

C Methodik

1 Durchführung der Experimente

1.1 Probanden

An der Untersuchung nahmen 15 männliche, gesunde, nichtrauchende Freizeitsportler teil (Tabelle 1). Die Intensität und der Umfang der sportlichen Betätigung in der Gruppe reichte von gelegentlichem Sporttreiben, über regelmäßige Freizeitsportaktivität (1 - 2 Mal pro Woche) bis zu mehrmaligem Training pro Woche (Rugbyspieler und ein Amateurradfahrer). In einem Vorgespräch wurden alle Probanden über den genauen Ablauf und Zweck der Studie informiert sowie über mögliche Risiken, die mit der Teilnahme an den Versuchen einhergehen können, aufgeklärt sowie zusätzlich einer sportmedizinischen körperlichen Untersuchung unterzogen. Alle Testpersonen gaben ihr schriftliches Einverständnis.

Alle Probanden waren sporttauglich und keiner hatte eine Blutungsanomalie oder eine Thrombose in der Anamnese. Personen, die Medikamente irgendeiner Art einnahmen, wurden nicht zur Studie zugelassen.

1.2 Untersuchungsgang

Jeder Proband absolvierte einen stufenförmigen Maximaltest nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Sportmedizin und Prävention e.V. zur Ermittlung der maximalen Sauerstoffaufnahme sowie an einem separaten Tag einen Wingate Anaerobic Test. Der zeitliche Abstand zwischen den Tests lag bei mindestens sechs Tagen. Alle Tests fanden in den Vormittagsstunden statt.

Alle Versuchsteilnehmer wurden darum gebeten, am Tag vor den Versuchsterminen auf Alkohol-, Nikotin- und Kaffeegenuß zu verzichten sowie starke körperliche Aktivität zu vermeiden.

| Proband | Alter (Jahre) | Größe (cm) | Körpermasse (kg) |
|---------|---------------|-------------|------------------|
| 1 | 23 | 185 | 77.0 |
| 2 | 28 | 190 | 83.6 |
| 3 | 22 | 186 | 74.4 |
| 4 | 34 | 178 | 69.9 |
| 5 | 29 | 179 | 75.0 |
| 6 | 28 | 176 | 86.3 |
| 7 | 22 | 182 | 79.3 |
| 8 | 28 | 188 | 86.4 |
| 9 | 23 | 182 | 79.8 |
| 10 | 32 | 186 | 93.6 |
| 11 | 27 | 192 | 87.4 |
| 12 | 24 | 193 | 87.3 |
| 13 | 48 | 185 | 102.0 |
| 14 | 34 | 174 | 82.9 |
| 15 | 22 | 180 | 70.8 |
| MW ± SD | 28.3 ± 6.9 | 183.7 ± 5.7 | 82.4 ± 8.7 |

Tabelle 1: Anthropometrische Daten aller Probanden sowie Mittelwert und Standardabweichung

1.3 Belastungstests

1.3.1 Mehrstufen-Maximaltest

Der stufenförmige Maximaltest wurde auf einem elektrodynamisch gebremsten, drehzahlunabhängigen Fahrradergometer (Exkalibur, Fa. Lode) durchgeführt. Bei selbst gewählter Kurbelfrequenz wurde der Test mit einer Leistung von 50 Watt (W) begonnen und alle fünf Minuten um jeweils weitere 50 W bis zur subjektiven Erschöpfung des Probanden gesteigert.

Das Bremssystem des Ergometers arbeitet nach dem Prinzip der Wirbelstrombremse nach Lanooy. Das Ergometer ist mit einer Bremsscheibe aus Kupfer ausgestattet, die über eine Kurbelachse sowie spezielle Ketten-Riementransmission angetrieben wird. Als Belastung können Leistungen zwischen 10 und 1000 W, auf ein W \pm ein Prozent genau einstellbar, vorgegeben werden.

Bestimmt wird mit diesem Test die höchste Leistung, die der Proband erbringen kann (P_{\max}) sowie, bei gleichzeitig durchgeführter spirometrischer Untersuchung, die höchste erreichte Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_{2\text{ peak}}$).

