physiology*, Baltimore, Waverly Press (1963) 961-1034
- Lemmer B.: Cardiovascular chronobiology and chronopharmacology. In Touitou Y. and Haus E., 418-427 (1994)
- Lundsgaard-Hansen P., Pappova E.: Colloids versus crystalloids as volume substitutes: clinical relevance of the serum oncotic pressure. *Ann clin Res* **13** (1981) Suppl. 33, 5-17
- Lutz H.: Plasmaersatzmittel. Thieme-Verlag (1994)

- Manevich A.Z., Markin S.A., Akinshin A.V., Zaletov S.: Colloid osmotic pressure of the blood of patients with neurosurgical pathology. *Zh. Vopr. Neurokhir.* **5** (1981) 18-22
- Michel O.: *Der Hörsturz*. Thieme – Verlag, Stuttgart – New York 1994
- Michel O., Jahns T., Joost-Enneking M., Neugebauer P., Streppel M., Stennert E.: Das antiphlogistisch – rheologische Infusionsschema nach Stennert in der Behandlung von kochleo – vestibulären Störungen. *HNO* **48** (2000) 182-188
- Miki K., Sagawa S., Shiraki K.: Factors influencing the determination of colloid osmotic pressure of plasma. *Sangyo Ika Daigaku Zasshi* **5** (1983) 405-412
- Mohsenin V., Gonzales R.R.: Tissue pressure and plasma oncotic pressure during exercise. *J appl Physiol* **56** (1984) 102-108
- Moore W.J., Hummel D.O.: *Physikalische Chemie*. 4. Aufl., de Gruyter – Verlag, Berlin – New York 1986
- Morissette M.P.: Colloid osmotic pressure: its measurement and clinical value. *CMA Journal* **116** (1977) 897-900
- Mrowinski D., Scholz G., Anft D.: Diagnostik des endolymphatischen Hydrops. *HNO Aktuell* **8** (2000) 255-260
- Mullins R.E., Pappas A.A., Gadsden R.H.: Correlation of standardized serum protein determinations with calculated and measured colloid osmotic pressure. *Am J Clin Pathol* **80** (1983) 170-175
- Mutschler E.: *Arzneimittelwirkungen*. 7. Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1996
- Nesper R., Patzke G.: Festkörperchemie: Nanoröhren – Funktionsteilchen des 21. Jahrhunderts? *Nachrichten Chemie* **49** (2001) 886-890
- Ott H.: Die Errechnung des kolloidosmotischen Serumdruckes aus dem Eiweißspektrum und das mittlere Molekulargewicht der Serumeiweißfraktionen. *Klin Wschr* **34** (1956) 1079-1083
- Pappenheimer J.R., Soto-Rivera A.: Effective osmotic pressure of the plasma proteins and other quantities associated with the capillary circulation in the hind limbs of cats and dogs. *Amer J Physiol* **152** (1948) 471-491 Ü
- Pfeffer W.: *Osmotische Untersuchungen*. Engelmann, Leipzig (1877) 3-102

- Prather J.W., Brown W.H., Zweifach B.W.: An improved osmometer for measurement of plasma colloid osmotic pressure. *Microvasc Res* **4** (1972) 300-305
- Probst R., Tschopp K., Ludin E., Kellerhals B., Podvinec M., Pfaltz C.R.: A randomized, double – blind, placebo – controlled study of Dextran – Pentoxifylline medication in acute acoustic trauma and sudden hearing loss. *Acta Otolaryngol* **112** (1992) 435-443
- Puri V.K., Weil M.H., Michaels S., Carlson R.W.: Pulmonary edema associated with reduction in plasma oncotic pressure. *Surgery, Gynecology, Obstetrics* **151** (1980) 344-348
- Retzke U., Graf H.: Der kolloidosmotische Druck des Blutes; Physiologie, Meßtechnik und präanalytische Einflußfaktoren. *Zentralbl. Gynäkol.* **113** (1991) 468- 476
- Reusser P., Oberholzer M., Wolff G.: Messung und Berechnung des kolloidosmotischen Drucks (COP) im ungestörten postoperativen Verlauf. *Schweiz Med Wschr* **110** (1980) 1163-1169
- Rietveld W.J.: The suprachiasmatic nucleus and other pacemakers. In: Touitou Y. and Haus E, 55-64 (1994)
- Rote Liste 2000
- Rüttger B.: Mehrkanal-Laser-Doppler-Messungen zur tierexperimentellen Kontrolle der Innenohrdurchblutung. Medizinische Dissertation, Universität Würzburg (1994)
- Salmon J.B., Mythen M.G.: Pharmacology and Physiology of Colloids. *Blood Reviews* **7** (1993) 114-120
- Sartorius: Prospekt zu semipermeablen Membranen, Fa. Sartorius. Göttingen 1980
- Seifen E: Plasmaersatzmittel. In: Forth W., Henschler D., Rummel W.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Bibliograph. Institut, Mannheim, 4. Aufl. 1983, 156-162
- Serag-Wiesner: Serag-HAES 6%/10%. Hydroxyethylstärkepräparate HAES 200.000/0,5-NaCl 0,9%. Produktinformation der Serag-Wiesner GmbH & Co. KG, 95112 Naila/Bayern, 1993

