

» Gelatine schützt Erythrozyten in vitro und in vivo vor mechanischer Belastung

Schlüsselwörter: Hämolyse – Erythrozyten – Gelatine – Kolloide – Plasmaproteine

Key words: Hemolysis – Erythrocytes – Gelatine – Colloids – Plasma proteins

Einleitung

Blutbestandteile werden während maschineller Autotransfusion (MAT) und während extrakorporaler Zirkulation (EKZ) mechanisch belastet. Das Ausmaß des mechanisch bedingten Bluttraumas hängt von den technischen Eigenschaften der blutpumpenden Systeme und von den biochemischen Eigenschaften der Erythrozytensuspensionen ab. Mechanische Beschädigungen der Erythrozytenmembranen können auftreten, wenn biaxiale Membranspannungen durch Auftreten von Scherkräften oder Aufprall auf Fremdoberflächen eine kritische Grenze überschreiten. Hämoglobin kann dann auf verschiedenen Wegen freigesetzt werden: über vergrößerte Poren in Membranen von stark geschwollenen Erythrozyten, über Perforationen in Membranen und aus fragmentierten Erythrozyten, wobei das Hämoglobin komplett freigesetzt werden kann und eine leere Zellhülle („Ghost“) zurückbleibt [8, 15, 34]. Wenn die mechanisch bedingten Membranspannungen nicht für eine Hämoglobinfreisetzung ausreichen, können sich trotzdem Zellveränderungen ergeben, die eine spätere Hämolyse begünstigen und zu einer Verkürzung der Überlebensdauer der Erythrozyten führen, die sich klinisch in einer Postperfusionsanämie äußern kann (subhämolytisches Trauma) [42]. Die rheologischen Eigenschaften von Erythrozyten werden durch mechanische Belastung vergleichbar einem beschleunigten Alterungsprozess beeinflusst [23]. Freies Hämoglobin wirkt insbesondere in Anwesenheit von Erythrozytentrümmern nierenschädigend und kann ein akutes Nierenversagen hervorrufen [16, 27, 32, 38]. Durch Bindung oder Inaktivierung von Stickstoffmonoxid (NO) kann es vasokonstriktiv wirken [47] und durch Freisetzung von Adenosindiphosphat können Thrombozyten aktiviert werden [7].

Um die mechanische Bluttraumatisierung während EKZ und MAT zu minimieren, wurden bisher primär technische Ver-

R. Sümpelmann¹, R. Zander²

¹ Anästhesie III der Medizinischen Hochschule Hannover

² Institut für Physiologie und Pathophysiologie der Universität Mainz

besserungen von Rollerpumpen und anderen Gerätebestandteilen durchgeführt. Untersuchungen über die mechanische Fragilität von unterschiedlichen Erythrozytensuspensionen liegen zur Zeit nur vereinzelt vor (z. B. [11, 24]), obwohl die Zusammensetzung von mechanisch belastetem Blut auch unter klinischen Bedingungen in Abhängigkeit von den verwendeten Dilutions- oder Waschlösungen erheblich von den physiologischen Verhältnissen abweichen kann. In der vorliegenden Übersichtsarbeit soll deshalb anhand von eigenen experimentellen und tierexperimentellen Befunden auf dem Hintergrund von bereits vorliegenden Studien dargestellt werden, welche Zusammenhänge zwischen der mechanischen Fragilität von Erythrozyten und verschiedenen künstlichen und natürlichen Suspensionsmedien bestehen können.

Mechanische Hämolyse in vitro

In einer ersten Untersuchungsreihe [46] wurden 60 Erythrozytenkonzentrate (EK) in additiver Lösung mit einem Cellsaver gewaschen. Als Waschlösungen wurden isotone Kochsalzlösung (NaCl), physiologische Vollelektrolytlösung (VE: V Infusionslösung 296 mval Electrolyte, Baxter, Irvine) und physiologische Erythrozytenprotektionslösung (PEP: 3,2% Gelatine, pH 7,40, CHCO_3^- 24 mmol/l; siehe Beitrag Zander) verwendet. Vor und nach dem Waschen wurden die Hämolyseparameter freies Hämoglobin (fHb) photometrisch und Laktat-Dehydrogenase (LDH Test-Kit, Boehringer Mannheim) enzymatisch gemessen. fHb und LDH waren signifikant niedriger, wenn EK's mit PEP gewaschen wurden. Die gemessenen freien Hämoglobinkonzentrationen lagen aber in allen Fällen unter der kritischen Grenze von 0,8% (ca. 400 mg/dl fHb). Die osmotische Resistenz nahm durch das Waschen mit allen drei Waschlösungen zu und war mit PEP signifikant höher, als mit den kristalloiden Lösungen.

In einer zweiten Untersuchungsreihe [43, 46] wurde das mechanische Hämolyseverhalten von gelagerten Erythrozyten in Gelatine (Gelafusine, Braun, Melsungen), Plasmaproteinlösung, Hydroxyäthylstärke (Rheohes, Braun, Melsungen) und isotoner Kochsalzlösung in einem Modellkreislauf aus Rollerpumpe (Stöckert, Einstellung nicht okklusiv) und Kardiotomie-reservoir untersucht (Abb. 1). Das mechanische Hämolyseverhalten der Erythrozyten wurde während einer Zirkulationszeit von 120 Minuten deutlich vom Suspensionsmedium beeinflusst. Die Freisetzung von Hämoglobin und Laktat-Dehydrogenase nahm unter mechanischer Belastung in der Reihenfolge Gelatine, Plasmaproteinlösung, Hydroxyäthylstärke und isotoner Kochsalzlösung zu (Abb. 2). Die Konzentration von freiem Hämoglobin und die Aktivität der Laktat-Dehydrogenase



Abb. 1 Modellkreislauf aus Rollerpumpe und Kardiotomiereservoir zur Untersuchung des mechanischen Hämolyseverhaltens von Erythrozytensuspensionen (nach [43,46]).