1.3.2 Wingate Anaerobic Test

Der Wingate Anaerobic Test (WAnT) wurde auf einem mechanisch gebremsten Fahrradergometer (Monark 324E, Fa. Monark) mit konstanter Bremskraft, jedoch variabler Kurbelfrequenz durchgeführt.

Vor dem eigentlichen WAnT absolvierte jeder Proband ein standardisiertes Vorbereitungsprogramm auf dem Excalibur-Ergometer. Dieses beinhaltete eine fünfminütige Belastung mit 50 W Leistung und variabler Kurbelfrequenz. Nach ca. drei und vier Minuten wurden in das Aufwärmprogramm zwei- bis dreisekündige Belastungsphasen mit jeweils maximaler Kurbelfrequenz eingefügt. Nach diesem Vorbereitungsprogramm verbrachte der Proband eine zehnminütige Pause in sitzender Position und nahm dann seine Fahrposition auf dem mechanisch gebremsten Ergometer ein. Mit dem Startsignal für den WAnT begann der Proband die ersten drei Sekunden zunächst ohne Zusatzlast auf dem Monark-Ergometer zu arbeiten. Dieses ermöglichte ein maximales Beschleunigen mit dem Ziel, die maximale Kurbelfrequenz so schnell wie möglich zu erreichen. Nach diesen initialen drei Sekunden wurde eine zusätzliche Bremskraft beaufschlagt. Dabei wurde ein Bremsgewicht eingesetzt, das 7.5% der Körpermasse entsprach. Die mechanische Leistung errechnet sich aus der Kurbelfrequenz, dem Durchmesser der Riemenscheibe und der Bremskraft. Im Testverlauf wird die Kurbelfrequenz und somit die mechanische Leistung trotz maximaler Anstrengung ermüdungsbedingt

geringer. Der Test ist nach 30 Sekunden maximaler Arbeit mit Bremsgewicht beendet (Abbildung 2).

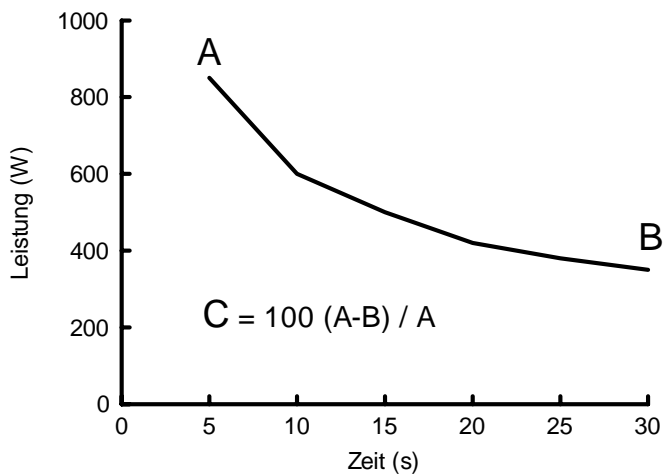


Abbildung 2: Typisches Leistungs-Zeit-Diagramm für einen Wingate-Test

Aus dem Diagramm werden die folgenden Leistungsdaten direkt entnommen bzw. errechnet:

- Peak-Power: Die höchste während eines 5s-Abschnitts berechnete Durchschnittsleistung (A)
- Lowest-Power: Die niedrigste während eines 5s-Abschnitts berechnete Durchschnittsleistung (B)
- Mean-Power: Die durchschnittliche Leistung, berechnet aus den zuvor analysierten 5s-Zeiträumen
- Fatigue-Index: Der prozentuale Abfall der Leistung im Testverlauf bezogen auf die Peak-Power (C)

1.4 Blutentnahmen

1.4.1 Kapillarblutentnahmen

Kapillarblut zur Bestimmung der Blutlaktatkonzentration wurde bei beiden Tests aus dem mit Finalgon forte[®] (Fa. Thomae) hyperämisierten Ohrläppchen entnommen.