- Sipos E., Weindlmayr-Goettel M.: Zwei neue Onkometer – Ergebnisse eines Vergleichs. *Anaesthesist* **33** (1984) 512-515
- Starling E.H.: On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. *J Physiol* **19** (1895/96) 312-326
- Staverman A.J.: The theory of measurement of osmotic pressure. *Rec. Trav. Chimiques Pays Bas* **70** (1951) 344-352
- Strutz J.: Stellenwert des Stennert-Schemas in der Hörsturztherapie. *HNO* **48** (2000) 165-169
- Talan M.I., Engel B.T., Kawate R.: Overnight increases in haematocrit: additional evidence for a nocturnal fall in plasma volume. *Acta Physiol Scand* **144** (1992) 473-476
- Talan M.I., Engel B.T.: Morning increase in whole blood viscosity: a consequence of a homeostatic nocturnal haemodynamic pattern. *Acta Physiol Scand* **147** (1993) 179-183
- Teschner M., Priv.-Doz. Dr., Kuratorium für Dialyse, Hans-Brandmann-Weg 1, Würzburg; persönliche Mitteilung an Dr. W. Jung, Mai 1997
- Thews G.: Diffusion und Permeation. In: D-Glucose und verwandte Verbindungen in Medizin u. Biologie. Enke-Verlag, Stuttgart (1966)
- Thomae: Prospekt zum Onkometer BMT 921 der Firma Dr. Karl Thomae GmbH
- Touitou Y., Haus E.: *Biologic Rhythms in Clinical and Laboratory Medicine*. Springer - Verlag 1994
- Unertl K., Dieterich H.J.: Humanalbumin, time to say good-bye? Begleitheft zum Tübinger Anästhesie – Symposium 1998
- Van 't Hoff J.H.: Die Rolle des osmotischen Druckes in der Analogie zwischen Lösungen und Gasen. *Z physikal Chem* **1** (1887) 481-508
- Walsted A., Salomon G., Thomsen J., Tos M.: Hearing decrease after loss of cerebrospinal fluid. *Acta Otolaryngol (Stockh)* **111** (1991a) 468-476
- Walsted A., Salomon G., Olsen K.S.: Low frequency hearing loss after spinal anesthesia. Perilymphatic hypotonia? *Scand Audiol* **20** (1991b) 211-215
- Webb A.R., Barclay S.A., Bennett E.D.: In vitro colloid osmotic pressure of commonly used plasma expanders and substitutes: a study of the diffusibility of colloid molecules. *Intensive Care Med* **15** (1989) 116-120

- Weidhase R.: Differentialtherapie des Volumenersatzes, Serumwerke Bernburg AG, Firmenschrift zum Symposium am 20.09.1993, Bernburger Kolloquien Nr. 1, 1993
- Weil M.H., Carlson R.W.: Colloid osmotic pressure and pulmonary edema. *Chest* **72** (1977) 692-693
- Weil M.H., Henning R.J., Puri V.K.: Colloid oncotic pressure: clinical significance. *Crit Care Med* **7** (1979) 113-116
- Weil M.H., Morissette M., Michaels S., Bisera J., Boyck E., Shubin H., Jacobson E.: Routine plasma colloid osmotic pressure measurements. *Crit Care Med* **2** (1974) 124-132
- Wescor: Prospekt zum Onkometer der Firma Wescor Inc., Logan (Utah), USA, 1991
- Wiig H., Halleland E.G., Fjærtøft M., Aukland K.: Measurement of colloid osmotic pressure in submicrolitre samples. *Acta Physiol Scand* **132** (1988) 445-452
- Wilhelm H.J., Melchisedech S., Miklitza J.: Hörsturztherapie - Ambulantes Akutschema mit HES (200/0,5). *HNO-Highlights* **10** (2000) 10-11
- Will B.R., Brace R.A.: Physiological effects of pH changes on colloid osmotic pressures. *Am J Physiol* **248** (1985) 890-893
- Wolfert A.I., Laveri L.A., Oken D.E.: An alternate method for estimating efferent arteriolar plasma colloid osmotic pressure. *Am J Physiol* **248** (1985) F 444-448

