

Aus den Forschungseinrichtungen für Experimentelle Medizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Ausmaß allgemeiner und speziell pulmonaler
Biokompatibilitätsreaktionen auf Azidämie und Azidämie/Hypoxämie im
Schweinmodell unter Hämofiltrations-basierter Korrektur der Säure-
Basen-Störung**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Johanna-Josophina Wagner

aus Bad Soden-Salmünster

Datum der Promotion: 30.05.2015

Inhaltsverzeichnis

1. Publikationen eingereicht zur Dissertation.....	1
2. Zusammenfassung der Publikationsdissertation	2
2.1. Abstract deutsch.....	2
2.2. Abstract english.....	3
2.3. Einführung und Fragestellung	4
2.4. Methodik	5
2.5. Ergebnisse	10
2.6. Diskussion.....	14
2.7. Zusammenfassung.....	18
2.8. Abkürzungsverzeichnis.....	19
2.9. Literaturverzeichnis	21
3. Eidesstattliche Versicherung	24
4. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen.....	25
5. Druckexemplare der Publikationen.....	27
6. Lebenslauf	62
7. Vollständige Publikationsliste	63
8. Danksagung.....	64

1. Publikationen eingereicht zur Dissertation

Diese Publikationsdissertation basiert auf den hier aufgeführten Veröffentlichungen, die im Folgenden als P1-3 zitiert werden. Der jeweils angegebene *Impact Factor* bezieht sich auf den *Journal Citation Report* 2012 laut ISI (Institute for Scientific Information; <http://isiknowledge.com/jcr>).

- P1: **Wagner JJ**, Bedarf JR, Russ M, Grosch-Ott S, Keckel T, Hiebl B, Schell H, Unger JK. Adverse influence of mixed acidemia on the biocompatibility of continuous venovenous hemofiltration with respect to the lungs. *Artif Organs* 2013; 37:1049-1058 (*Impact Factor* 2012: 1,964)
- P2: Keckel T, Russ M, Bedarf JR, Ott S, Hiebl B, Haacke N, **Wagner JJ**, Unger JK. In a porcine model of mixed acidemia HES 130/0.4 may support more stable hemodynamics during CVVH when compared to gelatine. *Int J Artif Organs* 2012; 35:180-90 (*Impact Factor* 2012: 1,759)
- P3: Russ M, Deja M, Ott S, Bedarf J, Keckel T, Hiebl B, **Wagner JJ**, Unger JK. Experimental high-volume hemofiltration with predilutionaltris-hydroxymethylaminomethane for correction of low tidal volume ventilation-induced acidosis. *Artif Organs* 2011; 35:E108-18 (*Impact Factor* 2012: 1,964)

2. Zusammenfassung der Publikationsdissertation

2.1. Abstract deutsch

Einführung: Das Akute Lungenversagen/Atemnotsyndrom ist eine der häufigsten Komplikationen in der Intensivmedizin. Mittels der *low tidal volume ventilation* wurde die Beatmung verbessert und in Folge die hohe Mortalität leicht gesenkt. Aus dieser lungenprotektiven Beatmungsstrategie ergibt sich häufig eine therapeutisch tolerierte Azidose (permissive Hyperkapnie), für die *in vitro* und in Kleintiermodellen anti-inflammatorische Effekte gezeigt wurden. Die permissive Hyperkapnie liegt oft im Kontext mit multiplen pro- und anti-inflammatorischen Einflussfaktoren vor, wie beispielsweise der metabolischen Azidose, Hypoxie, maschineller Beatmung oder Nierenersatzverfahren. Ziel der Arbeit war es, herauszufinden, ob der anti-inflammatorische Effekt der Hyperkapnie im komplexen pro-inflammatorischen Setting (Beatmung, kontinuierlich veno-venöse Hämofiltration (CVVH), metabolische Azidämie, Hypoxämie) einen dominanten Einfluss hat und den Lungenschaden minimiert. Auch die hämodynamische Reaktion des Organismus auf das extrakorporale Verfahren unter Azidämie sollte untersucht werden. Zudem wurde die Kombination des Puffers THAM mit der Hämofiltration als Therapiemöglichkeit der gemischten Azidämie getestet.