Beim Mehrstufen-Maximaltest wurden Kapillarblutproben vor dem Test, in den letzten 30 Sekunden einer jeden Belastungsstufe, bei Testabbruch sowie bis zur neunten Nachbelastungsminute minütlich und dann bis zur 15. Minute nach Testende alle zwei Minuten entnommen.

Beim WAnT erfolgten die Kapillarblutentnahmen unter Ruhebedingungen vor Versuchsbeginn, nach dem Warming-up, sofort nach Testende sowie minütlich bis zur zehnten Nachbelastungsminute und dann bis zur 30. Nachbelastungsminute alle zwei Minuten.

1.4.2 Venöse Blutentnahmen

Zusätzlich zu den bereits beschriebenen Kapillarblutentnahmen wurde vor (T0) und innerhalb der ersten zwei Minuten nach dem 30-s WAnT (T1) sowie weiterhin auch neun (T9) und 30 Minuten (T30) nach Belastungsende am sitzenden Probanden Venenblut entnommen.

Ca. 20 Minuten vor Versuchsbeginn wurde eine Verweilkanüle (19 Gauge Braunüle[®], Fa. Braun) in eine periphere Unterarmvene gelegt. Um den Einfluß venöser Okklusion auf die Hämostase zu vermeiden, wurde das Blut ungestaut entnommen. Die Abnahme erfolgte zu allen Zeitpunkten immer in gleicher Abfolge: Öffnen des Zugangs und kurzes Spülen mit ca. 1 ml 0.9-%iger NaCl-Lösung (Fa. Braun). Verwerfen der ersten ca. 2 ml Blut. Abnahme von ca. 6 ml Vollblut zur Bestimmung gerinnungs- und fibrinolyse-unabhängiger Analysenwerte. Abnahme von ca. 1.5 ml Blut in eine heparinisierte Einwegspritze QS 50[®] der Fa. Radiometer für die Blutgasanalyse und die Hämatokritbestimmung. Abnahme von 10 ml Citratblut für die hämostaseologischen Untersuchungen. Anschließend wurde der Zugang kurz angespült und dann durch eine mit 0.9-%iger NaCl-Lösung gefüllte Einwegspritze verschlossen.

Das venöse Blut diente der Analyse von Blutbild, Gesamteiweiß, Gerinnungs- und Fibrinolysemeßgrößen sowie der Durchführung der Blutgasanalyse.

Für das Blutbild wurde EDTA (= ethylene diamine tetraacetic acid)-Blut (in 5 ml-Vacutainer[®] mit EDTA-Zusatz, Fa. Becton Dickinson) und für die Gerinnungs- sowie Fibrinolyseuntersuchungen Citratblut (1 Teil Natriumcitrat 0.11 mol l⁻¹ plus 9 Teile Vollblut, Vacutainer[®] mit Natriumcitrat-Zusatz, Fa. Becton Dickinson) gewonnen. Die gefüllten Blutröhrchen wurden unmittelbar nach der Entnahme ohne Schaumbildung durch mehrmaliges Hin- und Hergleiten der entstandenen Luftblase gemischt. Das Citratblut wurde unmittelbar nach der Blutentnahme 10 Minuten bei 4°C mit 2360 x g zentrifugiert (Jouan GT 422[®], Fa. Jouan GmbH) und das gewonnene Plasma unter Schonung des „buffy coats“ abgehoben und dann sofort in entsprechenden Aliquots bei -80°C tiefgefroren.

Die Blutgasanalysen wurden direkt nach der jeweiligen Blutabnahme und die Analysen aus dem EDTA-Blut sofort nach Testende durchgeführt.