änderten sich dagegen in einem Kontrollversuch nicht, wenn die Erythrozytensuspensionen keiner mechanischen Belastung ausgesetzt waren. Die mechanische Fragilität der Erythrozyten vergrößerte sich mit zunehmender Lagerungsdauer, besonders wenn die Erythrozyten in isotoner Kochsalzlösung suspendiert waren (Abb. 3). Zusammenhänge zwischen Plasmaviskosität, Osmolalität und mechanischer Fragilität konnten nicht gefunden werden. Auffällig war eine extrem erhöhte Erythrozytensedimentationsgeschwindigkeit in den Gelatinesuspensionen.

Untersuchungen über die erythrozytenprotektiven Eigenschaften von Blutplasma wurden von Butler et al. [11] und Kamenava et al. [24] durchgeführt. Sie verwendeten als Hämolysemodell ein Gefäß, in dem Glas- bzw. Metallkugeln enthalten waren und in dem verschiedene Erythrozytensuspensionen durch rhythmisches Schaukeln mechanisch belastet wurden. In der von Butler et al. [11] durchgeführten Studie konnte gezeigt werden, dass die mechanisch bedingte Hämolyse von frischen

gewaschenen Erythrozyten durch Zusatz von autologem Plasma hochgradig vermindert wird. Der erythrozytenprotektive Effekt trat auf mit Plasma, erhitztem und dialysiertem Plasma und Albumin, während für Gammaglobuline, Haptoglobin, Caeruloplasmin und Alpha-2-Makroglobulin keine Erythrozytenprotektion gefunden werden konnte. Der erythrozytenprotektive Effekt nahm mit zunehmender Proteindilution ab und hing nicht mit unterschiedlichen Viskositäten zusammen. Butler folgerte aus seinen Untersuchungen, dass ein Mangel an erythrozytenprotektiven Proteinen die Entwicklung einer hämolytischen Anämie fördern kann. Eine ähnliche Untersuchung wurde 1997 von Kamenava et al. durchgeführt [24]. Sie konnte ebenfalls zeigen, dass Erythrozyten durch Serum, Plasma und Albumin vor mechanisch bedingter Hämolyse geschützt werden, dass der erythrozytenprotektive Effekt von Plasmaproteinen konzentrationsabhängig ist und dass die Hämoglobinfreisetzung signifikant höher ist, wenn die Erythrozyten in Dextran oder isotoner Kochsalzlösung suspendiert waren. Die mechanisch bedingte Hämolyse nahm signifikant ab, wenn mehr als 25% des Suspensionsmediums aus Plasma bestand, und sie erhöhte sich signifikant, wenn mehr als 30% des Plasmas durch kristalloide Lösung oder Dextran ersetzt wurde.

In einer dritten Untersuchungsreihe wurden deshalb die erythrozytenprotektiven Eigenschaften von verschiedenen kristalloiden und kolloidalen Lösungen mit einem Tonometer (IL 237, Instrumentation Laboratory, Kirchheim; Abb. 4) bestimmt, wie es zur Äquilibration von Blutproben (z.B. zur Messung von Sauerstoffhalbsättigungsdrücken) eingesetzt wird. Die mechanische Belastung der Erythrozytensuspensionen entsteht in diesem Modell durch Rotation und Anhalten des Probengefäßes. Frische gewaschene Erythrozyten hatten hohe Hämolyseraten, wenn sie in Dextran, Hydroxyäthylstärke, isotoner Kochsalzlösung oder additiver Konservierungslösung (SAG-M, PAGGS-M) suspendiert waren und vergleichbar niedrige Hämolyseraten, wenn sie in Plasma, Albumin oder Gelatine suspendiert waren (Abb. 5 und 6). Die unterschiedliche Elektrolytzusammensetzung der verwendeten Lösungen hatte keinen Einfluss auf das Hämolyseverhalten. Der erythrozyten-

