

Intravenöse künstliche Sauerstoffträger: Ein Update*

An update on intravenous artificial oxygen carriers

Th. Frietsch, C. Fütterer, Ch. Lenz, W. Kuschinsky und K. F. Waschke

Institut für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin, Universitätsklinikum Mannheim
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. K. van Ackern)

Zusammenfassung: Mit Hemopure®, einer künstlichen Hämoglobinlösung, wurde in Südafrika im April 2001 der weltweit erste künstliche Sauerstoffträger (Artificial oxygen carrier, AOC) zur intravenösen Behandlung des perioperativen Blutverlusts beim Menschen zugelassen; andere AOCs befinden sich gegenwärtig in abschließenden klinischen Zulassungsprüfungen. Sie sollen den Bedarf an Fremdbluttransfusionen und die damit verbundenen Risiken bei Operationen und Unfällen mit großem Blutverlust reduzieren. Der Transport von gebundenem Sauerstoff durch gegenwärtig in klinischer Erprobung befindliche Hämoglobinhaltige Sauerstoffträger (HBOC) ist immer auch durch Interaktionen mit dem Stickstoff-Monoxid-System (z.B. Vasokonstriktion, u.a.) gekennzeichnet. Der Transport von physikalisch gelöstem Sauerstoff in Perfluorkarbon (PFC)-Emulsionen erfordert die Beatmung mit Sauerstoff, ist jedoch mit einer höheren Sauerstofftransportkapazität, erleichterten Diffusionsmechanismen für Sauerstoff und entzündungshemmenden Eigenschaften der PFCs verknüpft. Aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften könnten AOCs in Zukunft im klinischen Alltag in der Therapie (Blutverlust, Ischämie, adjuvante Krebstherapie und -diagnostik, Wundheilung, Transplantat-konservierung, Luftembolien und Caisson-Krankheit), der Diagnostik (als Kontrastmittel) und in der Forschung (Zellkulturen) eingesetzt werden.

Wie erste Fallberichte zeigen (23, 25), würde die Verfügbarkeit von künstlichen Sauerstoffträgern im klinischen Alltag grundlegende Änderungen in der gegenwärtigen Transfusionsmedizin und in einem weiten Spektrum interdisziplinärer Anwendungen bewirken. Sichere und effektive Sauerstoffträger als Alternative zum Erythrozytensatz sind durch jahrelange Forschungsbemühungen entwickelt worden, und einige befinden sich derzeit in den Zulassungsprüfungen. Es ist aber in den letzten Jahren der Forschung allzu deutlich geworden, daß der Sauerstofftransport nicht solitär betrachtet werden darf, sondern sinnvoll in die Regulation der Durchblutung, der Mikrozirkulation auf Gefäßebene und des Vasotonus eingebunden ist. Die wissenschaftlichen Bemühungen, sauerstofftransportierende Blutersatzmittel herzustellen, führte zu zwei verschiedenen Arten von AOC: HBOC- „hemoglobin based oxygen carriers“, die Sauerstoff an Hämoglobin gebunden und Perfluorkarbon-Emul-

Summary: In April 2001, the world's first oxygen carrier for human use, Hemopure®, a haemoglobin solution, was approved in South Africa for intravenous treatment of acute perioperative blood loss. Other AOCs for intravenous use are about to be licensed. These drugs are developed with the objective to reduce the need for blood transfusion and to limit the related risks in surgery and trauma associated with high blood loss. Oxygen transport by haemoglobin-based oxygen carriers (HBOC) that are currently undergoing clinical trial is also characterized by interactions with the nitric oxide system (e.g. vasoconstriction). Transport of physically dissolved oxygen by perfluorocarbon (PFC) emulsions is restricted to artificial ventilation with oxygen but distinguished by a higher oxygen transport capacity, facilitated oxygen diffusion and anti-inflammatory effects. Dependent on their various properties, AOCs will be useful in clinical medicine (blood loss, ischaemia, adjuvant therapy and cancer diagnosis, wound healing, transplant conservation, treatment of air embolism and caisson disease), diagnosis (contrast medium) and research (cell cultures).

Schlüsselwörter: Blutersatzstoffe – Fluorkohlenstoffe – HBOC

Key words: Blood Substitutes – Fluorocarbons – Oxygen.

sionen, die Sauerstoff physikalisch gelöst transportieren. Heutzutage ist diese Kategorisierung um weitere Formen künstlicher Sauerstoffträger wie Mizellen, Nanokapseln (ABC- artificial blood cells) (43), Gasblasen (Microbubbles), sauerstofftransportierendes Albumin (42) und hyperbar oxigenierte Kochsalzlösung (38) erweitert. Selbst künstliche Thrombozyten sind bereits am Menschen bis in die Phasen der klinischen Erprobung IIa vorgedrungen (12). Diese Übersicht gibt ein Update der bisherigen Erkenntnisse der Erforschung der Blutersatzmittel (für umfangreiche Ausführungen s. Ref. (9)) und betont neue Erkenntnisse und Möglichkeiten, die sich aus der Erforschung der AOC ergeben.

* Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. K. van Ackern zum 60. Geburtstag gewidmet.

Tabelle 1: Zellfreies Hämoglobin: Eigenschaften und Modifikationen.