2 Meßgrößen der Beanspruchung

2.1 Atemgase

Die Messung der Atemgase erfolgt während des gesamten Testes mit dem Spirometer OXYCON gamma[®] (Fa. Mijnhardt). Das OXYCON gamma besteht aus Gesichtsmaske, Gasanalysator, Rechner, Bildschirm und Drucker. Luftdruck, Atemfrequenz, Atemzugvolumen, Sauerstoffaufnahme und Kohlendioxidabgabe werden registriert. Atemfrequenz und Atemzugvolumen werden mittels einer Turbine an der Maske gemessen. Die Turbine wird durch Inspirations- und Expirationsluftstrom betrieben. Die Umdrehungszahl der Turbine ist proportional zur ventilerten Gasmenge bei BTPS-Bedingungen. Die Umdrehungszahl wird mittels Photozelle gemessen. Aus der Expirationsluft wird nahe der Turbine ein Probenvolumen entnommen und über einen Schlauch mit Dissektor einem paramagnetischen Differenzanalysator (O₂) und einem Infrarotanalysator (CO₂) zugeführt. Die mittels OXYCON gamma gemessene Sauerstoffaufnahme für STPD-Bedingungen wird aus Atemzugvolumen und der Differenz der

Sauerstoffkonzentrationen zwischen Inspirations- und Expirationsluft errechnet. Die Aufwärmzeit des Gerätes betrug vor jeder Messung mindestens zwei Stunden. Vor jeder Messung wurde die Turbine zur Bestimmung des Atemzugvolumens mit einer 3.0 l-Eichpumpe geeicht und das Gerät gegen ein Testgas (5.0% CO₂, 95.0% N₂) kalibriert. Die Atemzug-zu-Atemzug-Messungen wurden als Durchschnittswerte der letzten halben Minute jeder Belastungsstufe dokumentiert.

2.2 Blutlaktat

Die Blutlaktatkonzentration (BLK) wurde im Kapillarblut mit dem Laktatmeßgerät EBIO plus[®] (Fa. Eppendorf) bestimmt. Mit einer End-zu-End-Glaskapillare (Fa. Eppendorf) werden 20 µl Kapillarblut entnommen. Die Probe wird in 1 ml ESAT-Systemlösung[®] (Fa. Eppendorf) hämolysiert und direkt nach Versuchsende analysiert.

Zur Messung der Laktatkonzentration werden automatisch 200 µl Probenlösung in eine Meßzelle gesaugt und nach der enzymatisch-amperometrischen Methode analysiert.

Testprinzip: Diese Methode basiert auf der Oxidation von Laktat zu Pyruvat und Wasserstoffperoxid. Das Wasserstoffperoxid wird an einer Platinelektrode oxidiert. Die bei der Oxidation gemessene Strom-Zeit-Kurve wird fortlaufend differenziert. Das Maximum der differenzierten Kurve kennzeichnet den maximalen Anstieg der Strom-Zeit-Kurve. Dieses Maximum wird in einen Spannungswert umgewandelt, welcher der Laktatkonzentration der Probe proportional ist.

2.3 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz wurde mit dem Pulsmeßgerät Sporttester PE 3000[®] (Fa. POLAR) kontinuierlich gemessen. Die Herzfrequenzen zum Zeitpunkt der Kapillarblutentnahmen wurden gesondert protokolliert.

Das Pulsmeßgerät besteht aus einem Sender mit einer regelmäßigen Frequenz, der mit einem Brustgurt über dem vorderen unteren Thorax befestigt wird. Die bei der Herzaktion auftretenden Oberflächenpotentiale wirken als Störfrequenz auf die Frequenz des Senders und werden regelmäßig an den Empfänger weitergeleitet. Der Empfänger kann als Uhr am Körper getragen oder in unmittelbarer Nähe des Probanden (maximale Entfernung ca. 1.0 m) angebracht werden.

2.4 Blutgase

Die Analyse der Blutgase aus dem venösen Blut erfolgte am Blutgasanalysegerät ABL 510[®] (Fa. Radiometer Copenhagen). Bei 37°C messen spezifische Elektroden die Wasserstoffionenkonzentration (pH-Wert) sowie den Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck. Der Wert der Basenabweichung wird berechnet. Eine Qualitätssicherung erfolgt durch regelmäßige Kalibrierung des Gerätes im Abstand von vier Stunden bzw. nach maximal 40 Messungen.