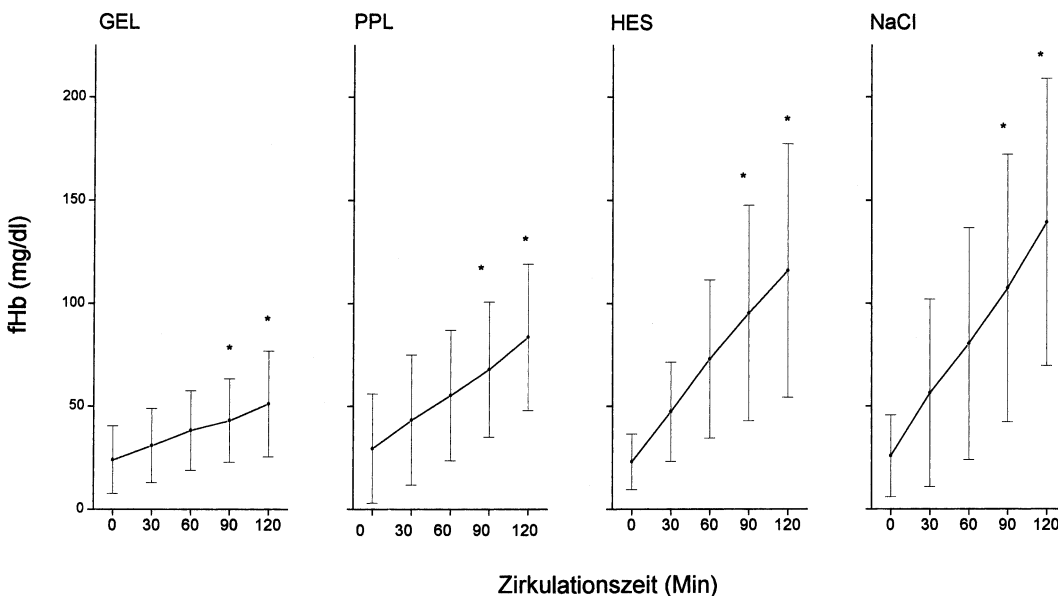


Abb. 2 Mechanisches Hämolyseverhalten von Erythrozytensuspensionen im Modellkreislauf (gelagerte Erythrozyten in Gelatine (GEL), Plasmaproteinlösung (PPL), Hydroxyäthylstärke (HES) und isotoner Kochsalzlösung (NaCl); *p<0,05, Kruskal-Wallis-Test; nach [43, 46]).

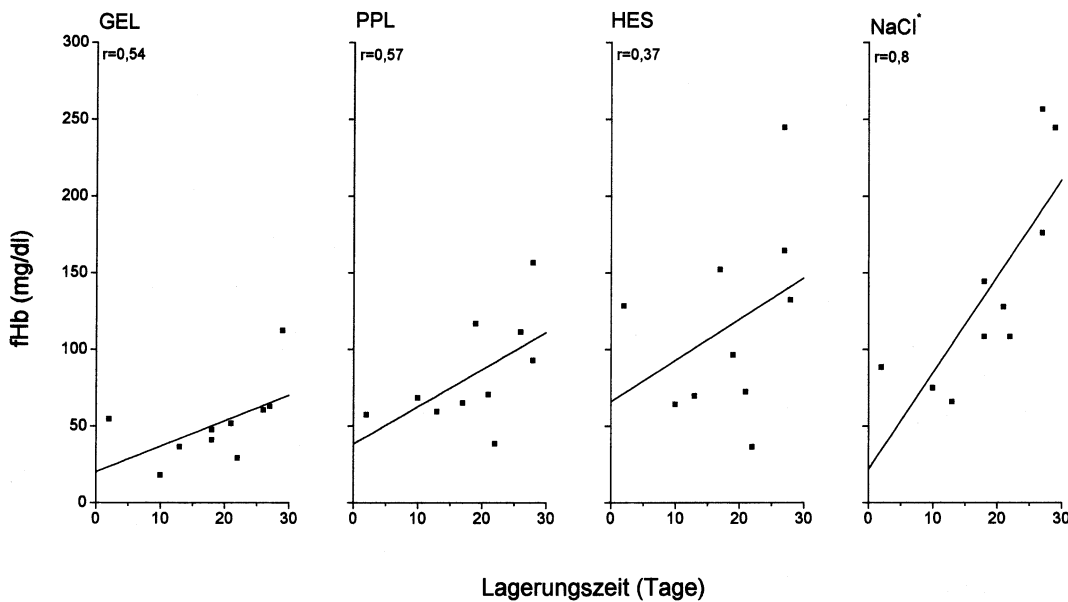


Abb. 3 Lineare Regression von freiem Hämoglobin (fHb) und Lagerungszeit der Erythrozytenkonzentrate (EK) nach 120 Minuten Zirkulation im Modellkreislauf (gelagerte Erythrozyten in Gelatine (GEL), Plasmaproteinlösung (PPL), Hydroxyäthylstärke (HES) und isotoner Kochsalzlösung (NaCl); r-Korrelationskoeffizient; nach [43, 46]).

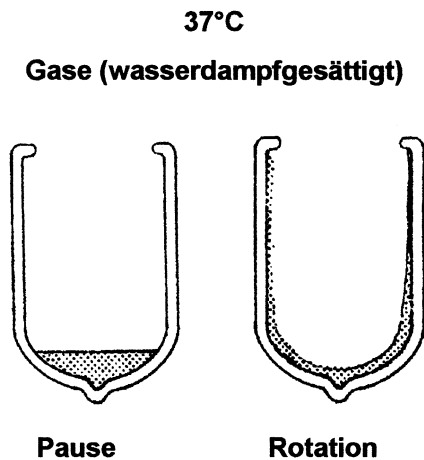


Abb. 4 Tonometer zur Untersuchung des mechanischen Hämolyseverhaltens von Erythrozytensuspensionen. Die mechanische Belastung entsteht durch Rotation und Anhalten des Probengefäßes.

(gewaschenes Blutvolumen 1500 ml). Es konnte gezeigt werden, dass die freien Hämoglobinkonzentrationen mit zunehmender Proteindilution ansteigen, wenn kristalloide Waschlösungen verwendet werden, und dass die freien Hämoglobinkonzentrationen abnehmen, wenn eine gelatinehaltige PEP-Lösung verwendet wird (Abb. 7).