Charakteristik und Eigenschaften zellfreier HBOC	Mögliche Nachteile und Nebenwirkungen	Hämoglobin-Modifikationen
Extraerythrozytäre Dissoziation der tetrameren Hb-Struktur Renale und kapilläre Filtration von Hb-Dimeren; Akkumulation im Tubulus-System der Niere	Kurze intravasale Verweildauer (1-2 Stunden) Niereninsuffizienz	<ul style="list-style-type: none"> Intramolekulare Vernetzung der α-Untereinheiten durch Diaspirin (Di-Bromosalicyl-bis-Fumarat) oder der β-Untereinheiten durch Bis(N-maleimidomethyl)Äther Polymerisierung durch Glutaraldehyd Konjugation mit Makromolekülen wie Dextran, Polyvinylpyrrolidone and Polyäthylenglykol Gentechnische, allosterische Veränderungen des Hämoglobinmoleküls Elimination von Tetrameren durch Hochreinigung und Ultrafiltration
Interaktion mit dem Stickstoff-Monoxid-System(nitric oxide scavenging)	Blutdruckanstiege und arterielle Hypertension, Bradykardie, Anstieg des peripheren Widerstands und Abfall des HZV	<ul style="list-style-type: none"> Elimination von Tetrameren durch Hochreinigung und Ultrafiltration Polymerisierung mit Glutaraldehyd (reduziertes NO-Scavenging durch größere Partikel) Nitroxylierung bzw. Konjugation mit NO-Donatoren
Entstehung freier Radikale durch freies Häm, freies Eisen und Oxidation von Wasserstoffperoxid	Reperfusionsschaden	<ul style="list-style-type: none"> Konjugation mit oder Verkapselung zusammen mit Peroxidasen und Radikalfängern (wie Superoxid-Dismutase, Katalase, σ-ATP, σ-Adenosin, Tokopherol, etc.)
Beeinflussung von kolorimetrischen Laboranalysen (z. B. Bilirubin, Leberenzymen, Amylase und einigen Elektrolyten) und optischen Methoden der Gerinnungsanalytik Verlust von 2,3-DPG	Unzuverlässige laborchemische Analysen Anstieg der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins und erschwerte Abgabe im Gewebe.	<ul style="list-style-type: none"> Keine, da wichtige Notfallbestimmungen wie Natrium, Kalium, Kalzium, Blutgase, Prothrombin und partielle Thromboplastinzeit nicht betroffen sind oder enzymatisch bestimmt werden können Verwendung von bovinem Hämoglobin (Sauerstoffaffinität ist nicht 2,3-DPG-abhängig, sondern von der Chlorid-Ionenkonzentration, verstärkter Bohr-Effekt) Gentechnische Modifikation der 2,3-DPG-Tasche Pyridoxilierung durch Derivate von Pyridoxal-5-phosphat oder Bis-pyridoxal-4-Phosphat, Carboxymethylierung der terminalen Aminogruppe des Hämoglobinmoleküls und Vernetzung mit Fumarylacetat Variation der Molekül/Polymergröße
Höherer pH im Blutplasma als im Erythrozytenzytoplasma (Bohr-Effekt)		<ul style="list-style-type: none"> Ultrafiltration
RES-Phagozytose	Fieber, Allergie, Exanthem, Grippeähnliche Symptomatik, Immunsuppression	
Kontamination mit Erythrozytendetritus	Nierenversagen, Koagulationsstörungen, anaphylaktoide Reaktionen nach wiederholter Verabreichung	
Kontamination mit Viren, Bakterien und Protozoen	Übertragung von Infektionskrankheiten	<ul style="list-style-type: none"> Bestrahlung, Ultrafiltration oder Hitzepasteurisation
Limitierte Verfügbarkeit von menschlichem oder tierischem Spenderblut	Beschränkte Produktionsmöglichkeit	<ul style="list-style-type: none"> Produktion von rekombinantem Hämoglobin in Bakterien (<i>Escherichia coli</i>), Hefen (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>), Mäusen, Schweinen und in Tabakpflanzen
Kontamination mit Antigenen Anstieg des kolloid-osmotischen Drucks im Plasma	Anaphylaxie, Allergie Zellfreie Lösungen sind begrenzt auf eine Hämoglobinkonzentration von 5-7 g·dL ⁻¹	<ul style="list-style-type: none"> Polymerisierung der Hämoglobinmoleküle (z.B. durch Glutaraldehyd)

HBOC = Hämoglobinhaltige künstliche Sauerstoffträger, RES = Retikulo-endotheliales System, 2,3-DPG = 2,3- Di-Phosphoglyzerat , ATP = Adenosintriphosphat, HZV = Herzzeitvolumen.

Hämoglobinlösungen

Blutersatzstoffe auf Hämoglobinbasis (HBOC) sind Lösungen von unterschiedlich modifizierten extraerythrozytären Hämoglobinmolekülen. Die Verwendung von Hämoglobin (Hb) aus verfallenen menschlichen Blutkonserven wäre nicht bedarfsdeckend möglich, tierisches Hb von Schweinen und Rindern könnte wegen der ungeklärten Infektionswege z.B. bei der bovinen spongiformen Enzephalopathie (BSE) problematisch sein. Die gentechnische Herstellung menschlichen Hämoglobins ist in Bakterien, Hefen und Pflanzen gelungen und müßte nur noch in der Lage sein, auch einen größeren Bedarf zu befriedigen. Die Transfusion von freiem Hämoglobin weist vielerlei Probleme und damit auch verbundene Nebenwirkungen auf (Tab. 1). Durch die zahlreichen Modifikationen der Hämoglobin-Moleküle in den künstlichen Lösungen sind heute viele dieser Probleme überwunden oder auf ein Mindestmaß reduziert. Für einen weitreichenderen Einblick wird auf umfassendere Übersichten verwiesen (5, 9).

Hb-Modifikationen zur Beeinflussung der Interaktion mit Stickstoffmonoxid (NO), der Sauerstoffaffinität, der Partikelgröße und der Viskosität

Die vasoaktive Potenz einzelner Hämoglobinlösungen wird vor allem durch die Bindung von NO an die Hämgruppe des Moleküls hervorgerufen. Dieser Mechanismus trägt zur bedarfsgerechten (je nach Sauerstoffbedarf des Gewebes) Regulation des Vasotonus bei (15, 39). NO wird vom Endothel kontinuierlich gebildet, wirkt vasodilatatorisch und hat eine kurze Wirkdauer (im Sekundenbereich). Im Gefäßlumen bindet NO mit hoher Affinität (durch allosterische Veränderung der Molekülstruktur des Hb) an die freie Hämgruppe des Oxyhämoglobins (Oxy-Hb). Das so in den Lungenvenen entstandene S-Nitroso-Hämoglobin (SNO-Hb) wird bei niedrigen Sauerstoffsättigungen in peripheren Geweben durch die Sauerstoffabgabe zu Desoxy-Hämoglobin. Da Desoxy-Hämoglobin eine verminderte Affinität für NO aufweist, bleibt NO ungebunden. Dies bewirkt eine Vasodilatation, eine Zunahme der Durchblutung und das Sauerstoffangebot steigt.