3 Meßgrößen des Gerinnungssystems

Zur Beurteilung der Aktivität des Gerinnungssystems wurden zwei Globaltests durchgeführt, die aktivierte partielle Thromboplastinzeit und die Thromboplastinzeit (Prothrombinzeit nach Quick), sowie die Aktivität des Gerinnungsfaktors VIII bestimmt. Als weitere Meßgrößen der Gerinnungskaskade wurden das Fibrinogen sowie die Fibrinmonomere untersucht.

Die Analyse dieser Meßgrößen erfolgte im Labor 28, Gemeinschaftspraxis für Laboratoriumsmedizin, Berlin.

3.1 aktivierte partielle Thromboplastinzeit

Die Bestimmung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) ermöglicht einen Überblick über das gesamte endogene Gerinnungssystem, also die Faktoren

XII, XI, IX, VIII und mit geringerer Empfindlichkeit auch die Faktoren X, V, II und I. Eingesetzt wurde das Pathromtin SL[®] der Fa. Dade Behring.

Testprinzip: Die Inkubation von Probenplasma mit der optimalen Menge an Phospholipiden und einem Oberflächenaktivator führt zur Aktivierung von Faktoren des endogenen Gerinnungssystems. Durch Zugabe von Calcium-Ionen wird der Gerinnungsvorgang ausgelöst. Die Zeit bis zur Bildung eines Fibringerinnsels wird mit einem Koagulometer bestimmt.

Referenzbereich: 26 - 36 Sekunden

3.2 Thromboplastinzeit / Prothrombinzeit nach Quick

Die Bestimmung der Thromboplastinzeit (TPZ) ermöglicht einen Überblick über die Aktivität im exogenen Gerinnungssystem. Erfasst werden mit diesem Test die Gerinnungsfaktoren VII, X, II und I. Eingesetzt wurde das Innovin[®] der Fa. Dade Behring.

Testprinzip: Dem Probenplasma wird Thromboplastin-Reagenz zugesetzt, das Thromboplastin und Calcium-Ionen enthält, und dann die Zeit bis zum Eintritt der Gerinnung mit einem Koagulometer bestimmt.

Referenzbereich: 9.7 - 12.3 Sekunden.

3.3 Gerinnungsfaktor VIII-Aktivität

Die Bestimmung der Gerinnungsfaktor VIII-Aktivität (FaVIII) erfolgte mit FaVIII-Mangelplasma der Fa. Dade Behring.

Testprinzip: Der Mangel an einem Faktor des intrinsischen Systems führt zu einer Verlängerung der aPTT. Zur Bestimmung des Gerinnungsfaktors VIII wird die aPTT einer Mischung von Faktor VIII-Mangelplasma mit dem Patientenplasma gemessen. Ein Patientenplasma, dem der Faktor VIII fehlt, ist nicht in der Lage, die Abwesenheit dieses Faktors im Mangelplasma auszugleichen. Daraus resultiert eine Verlängerung der aPTT. Die Aktivität des Gerinnungsfaktors VIII in Prozent der Norm wird über eine Bezugskurve ermittelt, welche mit Verdünnungen von

Standard-human-Plasma in Mischung mit diesem Faktor VIII-Mangelplasma erstellt wird.

Referenzbereich: 70 - 150% der Norm

3.4 Fibrinogen

Die quantitative Bestimmung des Fibrinogens erfolgt mit dem Test Multifibren U[®] der Fa. Dade Behring.

Testprinzip: Citratplasma wird mit einem großen Überschuß an Thrombin zur Gerinnung gebracht. Die Gerinnungszeit hängt hierbei weitgehend vom Fibrinogengehalt der Probe ab. Die Auswertung erfolgt über eine selbst erstellte Bezugskurve. Die Erstellung dieser Bezugskurve erfolgt mit Fibrinogen-Standards.