Methodik: Dazu wurden 6 Schweine je Gruppe analgosediert, beatmet und je nach Gruppe an eine CVVH angeschlossen. Ein Teil der Tiere behielt unter Normoventilation physiologische pH Werte, in anderen Gruppen wurde eine gemischte Azidämie alleine bzw. eine gemischte Azidämie sowie eine Hypoxämie induziert. Nach 3h Hämofiltration wurde die Therapiephase begonnen, die Hypoxämie aufgehoben sowie mittels THAM die Azidämie korrigiert.

Ergebnisse: Basierend auf der *low tidal volume ventilation* führte die gemischte Azidämie zu einer verminderten pulmonalen Leukozyteninfiltration, die jedoch durch die Hypoxämie wieder aufgehoben wurde. Zudem bedingte die Azidämie vermehrt alveoläre Erythrozyten und einen verstärkten Blutstau. Hämodynamisch reagierten die Tiere mit einem erhöhten pulmonalarteriellen Druck (MPAP) und einem verminderten systemvaskulären Widerstand (SVR) auf die gemischte Azidämie. Die Hämofiltration mit prädilutorischer THAM-Gabe war in der Lage innerhalb von 1 h die Azidämie trotz Aufrechterhalt der *low tidal volume ventilation* zu korrigieren und die erhöhten paCO_2 Werte in den Bereich der Ausgangswerte zu senken.

Diskussion: In Kombination mit maschineller Beatmung und Hämofiltration konnte in unserem Großtiermodell der anti-inflammatorische Effekt der hyperkapnischen Azidämie mit zusätzlich metabolischer Komponente in Bezug auf die Lunge bestätigt werden. Diese war jedoch nicht mit einem geminderten Lungenschaden assoziiert, sondern führte zu einer verschlechterten Mikrozirkulation in der Lunge sowie zu Epithelschäden. Die hämodynamische Reaktion auf die gemischte Azidämie ist mit erhöhtem MPAP und erniedrigtem SVR als ungünstig zu werten. Mittels THAM konnte die Azidämie in den Tieren, die an die Hämofiltration angeschlossen

waren, ohne akute, klinisch relevante Nebenwirkungen korrigiert werden.

2.2. Abstract english

Introduction: Acute Lung Injury/Acute respiratory distress syndrome is one of the most common complications in the intensive care medicine. *Low tidal volume ventilation* reduced adverse side effects of the mechanical ventilation and led to a decrease of the high mortality. A clinically accepted respiratory acidosis is often resulting from this lung protective ventilation strategy. For this permissive hypercapnia anti-inflammatory effects are described *in vitro* and in rodents. Frequently there are other pro- and anti-inflammatory influences associated with the respiratory acidosis like metabolic acidosis, hypoxia, and biotrauma due to mechanical ventilation or renal replacement therapies. The aim of this work was to figure out, if anti-inflammatory effects of hypercapnia persist in a complex pro-inflammatory setting (with mechanical ventilation, continuous veno-venous hemofiltration (CVVH), metabolic acidemia and hypoxemia) and if lung injury is reduced. The hemodynamic reaction of the organism on an extracorporeal circuit under acidemia was examined as well. Furthermore the combination of the buffer substance THAM with the hemofiltration as a therapeutic option was investigated.

Methods: 6 pigs per group were analgosedated, mechanically ventilated and depending on group connected to CVVH. Some animals were kept with physiologic pH values and normoxemia, in other groups a mixed acidemia alone or a mixed acidemia combined with hypoxemia was induced. After 3h of hemofiltration the treatment was initiated, that means hypoxemia was finished and acidemia was corrected by THAM.