Dies geschieht auch bei Anämie oder Hämodilution. Wird nun zusätzlich ein HBOC infundiert- ob perioperativ zur Einsparung von Fremdbluttransfusionen oder nach Volumensubstitution bei hämorrhagischem Schock- steigt die Anzahl der Hämoglobinmoleküle (27) im Blutgefäß stark an. NO wird durch künstliche und freie Hämoglobinmoleküle gebunden, es resultiert eine ausgeprägte Vasokonstriktion (14). Dieser Prozeß wird „NO-Scavenging“ genannt und stört nicht nur die physiologische Kopplung des Gefäßtonus an den Sauerstoffbedarf, sondern führt über die Verengung der präkapillären Arteriolen zu einem erhöhten peripheren Gefäßwiderstand (TPR), zu einem Abfall der Herzleistung (Cardiac Index- CI) und/oder einem Anstieg des Sauerstoffbedarfs des Herzens (29). Diesen vasokonstriktorischen Effekt zeigte der an den α -Ketten vernetzte HBOC

(HemAssist™, Baxter, USA) sehr ausgeprägt, was im septischen Schock von Ratten die Gewebeversorgung trotzdem deutlich verbesserte, ohne zu einem Abfall des CI zu führen (34, 35). Auch im hämorrhagischen Schock konnte eine verlängerte Überlebenszeit und die Korrektur der schockbedingten subendokardialen Ischämie bei Schweinen (11) und des Pankreas bei Ratten (46) durch die Infusion dieses HBOC erzeugt werden. Allerdings war nicht auszuschließen, daß durch den vasokonstriktiven Effekt eine erhöhte Morbidität und Mortalität sowohl von Schlaganfallpatienten (33) als auch von traumatisierten Patienten in einer großen klinischen Studie der Phase III in der Verumgruppe hervorgerufen wurde (36). Die Weiterentwicklung und Herstellung des Produkts wurde deshalb völlig aufgegeben (17).

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, stehen zur Behebung oder Abschwächung dieser vasokonstriktorischen Effekte verschiedene Ansätze zur Verfügung. Durch eine Verdoppelung des Molekulargewichts durch die Konjugation an Polyäthylenglykol wird die Diffusionsstrecke für NO verlängert. Dies vermeidet ausgeprägte periphere Vasokonstriktion selbst im hämorrhagischen Schock und erhöht damit die Überlebensrate im Tierversuch (48). Auch die Polymerisierung von rekombinantem menschlichem HBOC erzielt eine Verminderung des Anstiegs des TPR (30 mmHg durch rHb1.1) um die Hälfte (8). Der jüngste Ansatz ist die „Nitrosilierung“- die Anbindung eines oder mehrerer NO-Donatoren bei „PNH“-polynitrosiliertes Hb (SynZyme Tech.). Dies ist ein neuartiger HBOC, der im tiereperimentellen Schock durch eine Vasodilatation nach Infusion eine effektiv erhöhte Sauerstoffverfügbarkeit ermöglicht (die metabolische Wirksamkeit ist durch einen gesenkten Basenüberschuß nachgewiesen) (13). Ob diese Ansätze sich in weiterführenden Studien als wesentlich für das Überleben erweisen ist unklar, da im experimentellen Thoraxtrauma bei Schweinen zwar der Vasopressoreffekt unterschiedlich, die Mortalität aber gleich war (22).

- *Hb-Lösungen mit erhöhter Viskosität und/oder erhöhter Teilchengröße*

Im Labor der Arbeitsgruppe um *M. Intaglietta* wurden in den letzten Jahren grundlegende Erkenntnisse zum Sauerstoffverbrauch, -transport und der Sauerstoffverfügbarkeit im Gewebe und den kleinsten Gefäßen gemacht. Diese Erkenntnisse sind von großer Bedeutung für die Konzeption künstlicher Sauerstoffträger (14). Durch Messungen der Sauerstoffspannung in Arteriolen, Kapillaren und umliegendem Muskel- und Subkutangewebe in der Rückenhaut von Hamstern mittels der Phosphoreszenz-Quenching-Methode konnten wichtige Erkenntnisse gewonnen werden. Nach Anregung eines intravasal verabreichten, phosphoreszierenden Indikators mit Hilfe einer Blitzlichtquelle kann die Anwesenheit molekularen Sauerstoffs im zu analysierenden Gefäß- oder Gewebesegment durch die emittierte Phosphoreszenz konzentrationsabhängig bestimmt werden. Unter physiologischen Bedingungen ist der Sauerstoffpartialdruck (PO_2)

in der Kapillare nur leicht (ca. um 5 mmHg) höher als der recht einheitliche Gewebe-PO₂ über die Kapillarlänge mit einer minimalen arteriovenösen PO₂-Differenz. Der größte Anteil des Gewebebedarfs an Sauerstoff ist von der Arteriole mit einem hohen Diffusionsgefälle gedeckt, aber auch mit einem großen eigenen Sauerstoffverbrauch der Gefäßwand verbunden (für das Endothel ca. 35% des Gesamtverbrauchs) (3, 6).

Der Sauerstoffaustausch auf der Ebene von Mikrogefäßen ist aber nicht nur vom Diffusionsgefälle von Sauerstoff abhängig, sondern ist eng an die Interaktion von Fließgeschwindigkeit und Sauerstofftransport des Perfusats geknüpft. Dem Radius der sauerstofftransportierenden Teilchen und deren Viskosität ist ein wesentlicher Einfluß auf die Sauerstoffdiffusion zuzuschreiben. Lösungen mit großen Partikeln wie Blutzellen zeigen als nicht-newtonsche Flüssigkeiten eine scherkraftabhängige Viskosität, d.h. bei niedrigem Fluß steigt die Viskosität exponentiell an. Bislang wurde die geringere Teilchengröße und die niedrige Viskosität von HBOC als vorteilhaft erachtet. Dies scheint zumindest für den Einsatz im niedrig viskosen Bereich nicht zuzutreffen (14). Der reduzierte Scherstreß und die verminderte NO-Ausschüttung unter Hämodilutionsbedingungen führt zum Kapillarkollaps und Apoptose zur der Endothelien (7, 14). Bei Infusion verschiedener HBOC mit Teilchengrößen von 7 - 224 nm war die Konstriktion von präkapillären Widerstandsgefäßen am stärksten (und der Blutdruckanstieg am größten), je kleiner die HBOC-Moleküle waren (30). HBOC mit größeren Partikeldurchmessern verursachten geringere Blutdruckanstiege und eine höhere funktionelle Kapillarperfusion (32). Werden HBOC verschiedener Viskosität ($\alpha\alpha$ -vernetztes Hämoglobin oder DCLHB versus PEG-Hb) mit einem üblichen Plasmaexpander (Hydroxyäthylstärke) verglichen, erhöht nur das hochvisköse PEG-Hb die Herzauswurfsleistung und die Überlebensdauer nach hämorrhagischem Schock ohne einen Anstieg des Serumlaktats oder des Gefäßwiderstandes (48).