Referenzbereich: 1.8 - 3.5 g l⁻¹

3.5 Fibrinmonomere

Die quantitative Bestimmung der löslichen Fibrinmonomere (FM) erfolgte mit einem enzymimmunologischen in-vitro-Test (Enzymun-Test FM[®], Fa. Boehringer Mannheim) nach dem „Sandwich-Prinzip“.

Testprinzip: Patientenplasma und Inkubationspuffer werden in einem Streptavidin-markierten Reaktionsgefäß inkubiert. In der ersten Immunreaktion werden biotinylierte FM-Antikörper zugegeben. Darüber werden die in der Probe enthaltenen FM mit dem Streptavidin in einem Komplex gebunden. Nach einem Waschschrift werden in der sich anschließenden zweiten Immunreaktion mit POD-markierten FM-Antikörpern Sandwich-Komplexe gebildet, deren Menge ein Maß für den FM-Gehalt der Probe darstellt. Nicht gebundenes POD-Konjugat wird im folgenden Waschschrift entfernt. Nach Zusatz von Substrat-Chromogen-Lösung wird die gebundene POD-Aktivität photometrisch (405 nm) gemessen. Die Auswertung erfolgt über eine Bezugskurve aus FM-Standards.

Vorläufiger Referenzbereich für gesunde Erwachsene: < 9 µg ml⁻¹

4 Meßgrößen zum Fibrinolyse-System

Zur Beurteilung von Veränderungen im fibrinolytischen System wurde die Bestimmung des Gewebetyp Plasminogen Aktivators (= tissue-type plasminogen activator = t-PA) und des Fibrinolyseproduktes D-Dimere durchgeführt.

Die Analyse dieser Meßgrößen erfolgte im Labor 28, Gemeinschaftspraxis für Laboratoriumsmedizin, Berlin.

4.1 Gewebetyp Plasminogen Aktivator

Für die Bestimmung des Gewebetyp Plasminogen Aktivators (t-PA) wurde der Asserachrom t-PA[®]-Test der Fa. Boehringer Mannheim verwendet.

Testprinzip: Die quantitative Messung der Gesamt-t-PA-Menge erfolgte mit einem enzymimmunologischen in-vitro Test nach dem „Sandwich-Prinzip“. Im ersten Schritt bindet der an Mikrotiterplatten fixierte spezifische Antikörper gegen t-PA das gesamte in der Probe enthaltene t-PA. Das t-PA besitzt mehrere antigene Determinanten. Daher werden in der sich jetzt anschließenden zweiten Immunreaktion mit POD-markierten t-PA-Antikörpern Sandwich-Komplexe gebildet, deren Menge ein Maß für den t-PA-Gehalt der Probe darstellt. Nichtgebundenes POD-Konjugat wird im folgenden Waschschrift entfernt. Nach Zusatz von Wasserstoffperoxid und Chromogen (o-Phenylendiamin) wird die gebundene POD-Aktivität photometrisch (492 nm) bestimmt. Die Auswertung erfolgt über eine Bezugskurve, die mit einer geometrischen Verdünnungsreihe aus t-PA-Standard erstellt wird.

Referenzbereich: 1 - 12 ng ml⁻¹

4.2 Fibrinolyseprodukt D-Dimere

Allein bei der Einwirkung von Plasmin auf Fibrin und nicht bei der Spaltung von Fibrinogen entsteht das Fibrinolyseprodukt D-Dimere. Der Nachweis von D-Dimeren im Plasma zeigt somit eine intravasale Gerinnungsaktivierung mit sekundärer

Fibrinolyse an. Eingesetzt wurde für die Bestimmung der Turbiquant D-Dimer[®]-Test der Fa. Dade Behring.