Einzelne Hinweise auf eine verminderte Hämoglobinfreisetzung bei Verwendung von Gelatinelösungen als Priming-Volumen einer EKZ gab es bereits in den sechziger Jahren. Leutschaft [30] und Silvay et al. [37] konnten zeigen, dass die Hämoglobinfreisetzung während EKZ mit einer gelatinehaltigen Lösung niedriger als mit einer Dextran- oder Glukoselösung war. In einer Untersuchung von Himpe et al. [20] hatten Patienten nach EKZ mit Gelatine- und Albuminlösungen als Priming-Volumen vergleichbar niedrige freie Hämoglobinkonzentrationen.

protektive Effekt von Albumin verringerte sich ab einer Konzentration von 1 g/dl. Mit Gelatine konnten erythrozytenprotektive Effekte bereits bei Konzentrationen von 0,25 g/dl nachgewiesen werden.

Mechanische Hämolyse in vivo

Standardwaschlösung für die MAT ist derzeit isotone Kochsalzlösung (NaCl) [1, 18]. Vergleichende klinische Untersuchungen von kristalloiden und kolloidalen Waschlösungen liegen zum jetzigen Zeitpunkt nicht vor. Nach Henn et al. [19] war bei orthopädischen Patienten der Abfall der Haptoglobinkonzentration nach Transfusion von mit NaCl gewaschenen autologen Erythrozyten signifikant größer als nach Fremdbluttransfusion. Spain et al. [40] konnten in einer Untersuchung von 1596 Patienten mit MAT erhöhte freie Hämoglobinkonzentrationen nachweisen.

In einer vierten tierexperimentellen Untersuchungsreihe [45,46] wurde deshalb das Blut von jungen Schweinen (errechnetes Blutvolumen 800 ml) in 15 Zyklen mit kristalloider Lösung (NaCl und VE) oder PEP gewaschen und retransfundiert

Beeinflussung der Erythrozytenmorphologie

Untersuchungen zur Beeinflussung der Erythrozytenmorphologie durch Suspensionslösungen wurden bereits 1955 von Ponder durchgeführt [33]. Er stellte fest, dass Erythrozyten ihre bikonkave, diskoide Form verlieren und zu Sphärozyten mit Einkerbungen oder spitzen Ausziehungen (Echinozyten) werden, wenn sie mit isotoner Kochsalzlösung gewaschen werden. Nach Resuspension in Frischplasma nehmen die Zellen wieder ihre bikonkave, diskoide Form an. Dieses Phänomen wurde von Ponder „Disk-Sphere“ Transformation und in der neueren Literatur reversible Diskozyten-Echinozyten-Transformation genannt [4 – 6, 9, 25]. Das Auftreten von pathologischen Erythrozytenformen während extrakorporaler Zirkulation und eine Prävention dieser Veränderungen durch Albumin konnten auch in vivo beobachtet werden [21, 22, 31].

In weiteren licht- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen von Erythrozyten in unterschiedlichen Suspensionsmedien [43, 46] fanden sich in Gelatine- und Plasmaproteinlösung fast ausschließlich normale, bikonkave Diskozyten, in Hydroxyäthylstärke auffällig häufig Erythrozyten mit un-

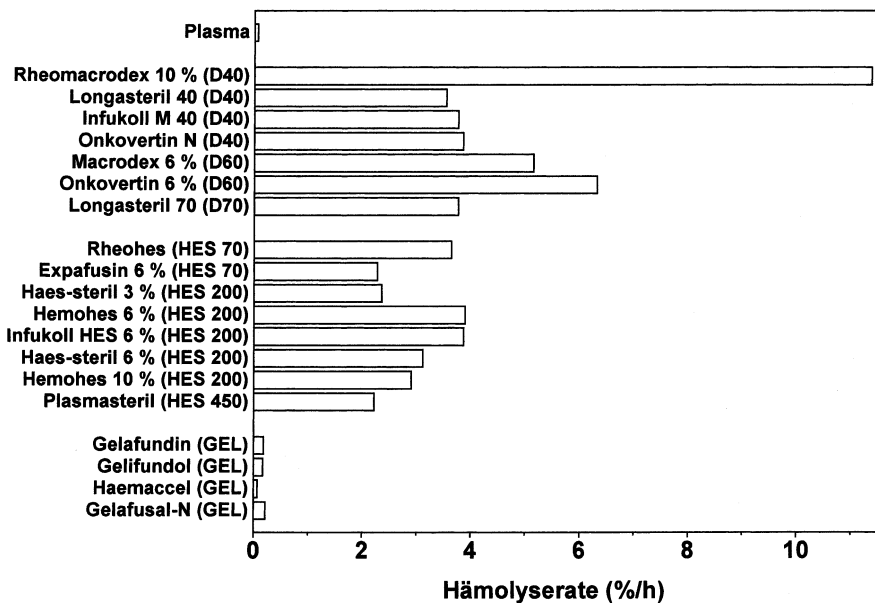


Abb. 5 Mechanisches Hämolyseverhalten von Erythrozytensuspensionen mit künstlichen Kolloiden im Tonometerversuch (frische, gewaschene Erythrozyten in Dextran (D), Hydroxyäthylstärke (HES), Gelatine (GEL); Zahlenangaben 1×10^3 entsprechen dem Molekulargewicht).