- *Einkapselung des Hb in Liposome*
Diese Verfahrensweise (ausführlich dargestellt in (9)) bewirkt ebenfalls einen Viskositätsanstieg des resultierenden HBOC. Zusätzlich kann die intravaskuläre Halbwertszeit auf über 24 Stunden durch die Beladung der Liposomenoberfläche mit Salizylaten und die Änderung der Membranladung verlängert werden. Zusätzliche Inkorporation eines enzymatischen oder künstlichen Redoxsystems für Methämoglobin kann die Methämoglobinbildung in diesen Lösungen wirkungsvoll minimieren. Eine Verkapselung von polymerisiertem Hb und Enzymen in biologisch abbaubare Nanokapseln, die zwischen 80 und 200 Nanometer groß sind, verhindert die Aufnahme ins retikulo-endotheliale System (RES), reduziert die Peroxidation der Liposome und verbessert die Lösungsstabilität während

der Lagerung und Infusion. Zusätzlich kann der Hb-Gehalt in diesen Nanokapseln effektiv gesteigert werden, die Membran kann z.B. für Glukose permeabel gemacht werden und Enzyme (s.o.) und Radikalfänger wie Superoxyd-Dismutasen und Katalasen können eingefügt werden. Eine Vasokonstriktion scheint bei diesen Modifikationen nicht mehr in bedeutsamem Maße aufzutreten.

- *Modulation der Sauerstoffaffinität und der vasoaktiven Potenz des Hb durch gentechnische Veränderungen*

Im Erythrozyten wird die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins durch 2,3-Diphosphoglyzerat (2,3-DPG) moduliert. Außerhalb des Erythrozyten (in Abwesenheit von 2,3-DPG) sinkt der Sauerstoffpartialdruck (P_{50}), bei dem die Hälfte des Hämoglobins gesättigt ist, von 26 - 28 mmHg auf 12 - 15 mmHg. Die damit verbundene erhöhte Sauerstoffaffinität des Hämoglobinmoleküls verschiebt die Sauerstoffdissoziationskurve nach links - mit der Folge einer erschwerten Sauerstoffabgabe an das Gewebe. Durch die sterische Verformung der Bindungsstelle von 2,3-DPG (in den Positionen Leu (B10), His (E7) und Val (E11)) durch den Austausch von einzelnen Aminosäuren kann die Sauerstoffaffinität von freiem Hämoglobin auf intrazelluläre Werte reduziert werden. Daß eine gesenkte Sauerstoffaffinität von künstlichen Sauerstoffträgern zu einer im Vergleich zu erythrozytären Normalbedingungen gesteigerten Sauerstoffabgabe führt, konnte durch die Messung der Gewebesauerstoffspannung und des Sauerstoffpartialdrucks in der Kapillare bewiesen werden. Beim Vergleich von Hb-Lösungen mit einem P_{50} von 9, 16 und 30 mmHg war die Rate der Sauerstoffabgabe gegenüber der von normalen Erythrozyten ($4,4 \text{ s}^{-1}$) bis auf das 8fache (18, 27 und 32 s^{-1}) gesteigert (31).

Die Regelung des Gefäßtonus durch NO scheint vom P_{50} nur dann direkt beeinflusst zu sein, wenn sterische Veränderungen die NO-Bindung an das Hb-Molekül behindern. Diese Erkenntnis konnte mit verschiedenen rekombinanten humanen Hämoglobin-Lösungen, wie das gentechnisch in *E. Coli* produzierte HBOC (Optro™, Somatogen/Baxter Corp.) gewonnen werden. Durch sterische Veränderungen der Hämtasche wurde der P_{50} der Version rHb1.1 (46 mmHg) zu 32 (rHb 2821) und 15 (rHb 3011) modifiziert. Interessanterweise ließ sich nur beim jüngsten Produkt (rHb3011) keine bedeutsame Vasokonstriktion feststellen (8).

Gegenwärtiger klinischer Entwicklungsstand von Hb-Lösungen

Erst nach umfangreicher klinischer Erprobung kann ein AOC mit ausreichender Sicherheit beurteilt werden. Ein relevantes Beispiel ist hierfür die klinische Evaluation von HemAssist™ (DCLHB, Baxter Corp.). Die klinischen Untersuchungen mit dieser Substanz wurden nach erfolgreichem Abschluß der Phase II (19) in der Phase III abgebrochen (36). Zur Zeit haben

Tabelle 2: Intravenöse künstliche Sauerstoffträger.				
Hersteller	Produkt	geprüfte Indikation	Handelsname	Studienphase
HBOC:				
Hemosol Inc. (Canada)	Mit Raffinose vernetztes und polymerisiertes humanes Hb	Perioperativ (Herzchirurgie)	HemoLink™	III
Apex Bioscience Inc. (USA)	Mit Polyoxyäthylenglykol konjugiertes humanes Hb (PHP)	Hypotensiver Schock Tumorsensibilisierung	keiner	III
BioPure Corp. (USA)	Mit Glutaraldehyd polymerisiertes bovines Hb	Perioperativ, Trauma, Tumorsensibilisierung, Ischämie	Hempure®	zugelassen in Südafrika Zulassung beantragt in Kanada
Northfield Laboratories Inc. (USA)	pyridoxyliert und mit Glutaraldehyd polymerisiertes humanes Hb	Trauma Perioperativ	PolyHeme™	II/III
Enzon Corp. (USA)	Mit Polyoxyäthylenglykol konjugiertes bovines Hämoglobin	Tumorsensibilisierung	keiner	I/II
PFC-Emulsion:				
Alliance Pharmaceuticals Corp. (USA)	Perfluorocetyl bromid 60% w/v	perioperative Hämodilution / Anämie Adjuvante Chemo-/Radiotherapie Sonographie (KM) 19 F NMR (KM)	Oxygent™ Oxygent CA™ Imagent® Imagent MR™	III II zugelassen (FDA 2000) zugelassen (FDA 1993)
HemaGen/PFC Inc. (USA)	Perfluordichloroctan 60% w/v	Perioperative Hämodilution/Bypasschirurgie, Trauma	Oxyfluor™	I/II
Sonus Pharma (USA)	Dodecafluoropentan 2% w/v	Echokardiographie (KM)	Echogen™	zugelassen in Europa seit 1998
Sierra Ventures (USA)	Perfluorphenanthren	Adjuvante Chemo/ Radiotherapie	Oncosol™	I
HBOC = Hämoglobinhaltige künstliche Sauerstoffträger, PFC = Perfluorcarbon-Emulsionen, Hb = Hämoglobin, KM = Kontrastmittel, w/v = Verhältnis von Gewicht des Perfluorcarbonanteils zum Volumen der Emulsion.				

drei Produkte von den wenigen in klinischen Prüfungen befindlichen HBOC (Tab. 2) fortgeschrittene Prüfungsphasen für mindestens eine Indikation erreicht oder diese bereits abgeschlossen.