Testprinzip: Mit monoklonalen Antikörpern gegen Human-D-Dimer beladene Polystyrol-Partikel bilden in einer immunchemischen Reaktion mit dem im menschlichen Plasma enthaltenen D-Dimer Agglutinate. Die nach Mischung mit der Probe zunehmende Trübung des Reagenzes wird photometrisch gemessen. Die quantitative Erfassung der vorhandenen D-Dimer-Konzentration erfolgt durch die gleichzeitige Messung der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit und der Zeit, die bis zum Erreichen der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit benötigt wird. Die Auswertung erfolgt über den Vergleich der Reaktionsparameter mit den für ein Referenzpräparat erhaltenen Werten, die in den Behringwerken ermittelt wurden.

Referenzwerte: Werte $> 200 \mu\text{g l}^{-1}$ sind als pathologisch anzusehen.

4.2.1 Einfluß von Milchsäure auf die D-Dimer-Bestimmung

Um einen möglichen Einfluß von Milchsäure auf die D-Dimer-Bestimmung zu untersuchen, wurden fünf Proben aus der täglichen Routine des Labor 28 von Patienten mit Verdacht auf ein thrombo-embolisches Geschehen, bei denen die D-Dimer-Konzentration zwischen $< 200 \mu\text{g l}^{-1}$ und $585 \mu\text{g l}^{-1}$ lag, mit 80%iger-Milchsäure (Verhältnis 1 : 1.5) versetzt und anschließend noch einmal gemessen.

5 Thrombozyten

Die Thrombozytenzahl wurde im EDTA-Vollblut vollautomatisch über einen Hämatologie-Analyzer (Coulter Counter, Coulter Electronics, Hamburg) bestimmt.

Testprinzip: Die Bestimmung erfolgt nach der Impedanzmethode. Die Zählung der Impulse erfolgt in einem Fenster von 2-20 fl. Die mittlere Größe aller Impulse im Thrombozytenhistogramm wird als mittleres Plättchenvolumen angegeben.

Referenzbereich: $150 - 350 \cdot 10^9 \text{ l}^{-1}$

6 Meßgrößen zur Abschätzung der Veränderungen des Plasmavolumens

6.1 Hämoglobin/Hämatokrit-Methode

Bei sportlicher Belastung kommt es durch verschiedene Mechanismen, insbesondere eine vermehrte Filtration im Kapillargebiet, zu einer Abnahme des Plasmavolumens (PV) und somit zur Hämokonzentration. Um das Ausmaß der Hämokonzentration und die damit verbundenen Konzentrationsänderungen der Blutparameter abschätzen zu können, wurden die PV-Veränderungen unter Berücksichtigung von Hämoglobinkonzentration und Hämatokrit zu allen Abnahmezeitpunkten entsprechend nachfolgender Formel nach Strauss et al. (1951) berechnet.

$$\%PV = 100 \frac{HbA(1 - HktB)}{HbB(1 - HktA)} - 100$$

%PV: prozentuale Veränderung des Plasmavolumens (Hb/Hkt-Methode)

HbA: Hämoglobinkonzentration zum Zeitpunkt A ($g \cdot dl^{-1}$)

HbB: Hämoglobinkonzentration zum Zeitpunkt B ($g \cdot dl^{-1}$)

HktA: Hämatokrit zum Zeitpunkt A ($l \cdot l^{-1}$)

HktB: Hämatokrit zum Zeitpunkt B ($l \cdot l^{-1}$)

Hämoglobinkonzentration:

Die Hämoglobinkonzentration (Hb) wurde im EDTA-Vollblut mittels Cyanhaemoglobin-Methode bestimmt.

Testprinzip: Durch Kaliumhexacyanoferrat wird Hämoglobin zu Hämiglobin (Methämoglobin) oxidiert. Kaliumzyanid wandelt dieses in das braungefärbte Hämiglobincyanid um, das photometrisch bei 546 nm gemessen wird.

Referenzbereich: $13.6 - 17.2 \text{ g dl}^{-1}$

Hämatokrit:

Der Hämatokrit (Hkt) wurde mittels Mikrohämatokritmethode ermittelt.