Die vorliegende Arbeit entstand in der HNO-Universitätsklinik in Würzburg unter Anleitung und auf Anregung von Herrn Prof. Dr. J. Helms. An dieser Stelle möchte ich ihm für die Überlassung des Themas danken.

Herrn Wolfgang Keck möchte ich für die Vorarbeiten zur Etablierung der KOD-Messungen danken. Diese systematischen und zuverlässigen Daten waren für die späteren Messungen von unschätzbarem Wert.

Außerdem gilt mein Dank den ärztlichen und wissenschaftlichen Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für Hals -, Nasen - und Ohrenkranke der Universität Würzburg, insbesondere Herrn Dr. med. M. Scharfenberger und Herrn Dr. med. K. Berning für die geleistete Unterstützung bei klinischen Fragestellungen, der Planung und Durchführung der Arbeit. Herr Dr. rer. nat. F. Schön war bei statistischen und computertechnischen Fragestellungen ein immer hilfsbereiter Ansprechpartner. Ebenfalls danken möchte ich Dr. Schindler für die Vorversuche zur Extrapolation.

Herrn Prof. Dr. von Golitschek sei für die Erstellung des Extrapolationsprogrammes und Auswertung einiger Kurven ganz herzlich gedankt. Vielen Dank an Frau Dr. I. Haubitz für die geduldige Hilfe bei statistischen Problemen.

Herrn Prof. Dr. von Deuster danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferates.

Ganz herzlich möchte ich mich bei meinem Betreuer Herrn Dr. Jung für die jederzeit freundliche Begleitung während der gesamten Durchführung der Versuche und der Erstellung der Promotion bedanken.

Ralph Hampe danke ich für unsere Freundschaft und die Zusammenarbeit während der gemeinsamen Zeit der Promotion.

Meinen Eltern möchte ich für die jederzeit liebevolle Unterstützung während meiner gesamten Ausbildung danken, Annette und Wolfgang für die Durchsicht der Arbeit und den aufopfernden Beistand in allen Lebenslagen.

Lebenslauf

Angaben zur Person	Name	Jens Stehle
	Wohnort	Goethestr. 4a 97072 Würzburg
	Geburtstag und -ort	09.12.72 Ravensburg
	Nationalität	deutsch
Familienstand	Seit 26.05.00	verheiratet mit Nicole Stehle geb. Stegmaier Apothekerin
Eltern		Werner Stehle Jutta Stehle
Schulbildung	07/79 - 07/83	Grundschule Reute
	07/83 - 05/92	Gymnasium Bad Waldsee
Zivildienst	08/92 - 10/93	Rettungshelfer beim DRK in Bad Waldsee
Studium	11/93 - 11/99	Medizin – Studium an der Universität Würzburg
	10.11.99	Staatsexamen, Gesamtnote sehr gut
Praktisches Jahr	10/98 - 02/99	1. Terial in der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg
	02/99 - 06/99	2. Terial im König-Ludwig-Haus in Würzburg
	06/99 - 10/99	3. Terial in der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg
Famulaturen	03/96	Innere Medizin im Elisabethen- Krankenhaus in Ravensburg
	09/96	Chirurgie im Kreiskrankenhaus Bad Waldsee
	03/98	Orthopädie in der Praxis Drs. Albert/Keil in Würzburg
	04/98	Innere Medizin im US-Army- Hospital in Würzburg
Berufliche Tätigkeit	12/99 – 5/01	Arzt im Praktikum im König- Ludwig-Haus in Würzburg, Orthopädische Universitätsklinik
	seit 6/01	Assistenzarzt im König-Ludwig- Haus in Würzburg, Orthopädische Universitätsklinik

Würzburg, 09.07.2001