- *BioPure Corporation, Hemopure®*:
Dieses mit Glutaraldehyd polymerisierte HBOC aus gereinigtem bovinem Hb ($P_{50}^1 = 38$ mmHg) ist relativ hoch konzentriert ($Hb^2 = 13$ g/dl), hat eine niedrige Viskosität ($\mu^3 = 1,3$ cP) und ist bei Raumtemperatur langfristig lagerbar (24 Monate⁴). Es bewirkt bei isovolämischer Hämodilution die gleiche Volumenexpansion wie HAES bei einer intravasalen Halbwertszeit ($t_{1/2}$) von 24 Stunden, und verbessert die Gewebesauerstoffversorgung durch eine verbesserte Diffusionskapazität (28) (3fach besser als menschliches Vollblut (40)). Allerdings dürfte auch bei diesem HBOC in klinischen Dosen die funktionelle Sauerstoffversorgung im Kapillargebiet durch das NO-Scavenging limitiert sein (16). Bei einem Viertel der behandelten Patienten steigt der Blutdruck bei der üblichen Dosierung von 1,2 g/kg um ca. 10 mmHg an. Eine Indikation zum klinischen Einsatz wird in der perioperativen Verwendung dieser Substanz gesehen. In einer kleineren Gefäßchirurgie-Studie konnte bei einem Viertel der 72 Patienten eine Fremdblutexposition vermieden werden (18). Einen Ausblick auf mögliche zukünftige Anwendungen der AOC geben Berichte über den erfolgreichen Einsatz dieses HBOC bei einem ersten Fall von Autoimmunhämolyse (23) und bei myokardialer Ischämie (25). Die klinische Phase III Studie in den USA soll abgeschlossen, die Effektivität dieses HBOC erwiesen und mit keinen wesentlichen Nebenwirkungen verbunden sein (5). In Südafrika ist die Zulassung seit April 2001 erfolgt, Zulassungsanträge bei den zuständigen Behörden in Europa, USA und Kanada sollen folgen (2).
- *Hemosol, HemoLink™*:
Das durch die Polymerisation der mit oxidierten Raffinose (α -Raffinose) vernetzten β -Kette des humanen Hämoglobins A_0 entstandene HemoLink™ ($Hb = 10$ g/dl, $P_{50} = 34$ mmHg, $\mu = 1,15$ cP, $t_{1/2} = 15$ h) war in bisherigen Studien nicht frei von hämodynamischen Effekten (24) und milden gastrointestinalen Begleitsymptomen (1). In Phase II-Studien verringerte der Einsatz von HemoLink™ den Fremdblutbedarf um 30% (87% HemoLink™ versus 57% HAES). In einer kürzlich abgeschlossenen Studie der klinischen Phase III wurden 386 herzchirurgische Patienten in 25 Zentren in Großbritannien und Kanada mit 750 ml dieses HBOC oder HAES behandelt. Während die Nebenwirkungen nicht unterschiedlich waren, konnte die Hämodilution mit HemoLink™ sowohl die Fremdbluttransfusionsrate um 10% und den Prozentsatz der mehrfach transfundierten Patienten verringern (von 37% mit HAES auf 20% mit HemoLink™) als auch die Zeit bis zur ersten Transfusion um ca. 1 Tag hinauszögern (4). Die Zulassung dieses HBOC

in Kanada und Europa wurde im Jahr 2000 beantragt und war für die USA im Jahr 2001 vorgesehen.

- *Northfield Laboratories, PolyHeme™*:
Die Polymerisation von humanem Hb mit Pyridoxal-5-Phosphat machte ein HBOC möglich, das bezüglich Sauerstoffaffinität und kolloid-osmotischem Druck ($KOD^5 = 20-25$ mmHg) dem menschlichen Blut sehr ähnlich ist ($Hb = 10$ g/dl, $P_{50} = 28-30$ mmHg, $t_{1/2} = 24$ h, Lagerdauer bei 4° C = 12 Monate). Zusätzlich hat es sich auch in großen Dosen bis 3000 ml als sehr sicher herausgestellt, und Vasopressoreffekte scheinen fast vollständig zu fehlen. In einer Traumastudie mit 44 Patienten unterschied sich die Fremdbluttransfusionsrate in den ersten 24 Stunden um 3,6 Einheiten (6,8 PolyHeme™ versus 10,4 Kontrolle), bzw. in den ersten 3 Tagen um 3,5 Einheiten (7,8 PolyHeme™ versus 11,3 Kontrolle)(21). Aus einer klinischen Studie der Phase III mit einer Maximaldosis dieses HBOC von bis zu 10 Litern bei traumatisierten Patienten wurde die effektive Vermeidung von Fremdblut ohne Nebenwirkungen berichtet (5).

Perfluorcarbon-Emulsionen (PFC)

Eigenschaften

Gegenüber der chemischen Bindung des Sauerstoffs (O_2) an Hämoglobin sind biologische Gase wie O_2 , Kohlendioxid (CO_2) und Kohlenmonoxid (CO) in PFC-Emulsionen physikalisch gelöst, d.h. sie unterliegen keiner Sättigungskinetik, diffundieren schneller aus dem Gefäß in die Zelle und bewirken keine Interferenzen mit NO und dem Vasotonus. Die Viskosität ist gegenüber Blut um mehr als ein Drittel gesteigert ($\mu = 4,0$ cP). Es können verschiedene Gase unabhängig voneinander im zwischenmolekularen Raum transportiert werden. Deshalb ist auch in Anwesenheit von Kohlenmonoxid der Sauerstofftransport im Gegensatz zum hämoglobingebundenen Transport nicht eingeschränkt. Der Sauerstofftransport und die -abgabe an Regionen mit niedrigem O_2 -Partialdruck (PO_2) sind nicht temperaturabhängig. Da PFC weder fett- noch wasserlöslich sind, müssen sie zur intravenösen Anwendung in Emulsion gebracht werden. Die ersten Präparate (z.B. Fluosol™) bewirkten nach ihrer Anwendung, bedingt durch einen geringen Anteil an PFC in der gebrauchsfertigen Mischung (20% PFC am Volumen der Lösung), nur eine geringgradig erhöhte Sauerstofftransportkapazität. Die heutige Generation der Emulsionen ist durch einen höheren (bis zu 90%-igen) PFC-Anteil effektiver im Gastransport (47) besser verträglich (20, 26), gebrauchsfertig und bei Raumtemperatur ca. 6 Monate, bei 4° C ca. 18 Monate lagerbar. Eine

¹ menschliches Blut $P_{50} = 26$ mmHg

² menschliches Blut $[Hb] = 12 - 16$ g/dl

³ menschliches Blut $\mu = 2,7$ cP

⁴ Erythrozytenkonzentrate Lagerdauer 42 - 49 Tage

⁵ menschliches Blut $KOD = 18 - 25$ mmHg

alleinige Anwendung ohne Beatmung oder Erhöhung des Sauerstoffgehalts im inspirierten Atemgas ist allerdings durch die Diffusion der Gase entlang des Konzentrationsgefälles immer noch nicht möglich.