Testprinzip: Blut aus der heparinisierten Einwegspritze QS 50 wurde in speziellen Kapillarröhrchen aufgezogen und in einer Mikrohämatokritzentrifuge (Hämatokrit 2010[®], Fa. Hettich) für vier Minuten bei 14000 U min^{-1} zentrifugiert und der Hämatokrit mit Hilfe eines Normogramms als Verhältnis der roten Zellmasse zur Gesamthöhe der Blutsäule abgelesen.

Referenzbereich: $0.39 - 0.49 \text{ l l}^{-1}$

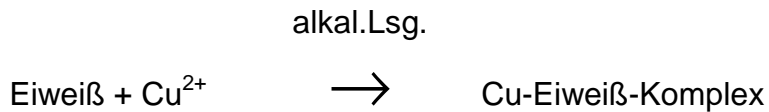
6.2 Eiweißmethode

Eine weitere Abschätzung der PV-Veränderung ist durch die Bestimmung des Gesamteiweiß möglich (Ohira et al. 1977). Die absolute Gesamteiweißmenge ist ein auch unter körperlicher Belastung recht stabiler Parameter (Röcker 1978). Konzentrationsänderungen nach körperlicher Belastung sind primär durch PV-Veränderungen verursacht, es kommt nicht zu einem transkapillären Proteinverlust.

Gesamteiweiß:

Die Bestimmung des Gesamteiweiß erfolgte nach der Biuret-Methode mit dem Gesamt-Eiweiß-Reagenz (TP[®]) der Firma Roche am Roche/Hitachi 917 in Doppelbestimmung. Aus den beiden Meßwerten wurde das arithmetische Mittel berechnet. Die Bestimmung erfolgte im Rahmen dieser Studie im Citratplasma. Aufgrund des vorgelegten Citrats (1 Teil Na-Citrat + 9 Teile Blut) sind die gemessenen Werte durch den Verdünnungseffekt niedriger als Serumwerte. Da zur Ermittlung der Plasmavolumenveränderung jedoch nur die Veränderung der Eiweißkonzentration wichtig ist, ist dieser „Citrat-Effekt“ nicht weiter relevant.

Testprinzip: Zweiwertiges Kupfer reagiert in alkalischer Lösung mit der Peptidbindung der Eiweiße zum charakteristischen purpurfarbenen Biuretkomplex. Mit Natrium-Kalium-Tartrat wird die Ausfällung von Kupferhydroxid und mit Kaliumiodid die Autoreduktion des Kupfers verhindert.



Die Farbintensität ist direkt proportional zur Eiweißkonzentration, die photometrisch gemessen wird. Das Analysegerät berechnet automatisch die Eiweißkonzentration jeder Probe.

Referenzbereich (Serum): 6.4 - 8.3 g dl⁻¹

7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der experimentellen Befunde wurde mit einem IBM-kompatiblen Personal Computer und dem Programm SPSS PC+ (SPSS Inc., Illinois) durchgeführt. Es wurden Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) berechnet. Die Überprüfung der statistischen Signifikanz von MW-Differenzen wurde bei multiplen Vergleichen von verbundenen Stichproben mittels Friedman-Test, bei Paarvergleichen verbundener Stichproben mit Hilfe des Wilcoxon-Testes untersucht. Ein linearer Zusammenhang zweier Meßgrößen wurde mit Hilfe des Pearsonschen Korrelationskoeffizienten überprüft. Die Erklärung der Varianz der Meßgrößen der Gerinnung und Fibrinolyse durch die Einzelfaktoren pH, BLK und PV-Verschiebung zu den drei Meßzeitpunkten nach Belastungsabbruch wurde mittels einer multiplen Regressionsanalyse schrittweise überprüft. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner 5% ($p < 0.05$) wurde ein Ergebnis als signifikant gewertet. Im Zusammenhang mit multiplen Vergleichen wurde eine Bonferroni-Korrektur angewandt.

Folgende Symbole wurden für entsprechende Signifikanzniveaus verwandt:

(*) $0.05 \geq p > 0.01$

(**) $0.01 \geq p > 0.001$

(***) $p \leq 0.001$

(ns) nicht signifikant, wenn $p > 0.05$