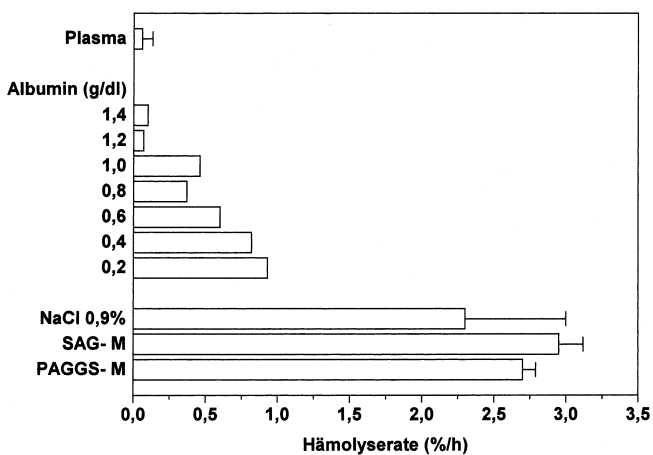


Abb. 6 Mechanisches Hämolyseverhalten von Erythrozytensuspensionen mit verschiedenen Albuminkonzentrationen, isotoner Kochsalzlösung (NaCl) und additiven Konservierungslösungen SAG-M (Natrium, Adenin, Glukose, Mannitol) und PAGGS-M (Phosphat, Adenin, Guanosin, Glukose, Sorbit, Mannitol) im Tonometerversuch.

regelmäßiger Randbegrenzung und in isotoner Kochsalzlösung geschwollene Erythrozyten, die nicht scharf einzustellen waren (Abb. 8).

Nach Bessis [4] hängt die normale bikonkave diskoide Form der Erythrozyten von einem Äquilibrium innerer und äußerer Kräfte ab. Geringe Änderungen der Umgebungsbedingungen können dieses empfindliche Gleichgewicht stören und führen dann dazu, dass der Erythrozyt seine äußere Form in Richtung Echinozyt (Stechapfel) ändert. Nach heutigem Verständnis ist das grundlegende Strukturelement einer Erythrozytenmembran eine Lipiddoppelschicht, die durch hydrophobe Wechselwirkungen stabilisiert wird. An diesen Membranen lagern sich reversibel periphere Proteine an, die durch elektrostatische Wechselwirkungen und Wasserstoffbrücken mit hydrophilen

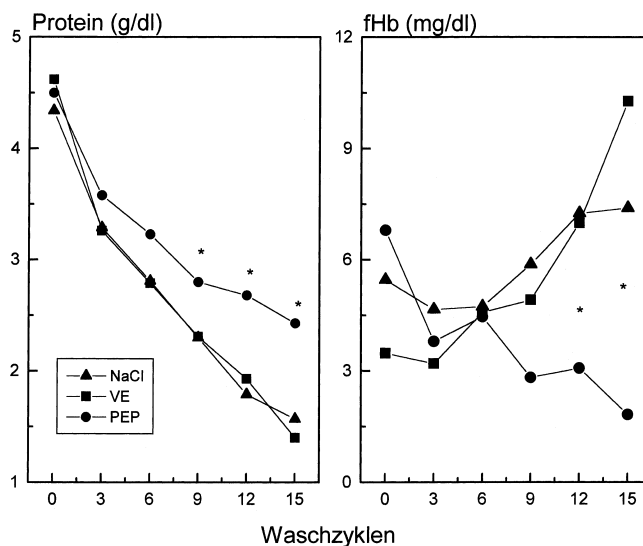


Abb. 7 Plasmaprotein- und freie Hämoglobinkonzentrationen bei jungen Schweinen während maschineller Autotransfusion: mit zunehmender Proteindilution steigen die freien Hämoglobinkonzentrationen (fHb) mit kristalloiden Waschlösungen (isotone Kochsalzlösung (NaCl), physiologische Vollelektrolytlösung (VE)) an und sinken mit physiologischer Erythrozytenprotektionslösung (PEP) ab (* $p < 0,05$, Kruskal-Wallis-Test; nach [45, 46]).

Teilen integraler Membranproteine und polaren Kopfgruppen von Membranlipiden lockere Bindungen eingehen. Wenn periphere Proteine integrale Membranproteine an andere zelluläre Strukturen binden oder die Beweglichkeit von Membranproteinen ändern, kann die Form der Erythrozyten beeinflusst werden. Die angelagerten Proteine können relativ leicht freigesetzt werden, wenn die elektrostatischen Wechselwirkungen beeinträchtigt oder Wasserstoffbrücken gelöst werden [14, 29, 39].