Anwendungen

Obwohl die ersten Zulassungen von PFC-Emulsionen zum intravenösen Einsatz von der Food and Drug Administration (FDA) schon 1989 für die Risiko-Koronarangioplastie und 1993 als radiologisches Kontrastmittel erfolgten, gestaltet sich die medizinische Nutzung des gesamten Potentials der Stoffgruppe problematischer als erwartet. Einen Überblick der wichtigsten PFC-Emulsionen zum intravenösen Einsatz gibt Tabelle 2.

Der perioperative Einsatz zur Erhöhung der Effektivität der akuten normovolämischen Hämodilution (ANH) kann mit kleinen Dosen von Perflubron (Oxygent™, PFOB) das Sauerstoffangebot aufrecht erhalten und durch die Verzögerung der Retransfusion von autologem ANH-Blut (37) können Fremdbluttransfusionen wirksam vermieden werden. Es konnte an einer europäischen Multicenterstudie der klinischen Phase III mit 492 Patienten gezeigt werden, daß die dauerhafte Vermeidung von Fremdblut und die Verringerung der Bluttransfusionen sowohl beim Gesamtkollektiv als auch - und um so deutlicher - beim Kollektiv mit einem Blutverlust von 10 - 80 ml/kg Körpergewicht möglich war (präsentiert auf dem 54. Postgraduate Assembly in Anesthesiology in New York).

Es liegen eine Anzahl tierexperimenteller Studien vor, die über einen benefiziellen Einsatz von PFC bei unterschiedlichsten Gewebischämien berichten (10). Diese positiven Ergebnisse müssen jedoch erst noch durch entsprechende Untersuchungen auf den Menschen übertragen werden. Die ausgeprägte Fähigkeit der PFC zum Sauerstofftransport verspricht den vorteilhaften Einsatz von PFC in Zellkulturen, als Konservierungslösung von Transplantaten, als kardioplegische Lösungen und als Adjuvantien zur Radio- oder Chemotherapie von Tumoren.

Andere spezifische Eigenschaften der PFC werden bei der Reduktion neurologischer Folgeschäden von Luftembolien beim Einsatz der extrakorporalen Zirkulation, beim Einsatz als Kontrastmittel zur Echo- und Sonographie, zur konventionellen Röntgendarstellung und zur Kernspintomographie genutzt. Ein bereits in Europa zugelassenes Kontrastmittel zur Echokardiographie, Dodecafluorpentan (DDFP) ist bei wiederholter Verabreichung von Mikrobläschen ebenfalls in der Lage, Sauerstoff zu transportieren. Die Menge transportierten Sauerstoffs ist zwar ausreichend, um bei einem experimentellen Rechts-Links-Shunt bei Schweinen eine andauernde (5 Stunden) Normalisierung von gemischtvenösem Sauerstoff- und arteriellem Kohlendioxid-Partialdruck sowie des pH zu erreichen (45), ist in der nur 2%igen Emulsion aber deutlich geringer als in anderen gegenwärtig untersuchten PFC-Emulsionen.

Nicht emulgierte Perfluorkarbone werden in der Flüssigkeitsbeatmung erprobt (Liquivent™, Alliance

Parmaceutical Corp., klinische Phase II - III) und bereits in der Chirurgie des Auges eingesetzt.

AOC in Entwicklung

Die Existenz einer Vielzahl präklinischer und klinischer Projekte verdeutlichen die rasante Entwicklung neuer AOC. Exemplarisch erwähnt werden soll der Versuch, in humanes Albumin bis zu 8 Hämgruppen einzufügen. Ein derartiges Molekül kann doppelt soviel Sauerstoff transportieren wie ein "klassisches" Hämoglobintetramer (44). Außerdem entfallen einige Nebenwirkungen des Hämoglobins wie die Dissoziation zu Dimeren und die nachfolgende Nephrotoxizität. Dieses Produkt ist noch in einem frühen Entwicklungsstadium.

Der nicht auf chemische Bindung beruhende Sauerstofftransport ist nicht nur auf PFC-Emulsionen beschränkt. Auf den intravenösen Einsatz bei Myokardinfarkt und zerebralem Insult zielt die hyperbare Oxygenierung und Stabilisierung von Sauerstoff in physiologischer Kochsalzlösung ab (41), bei dem regionale Hypoxien durch die intraarterielle Hyperoxie im Tierversuch korrigiert werden konnten (38). Es ist evident, daß künstliche Sauerstoffträger ein ausgesprochen hohes Potential aufweisen, nicht nur in der gängigen Transfusionspraxis, sondern auch in vielen anderen medizinischen Teilgebieten weitreichende Veränderungen herbeiführen zu können.

Literatur:

1. Adamson J G, Moore C: Hemolink™, an o-Raffinose Crosslinked Hemoglobin-Based Oxygen Carrier. In: Chang T M S (Hrsg). Blood Substitutes: Principles, Methods, Products and Clinical Trials, Karger Landes Systems Basel 1998, S. 62
2. Biopure C: <http://www.biopure.com/corporate/home.htm> (2001)
3. Buerk D G, Tsai A G, Intaglietta M, Johnson P C: In vivo tissue pO₂ measurements in hamster skinfold by recessed pO₂ microelectrodes and phosphorescence quenching are in agreement. *Microcirculation* 5 (1998) 219
4. Carmichael F J L, Biro G P, Cheng D C H: Phase III Clinical Trial of Hemolink™ in Conjunction with intraoperative autologous blood donation (IAD) in cardiac surgical patients. Eighth International Symposium of Blood Substitutes, San Diego, 9-11. Nov. 2000, Conference Proceedings S. 22
5. Chang T M S: Blood Substitutes. <http://www.artcell.mcgill.ca/bloodsub.htm#I> (2001)
6. Curtis S E, Vallet B, Winn M J, Caufield J B, King C E, Chapler C K, Cain S M: Role of the vascular endothelium in O₂ extraction during progressive ischemia in canine skeletal muscle. *J Appl Physiol* 79 (1995) 1351
7. Dimmeler S, Hermann C, Galle J, Zeiher A M: Upregulation of superoxide dismutase and nitric oxide synthase mediates the apoptosis-suppressive effects of shear stress on endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19 (1999) 656
8. Doyle M P, Armstrong A M, Brucker E A, Fattor T J, Lemon D D: Design of a Second Generation Recombinant Hemoglobin: Minimizing Nitric Oxide Scavenging and