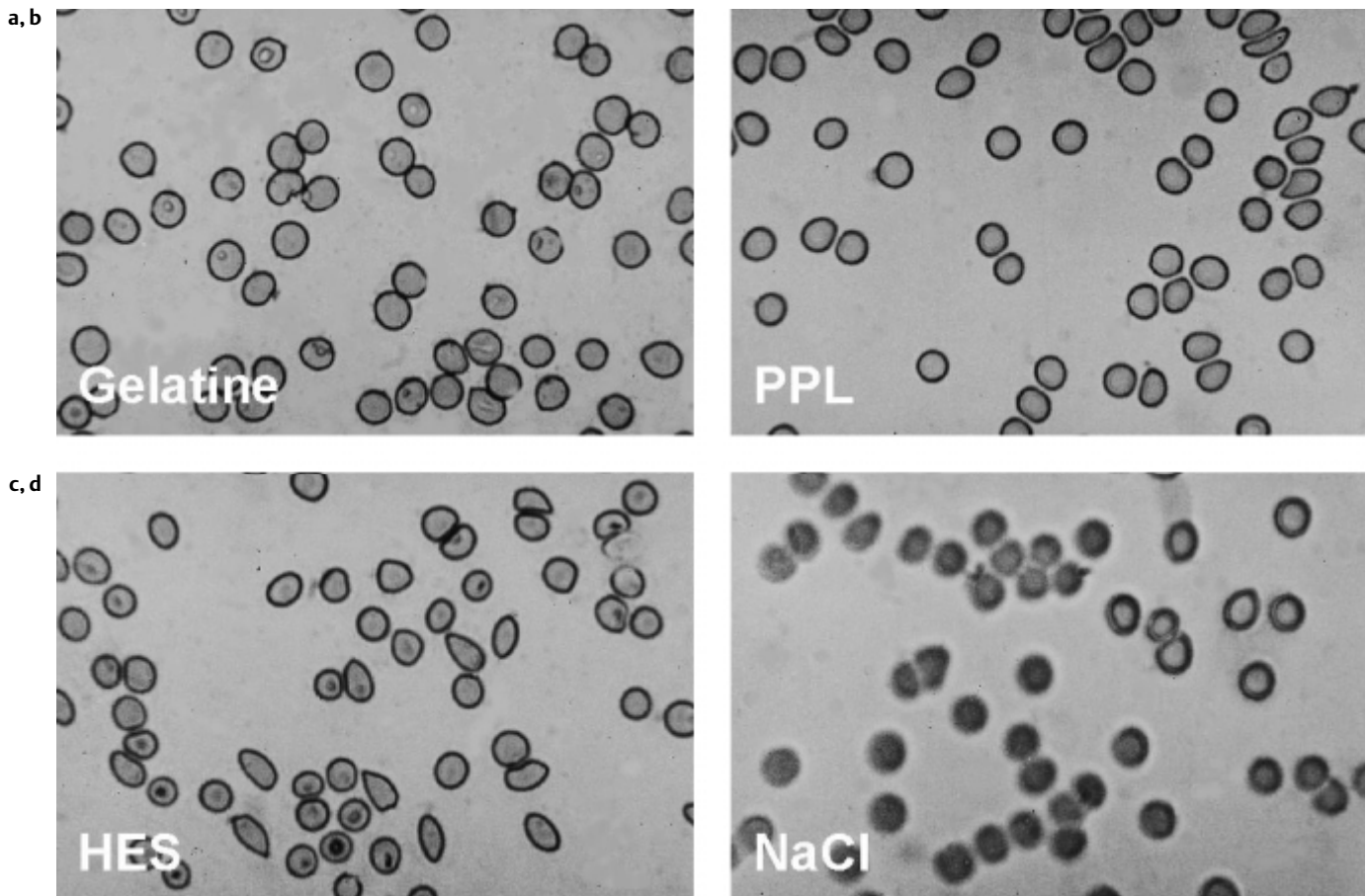


Abb. 8 Lichtmikroskopische Darstellung von gelagerten Erythrozyten in verschiedenen Suspensionslösungen (Giemsa-Färbung, 630-fache Vergrößerung): In Gelatine und Plasmaproteinlösung (PPL) zeigten sich fast ausschließlich normale, bikonkave Diskozyten, in Hydroxyäthyl-

stärke (HES) häufiger Erythrozyten mit unregelmäßiger Randbegrenzung und in isotoner Kochsalzlösung (NaCl) stark geschwollene Erythrozyten mit unscharfer Randbegrenzung (nach [43, 46]).

Beeinflussung von Erythrozytenaggregation und -sedimentation

In normalem Plasma aggregieren Erythrozyten nicht, weil die Erythrozytenmembranen Glycophorine als integrale Membranproteine enthalten, deren negativ geladener Kohlenhydratanteil den Erythrozyten eine hydrophile, anionische Oberfläche verleiht. Dies ermöglicht den Erythrozyten zu zirkulieren, ohne an anderen Zellen oder Gefäßwänden kleben zu bleiben [41]. Die elektrischen Repulsionskräfte der negativen Ladungen auf den Erythrozytenmembranen sorgen dafür, dass Blut normalerweise eine stabile Suspension ist und die Erythrozytensedimentationsgeschwindigkeit sehr gering ist [26, 35, 36]. In allen vier Untersuchungsreihen fiel eine extrem erhöhte Erythrozytensedimentationsgeschwindigkeit in den Gelatinesuspensionen auf. Gelatine ist eine Lösung aus polydispersen, asymmetrischen Molekülen, die reich an elektrostatischen Ladungen sind. Nach Anlagerung von Gelatine an Erythrozytenmembranen verringern sich die Repulsionskräfte, wodurch die Bildung von Erythrozytenaggregaten gefördert und die Erythrozytensedimentationsgeschwindigkeit erhöht wird [10, 12, 13, 17, 44]. Gelatine kann außerdem mit Plasmaproteinen, z.B. Fibronectin spezifisch interagieren, wodurch sich Brücken zwischen Erythrozyten bilden können [2]. Albumin, das den größten Anteil an den Plasmaproteinen

bildet, ist ein sehr symmetrisches Molekül und beeinflusst die Erythrozytenaggregation deshalb kaum, weil es die Erythrozytenmembranen sehr gleichmäßig beschichtet und nicht zur Brückenbildung führt [3, 28].

Erythrozytenprotektiver Effekt von Gelatine

Die morphologischen Untersuchungen und die unterschiedliche Beeinflussung der Erythrozytenaggregation und -sedimentationsgeschwindigkeit lassen den Schluss zu, dass der erythrozytenprotektive Effekt von Gelatine mit spezifischen Interaktionen zwischen Gelatine und Erythrozytenmembranen zusammenhängt. Leutschaft et al. [30] bestimmten 1969 mit einer nicht näher beschriebenen Methode das elektrostatische Oberflächenpotential der Erythrozyten und postulierten einen „elektrostatischen protektiven Effekt“ von Gelatine. Butler et al. [11] und Kamenava et al. [24] folgerten aus ihren Versuchen, dass die mechanische Fragilität von Erythrozyten durch Dilution von Plasmaproteinen erhöht wird, weil sich die mechanische Stabilität der Erythrozytenmembranen durch eine verschlechterte Oberflächenbeschichtung mit Plasmaproteinen verringert. Gelatine besteht wie Albumin aus Polypeptiden mit zahlreichen elektrostatischen Ladungen und kann deshalb wahrscheinlich Erythrozyten genauso wie Plasmaproteine umhüllen und vor mechanischer Belastung schützen. Der

durch Gelatine hervorgerufene erythrozytenprotektive Effekt war in den in vitro- Untersuchungsreihen [43, 46] sogar stärker, als der einer Plasmaproteinlösung. Hydroxyäthylstärke und Dextrane bestehen dagegen aus elektroneutralen Molekülen und können Erythrozyten deshalb nicht so effektiv beschichten.