- Vasoactivity While Maintaining Efficacy. Eighth International Symposium of Blood Substitutes, San Diego, 9-11. Nov. 2000, Conference Proceedings S. 20
9. *Frietsch T, Lenz C, Waschke K F: Artificial Blood. In: Adams A P, Cashman J N, Haddock G M (Hrsg). Recent Advances in Anaesthesia and Analgesia 21, S. Churchill Livingstone London 2001, 187*
 10. *Frietsch T, Lenz C, Waschke K F: Perfluorkarbon-Emulsionen: künstliche Sauerstoffträger und ihre medizinischen Anwendungen. Dtsch Med Wochenschr 125 (2000) 465*
 11. *Habler O, Kleen M, Pape A, Meisner F, Kemming G, Messmer K: Diaspirin-crosslinked hemoglobin reduces mortality of severe hemorrhagic shock in pigs with critical coronary stenosis. Crit Care Med 28 (2000) 1889*
 12. *Hilarius P M, Escolar G, Gendreau M, Verhoeven A J: Mechanism of Action of Infusible Platelet Membranes. Eighth International Symposium of Blood Substitutes, San Diego, 9-11. Nov. 2000, Conference Proceedings S. 34*
 13. *Hsia C J C: Polynitroxylated haemoglobin (PNH): A New Generation Red Cell Substitute with Vasodilatory and Antioxidant Properties. Eighth International Symposium of Blood Substitutes, San Diego, 9-11. Nov. 2000, Conference Proceedings S. 24*
 14. *Intaglietta M: Microcirculatory basis for the design of artificial blood. Microcirculation 6 (1999) 247.*
 15. *Jia L, Bonaventura J, Stamler J S: S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. Nature 380 (1996) 221.*
 16. *Kasper S M, Grune F, Walter M, Amr N, Erasmi H, Buzello W: The effects of increased doses of bovine hemoglobin on hemodynamics and oxygen transport in patients undergoing preoperative hemodilution for elective abdominal aortic surgery. Anesth Analg 87 (1998) 284*
 17. *Kelly J S, Priellipp R C: Transfusion medicine. N Engl J Med 341 (1999) 126*
 18. *LaMuraglia G M, O'Hara P J, Baker W H, Naslund T C, Norris E J, Li J, Vandermeersch E: The reduction of the allo-genic transfusion requirement in aortic surgery with a hemoglobin-based solution. J Vasc Surg 31 (2000) 299*
 19. *Lamy M L, Daily E K, Brichant J F, Larbuisson R P, Demeyere R H, Vandermeersch E A, Lehot J J, Parsloe M R, Berridge J C, Sinclair C J, Baron J F, Przybelski R J: Randomized trial of diaspirin cross-linked hemoglobin solution as an alternative to blood transfusion after cardiac surgery. The DCLHb Cardiac Surgery Trial Collaborative Group. Anesthesiology 92 (2000) 646*
 20. *Leese P T, Noveck R J, Shorr J S, Woods C M, Flaim K E, Keipert P E: Randomized safety studies of intravenous perflubron emulsion. I. Effects on coagulation function in healthy volunteers. Anesth Analg 91 (2000) 804*
 21. *Gould S A, Moore E E, Hoyt D B, Burch J M, Haenel J B, Garcia J, DeWoskin R, Moss G S: The first randomized trial of human polymerized hemoglobin as a blood substitute in acute trauma and emergent surgery. J Am Coll Surg 187 (1998) 113*
 22. *Maxwell R A, Gibson J B, Fabian T C, Proctor K G: Resuscitation of severe chest trauma with four different hemoglobin-based oxygen-carrying solutions. J Trauma 49 (2000) 200*
 23. *Mullon J, Giacoppe G, Clagett C, McCune D, Dillard T: Transfusions of polymerized bovine hemoglobin in a patient with severe autoimmune hemolytic anemia. N Engl J Med 342 (2000) 1638*
 24. *Ning J, Wong L T, Christoff B, Carmichael F J, Biro G P: Haemodynamic response following a 10% topload infusion of Hemolink™ in conscious, anaesthetized and treated spontaneously hypertensive rats. Transfus Med 10 (2000) 13*
 25. *Niquille M, Touzet M, Leblanc I, Baron J F: Reversal of intraoperative myocardial ischemia with a hemoglobin-based oxygen carrier. Anesthesiology 92 (2000) 882*
 26. *Noveck R J, Shannon E J, Leese P T, Shorr J S, Flaim K E, Keipert P E, Woods C M: Randomized safety studies of intravenous perflubron emulsion. II. Effects on immune function in healthy volunteers. Anesth Analg 91 (2000) 812*
 27. *Patel R P: Biochemical aspects of the reaction of hemoglobin and NO: implications for Hb-based blood substitutes. Free Radic Biol Med 28 (2000) 1518*
 28. *Pearce L B, Gawryl M S: Overview of Preclinical and Clinical Efficacy of Biopure's HBOCs. In: Chang T M S (Hrsg). Blood Substitutes: Principles, Methods, Products and Clinical Trials, S. 82, Karger Landes Systems Basel 1998*
 29. *Sakai H, Hara H, Tsai A G, Tsuchida E, Intaglietta M: Constriction of resistance arteries determines I-NAME-induced hypertension in a conscious hamster model. Microvasc Res 60 (2000) 21*
 30. *Sakai H, Hara H, Yuasa M, Tsai A G, Takeoka S, Tsuchida E, Intaglietta M: Molecular dimensions of Hb-based O₂ carriers determine constriction of resistance arteries and hypertension. Am J Physiol Heart Circ Physiol 279 (2000) H908*
 31. *Sakai H, Tsai A G, Rohlf s R J, Hara H, Takeoka S, Tsuchida E, Intaglietta M: Microvascular responses to hemodilution with Hb vesicles as red blood cell substitutes: influence of O₂ affinity. Am J Physiol 276 (1999) H553*
 32. *Sakai H, Yuasa M, Onuma H, Takeoka S, Tsuchida E: Synthesis and physicochemical characterization of a series of hemoglobin-based oxygen carriers: objective comparison between cellular and acellular types. Bioconjug Chem 11 (2000) 56*
 33. *Saxena R, Wijnhoud A D, Carton H, Hacke W, Kaste M, Przybelski R J, Stern K N, Koudstaal P J: Controlled safety study of a hemoglobin-based oxygen carrier, DCLHb, in acute ischemic stroke. Stroke 30 (1999) 993*
 34. *Sielenkamper A W, Chin-Yee I H, Martin C M, Sibbald W J: Diaspirin crosslinked hemoglobin improves systemic oxygen uptake in oxygen supply-dependent septic rats. Am J Respir Crit Care Med 156 (1997) 1066*
 35. *Sielenkamper A W, Eichelbronner O, Martin C M, Madorin S W, Chin-Yee I H, Sibbald W J: Diaspirin cross-linked hemoglobin improves mucosal perfusion in the ileum of septic rats. Crit Care Med 28 (2000) 782*
 36. *Sloan E P, Koenigsberg M, Gens D, Cipolle M, Runge J, Mallory M N, Rodman G, Jr.: Diaspirin cross-linked hemoglobin (DCLHb) in the treatment of severe traumatic hemorrhagic shock: a randomized controlled efficacy trial. JAMA 282 (1999) 1857*
 37. *Spahn D R, van Bremp t R, Theilmeiger G, Reibold J-P, Welte M, Heinzerling H, Birck K M, Keipert P E, Messmer K, Group E P E S: Perflubron Emulsion Delays Blood Transfusion in Orthopedic Surgery. Anesthesiology 91 (1999) 1195*
 38. *Spears J R, Wang B, Wu X, Prcevski P, Jiang A J, Spanta A D, Crilly R J, Brereton G J: Aqueous oxygen: a highly O₂-supersaturated infusate for regional correction of hypoxemia and production of hyperoxemia. Circulation 96 (1997) 4385*
 39. *Stamler J S, Jia L, Eu J P, McMahon T J, Demchenko I T, Bonaventura J, Gernert K, Piantadosi C A: Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. Science 276 (1997) 2034*
 40. *Standl T, Horn P, Wilhelm S, Greim C, Freitag M, Freitag U, Sputtek A, Jacobs E, Schulte am Esch J: Bovine haemoglobin is more potent than autologous red blood cells in restoring muscular tissue oxygenation after profound isovolaemic haemodilution in dogs. Can J Anaesth 43 (1996) 714*
 41. *TherOx: <http://www.therox.com/technologies.htm>. (2000)*
 42. *Tsuchida E: Properties of and oxygen binding by albumin-tetraphenylporphyrinatoiron(II) derivative complexes. Bioconjug Chem 11 (2000) 56*