Schlussfolgerungen

Die mechanische Fragilität von Erythrozyten hängt offensichtlich in erheblichem Ausmaß vom Suspensionsmedium ab. Kolloide, die elektrostatische Ladungen enthalten (Albumin und Gelatine), können Erythrozyten aufgrund von elektrostatischen Wechselwirkungen beschichten und dadurch vor mechanischer Belastung schützen. Die mechanische Fragilität von Erythrozyten erhöht sich dagegen, wenn sie in elektroneutralen Kolloiden (Hydroxyäthylstärke und Dextran) oder kristalloiden Lösungen (isotone Kochsalzlösung) suspendiert werden. Der erythrozytenprotektive Effekt von Albumin und Gelatine lässt sich bereits in niedrigen Konzentrationen nachweisen. Die Hämoglobinfreisetzung durch mechanische Belastung steigt mit zunehmender Dilution der Plasmaproteine und mit zunehmendem Erythrozytenalter an. Während maschineller Autotransfusion kann die mechanische Fragilität der Erythrozyten durch gelatinehaltige Waschlösungen vermindert werden. Bei extrakorporaler Zirkulation ist die Hämoglobinfreisetzung mit Gelatine als Dilutionslösung niedriger als mit anderen künstlichen Kolloiden oder Kristalloiden. In weiteren Untersuchungen könnte geklärt werden, ob Gelatinezusatz während maschineller Autotransfusion oder extrakorporaler Zirkulation die spätere in-vivo Überlebensdauer von Erythrozyten beeinflussen kann.

Literatur

- 1 American Association of Blood Banks. Guidelines for blood salvage and reinfusion in surgery and trauma. American Association of Blood Banks, Bethesda 1993
- 2 Balian G, Click E, Crouch E, Davidson J, Borstein P. Isolation of a collagen binding fragment from fibronectin and cold-insoluble globulin. *J Biol Chem* 1979; 254: 1429–1432
- 3 Bedell SE, Bush BT. Erythrocyte sedimentation rate: from folklore to facts. *Am J Med* 1985; 78: 1001–1009
- 4 Bessis M, Lessin LS. The discocyte-echinocyte equilibrium of the normal and pathologic red cell. *Blood* 1970; 36: 399–403
- 5 Bessis M, Weed RI. The structure of normal and pathologic erythrocytes. *Adv Biol Med Phys* 1973; 14: 35–91
- 6 Bessis M, Weed RI, Leblond PF. Red cell shape. Springer, New York 1973
- 7 Birnbaum DE. Pathophysiologie der extrakorporalen Zirkulation. In: Lauterbach G (Hrsg.): *Handbuch der Kardiotechnik*. Fischer, Stuttgart 1996
- 8 Blackshear PL, Blackshear GL. Mechanical hemolysis. In: Skalak R, Chien S (eds.): *Handbook of bioengineering*. McGraw Hill, New York 1987
- 9 Brecher G, Bessis M. Present status of spiculated red cells and their relationship to the discocyte-echinocyte transformation. *Blood* 1973; 40: 333
- 10 Brehme S, Keyser G, Turowski A, Schmidt HH, Lerche D. Zur in-vitro Beeinflussung von Plasmaviskosität und Erythrozytenaggregation durch vier Plasmaersatzmittel. *Innere Medizin* 1993; 48: 605–608
- 11 Butler T, Bradley CA, Owensby JE. Plasma components protect erythrocytes against experimental haemolysis caused by mechanical trauma and by hypotonicity. *Int J Exp Path* 1992; 73: 27–33
- 12 Chien S, Jan KM. Ultrastructural basis of the mechanism of rouleaux formation. *Microvasc Res* 1973; 5: 155–166
- 13 Chien S, Kung-Ming J. Red cell aggregation by macromolecules: role of surface adsorption and electrostatic repulsion. *J Supramol Struct* 1973; 1: 385–409
- 14 Evans EA, Hochmuth RM. A solid-liquid composite model of the red cell membrane. *J Membr Biol* 1977; 30: 351–362
- 15 Everett LB, Hellums JD, Alfrey CD, Lynch EC. Red blood cell damage by shear stress. *Biophys J* 1972; 12: 257–273
- 16 Feola M, Simoni J, Tran R, Canizaro PC. Mechanisms of toxicity of hemoglobin solutions. *Biomater Art Cells Art Org* 1988; 16: 217–226
- 17 Freyburger G, Dubreuil M, Boisseau MR, Janvier G. Rheological properties of commonly used plasma substitutes during preoperative normovolaemic acute haemodilution. *Br J Anaesth* 1996; 76: 519–525
- 18 Haemonetics Blood services and Training Institute. Standard operation procedure, wash solution. Haemonetics Corp, Tucson 1995
- 19 Henn A, Hoffmann R, Müller HAG. Haptoglobin-Bestimmungen im Patientenserum nach intraoperativer Autotransfusion mit dem Haemonetics Cell-Saver III. *Anaesthesist* 1988; 37: 741–745
- 20 Himpe D, Van Cauwelaert P, Neels H, Stinkens D, Van Den Fonteyne F, Theunissen W, Muylaert P, Hermans C, Goossens G, Moeskops J, Van Hoof J, Alleman J, Adriaensen H. Priming solutions for cardiopulmonary bypass: comparison of three colloids. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1991; 5: 457–466
- 21 Kamada T, McMillan DE, Sternlieb JJ, Bjork VO, Otsuji S. Erythrocyte crenation induced by free fatty acids in patients undergoing extracorporeal circulation. *Lancet* 1987; 10: 818–820
- 22 Kamada T, McMillan DE, Sternlieb JJ, Bjork VO, Otsuji S. Albumin prevents erythrocyte crenation in patients undergoing extracorporeal circulation. *Scand J Thor Cardiovasc Surg* 1988; 22: 155–158
- 23 Kamenava MV, Antaki JF, Borovetz HS, Griffith BP, Butler KC, Yeleywarapu KK, Watach MJ, Kormos RL. Mechanisms of red blood cell trauma in assisted circulation. Rheological similarities of red blood cell transformations due to natural aging and mechanical stress. *ASAIO J* 1995; 41: 457–460
- 24 Kamenava MV, Antaki JF, Yelswarapu KK, Watach MJ, Griffith BP, Borovetz HS. Plasma protective effect on red blood cells exposed to mechanical stress. *ASAIO J* 1997; 43: 571–575
- 25 Kayden HJ, Bessis M. Morphology of normal erythrocyte and acanthocyte using Nomarski optics and the scanning electron microscope. *Blood* 1970; 35: 427–436
- 26 Kiesewetter H, Radtke H. Die Blutsenkung: Ein altes klinisches Verfahren unter neuen Aspekten. *Klin Wochenschr* 1983; 61: 621–624
- 27 Kuhlmann U, Walb D. *Nephrologie*. Thieme, Stuttgart 1994
- 28 Lascari AD. The erythrocyte sedimentation rate. *Ped Clin North Am* 1972; 19: 1113–1121
- 29 Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. *Prinzipien der Biochemie*. Elsevier, New York 1998
- 30 Leutschaft R. Clinical experiences with hemodilution during extracorporeal circulation. In: *Modified gelatins as plasma substitutes*. *Bibl Haemat* 1969; 33: 569–580
- 31 Olthoff G, Bleiber R, Menniger H, Olthoff D. Veränderungen der Erythrozyten-Form durch Anwendung des extrakorporalen Kreislaufs. *Z Exper Chirurg* 1977; 10: 226–232
- 32 Paravicini D. *Intraoperative Autotransfusion*. Berlin Springer, 1986
- 33 Ponder E. Red cell structure and its breakdown. Springer, Wien 1955

- ³⁴ Rand RP. Mechanical properties of red cell membrane: II. Viscoelastic breakdown of the membrane. *Biophys J* 1964; 4: 303–316
- ³⁵ Reinhart WH. Die Blutsenkung – ein einfacher und nützlicher Test? *Schweiz Med Wschr* 1988; 118: 839–844
- ³⁶ Rovel A, L'Huillier JF, Vigneron C. Mechanisms of erythrocyte sedimentation. *Biomedicine* 1978; 28: 248–255
- ³⁷ Silvay J, Schnorrer M, Gabauer I. The use of gelatinous priming solution for extracorporeal circulation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1967; 55: 350–358
- ³⁸ Simoni J, Simoni G, Hartsell A, Feola M. An improved blood substitute – in vivo evaluation of its renal effects. *ASAIOJ* 1997; 43: 714–725
- ³⁹ Singer SJ, Nicolson GL. The fluid-mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 1972; 175: 720–731
- ⁴⁰ Spain DA, Miller FB, Bergamini TM, Montgomery RC, Richardson JD. Quality assessment of intraoperative blood salvage and autotransfusion. *Am Surg* 1997; 63: 1059–1063
- ⁴¹ Stryer L. *Biochemie*. Spektrum, Heidelberg 1995
- ⁴² Sutura SP. Flow-induced trauma to blood cells. *Circ Res* 1977; 41: 2–8
- ⁴³ Sümpelmann R, Günther A, Zander R. Gelatine protects erythrocytes against hemolysis caused by mechanical stress. *Br J Anaesth* 1999; 82 Suppl. 1: A 163
- ⁴⁴ Sümpelmann R, Günther A, Zander R. Haemoconcentration by gelatine- induced acceleration of erythrocyte sedimentation rate. *Anaesthesia* 2000; 55: 217–220
- ⁴⁵ Sümpelmann R, Schürholz T, Ahrenshop O, Zander R. Massive autotransfusion in young pigs: acid base and electrolyte changes for different wash solutions. *Br J Anaesth* 1999; 82 Suppl. 1: A 265
- ⁴⁶ Sümpelmann R. Experimentelle Untersuchungen zur Transfusion von gewaschenen Erythrozyten bei Kindern. Habilitationsschrift, Medizinische Hochschule Hannover 2000
- ⁴⁷ Windslow RM, Vandegriff KD, Motterlini R. Mechanisms of hemoglobin toxicity. *Ann Biomed Eng* 1993; 21 Suppl. 1: 16

PD Dr. R. Sümpelmann

Anästhesie III, OE 8060
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Straße 1
30625 Hannover