Intensivmedizin

43. *Tsuchida E*: Recent Progress of Artificial Blood Project and Novel Product. Eighth International Symposium of Blood Substitutes, San Diego, 9-11. Nov. 2000, Conference Proceedings S. 28

44. *Tsuchida E, Komatsu T, Hamamatsu K, Matsukawa Y, Tajima A, Yoshizu A, Izumi Y, Kobayashi K*: Exchange transfusion with albumin-heme as an artificial O₂-infusion into anesthetized rats: physiological responses, O₂-delivery, and reduction of the oxidized heme sites by red blood cells. *Bioconjug Chem* 11 (2000) 46

45. *Tyssebotn I, Bergoe G, Lundgren C*: Intravascular Perfluorocarbon-Stabilized Microbubbles for Treatment of Hypocemia due to an Experimental Intrapulmonary Shunt. Eighth International Symposium of Blood Substitutes, San Diego, 9-11. Nov. 2000, Conference Proceedings S. 102

46. *von Dobschuetz E, Hoffmann T, Messmer K*: Diaspirin cross-linked hemoglobin effectively restores pancreatic microcirculatory failure in hemorrhagic shock. *Anesthesiology* 91 (1999) 1754

47. *Wahr J A, Trouwborst A, Spence R K, Henny C P, Cernaianu A C, Graziano G P, Tremper K K, Flaim K E,*

Keipert P E, Faithfull N S, Clymer J J: A pilot study of the effects of a perflubron emulsion, AF 0104, on mixed venous oxygen tension in anesthetized surgical patients. *Anesth Analg* 82 (1996) 103

48. *Winslow R M, Gonzales A, Gonzales M L, Magde M, McCarthy M, Rohlf's R J, Vandegriff K D*: Vascular resistance and the efficacy of red cell substitutes in a rat hemorrhage model. *J Appl Physiol* 85 (1998) 993.

Korrespondenzadresse:

Dr. med. *Thomas Frietsch*
 Institut für Anästhesiologie und
 Operative Intensivmedizin
 Universitätsklinikum Mannheim
 Theodor-Kutzer-Ufer 1 - 3
 D-68167 Mannheim.

Anästhesie-Ausweis der DGAI

Zur Mitgabe an Patienten mit Anästhesieproblemen wie, z.B. Disposition zur malignen Hyperthermie.

Der Anästhesie-Ausweis der DGAI ist zum Preis von € 0,41 zzgl. MwSt. für DGAI-Mitglieder (€ 0,52 zzgl. MwSt. für Nicht-Mitglieder) mit nachstehendem Bestellschein ab sofort erhältlich über

Aktiv Druck & Verlag GmbH, An der Lohwiese 36, D-97500 Ebelsbach. Fax: 09522 / 94 35 67.





**Europäische Vereinigung der
Fachärzte (UEMS)**

**Deutsche Gesellschaft für Anästhesiologie
und Intensivmedizin (DGAI)**

Anästhesie-Ausweis

**Union Européenne des Médecins
Spécialistes (UEMS)**

**German Society of Anaesthesiology
and Intensive Care Medicine (DGAI)**

Anaesthesia Problem Card

DGAI Geschäftsstelle:
Roritzerstraße 27
D-90419 Nürnberg

Tel.: + 49 (0)9 11 93 37 80
Fax: + 49 (0)9 11 393 81 95
e-mail: dgai@dgai-ev.de

Bestellschein

Hiermit bestelle ich _____ Stück des Anästhesie-Ausweises der DGAI.

DGAI-Mitglied ja nein

Name: _____

Anschrift: _____

Datum, Unterschrift

Preisliste - Konditionen

Stückpreis: € 0,41 zzgl. MwSt. (€ 0,52 für Nicht-Mitglieder)

Mindestauftragswert: 40 Exemplare

Ab einer Abnahme von 100 Stück wird ein Preisnachlaß von 10% gewährt.

Die Preise verstehen sich zzgl. Versandkosten.