Results: Compared to the influence of normoventilation and CVVH mixed acidemia could reduce pulmonary leukocyte infiltration. This was abrogated in cases of additional hypoxemia. Furthermore mixed acidemia caused higher amounts of alveolar erythrocytes and enhanced congestion. Concerning hemodynamics animals reacted to acidemia with an elevated mean pulmonary arterial pressure (MPAP) and a decreased systemic vascular resistance (SVR). Hemofiltration with predilutional application of THAM was able to correct acidemia and to reduce paCO_2 to baseline values within 1h.

Discussion: Concerning the lung we could confirm the anti-inflammatory effect of the hypercapnic acidemia when combined with mechanical ventilation, CVVH and metabolic acidemia. However, this was not associated with a reduced lung injury. To the contrary acidemia led to a deteriorated pulmonary microcirculation and epithelial damage instead. The hemodynamic response to the acidemia (rise in MPAP and fall in SVR) can be considered as unfavourable. Application of THAM enabled the correction of pH in animals connected to CVVH without any acute, clinically relevant side effects.

2.3. Einführung und Fragestellung

Das Akute Lungenversagen (ALI - *Acute Lung Injury*) oder in stärker ausgeprägter Form das Akute Atemnotsyndrom (ARDS - *Acute Respiratory Distress Syndrome*) ist eine der häufigsten Komplikationen in der Intensivmedizin und mit einer Mortalität von 40-46% verbunden [1]. Unter Verwendung niedriger Tidalvolumina (V_T) im Rahmen der lungenprotektiven Beatmung konnte die Mortalität des ALI/ARDS gesenkt werden [2]. Mit der *low tidal volume ventilation* steigt das Risiko einer hyperkapnischen Azidose, für die interessanterweise in einigen Studien mit Gewebekulturen bzw. im Labornagermodell anti-inflammatorische Effekte gezeigt werden konnten [3-6]. Intensivmedizinische Patienten sind jedoch meist von verschiedenen pro- und anti-inflammatorischen Problemen gleichzeitig betroffen. Begleiterkrankungen wie das multiple Organversagen oder die Sepsis fügen eine metabolische und oft auch hypoxische Komponente zu dem Säure-Basen-Ungleichgewicht hinzu. Für die metabolische Azidose sind sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Effekte beschrieben [7, 8]. Die Hypoxie gilt als pro-inflammatorisch [9-11]. Außerdem beeinflussen extrakorporale Unterstützungsverfahren wie die maschinelle Beatmung (MB) oder Nierenersatzverfahren (NEV, hier kontinuierlich veno-venöse Hämofiltration - CVVH) die Immunantwort des Patienten. NEV aktivieren das Komplementsystem und können zu vermehrter Adhärenz der Leukozyten am Lungenendothel führen [12-15]. Da bisher die anti- bzw. pro-inflammatorischen Effekte von Azidämie, Hypoxämie, MB und NEV unabhängig voneinander untersucht wurden, haben wir uns gefragt, wie diese miteinander interagieren. Folgende Fragestellungen wurden bearbeitet:

- Behält die azidämische Hyperkapnie auch in Kombination mit multiplen anderen, primär pro- aber auch anti-inflammatorischen Einflüssen einen dominanten Einfluss in Bezug auf die Lunge des multimorbiden Organismus bei (P1)?
- Geht die azidämische Hyperkapnie dabei mit einem verminderten Lungenschaden einher (P1)?
- Führt die Azidämie in Kombination mit der CVVH zu einer Erhöhung des pulmonalen Gefäßwiderstandes und addiert sich dieser Effekt zu der Hypoxie-bedingten pulmonalen Hypertonie (P2)?
- Kommt es unter zusätzlicher CVVH zu einer relevanten kardiodepressiven Wirkung der Azidämie (P2)?

Ein Abfall des arteriellen pH-Wertes bis 7,2 bzw. 7,15 wird im Rahmen intensivmedizinischer Behandlungskonzepte toleriert, solange der Patient gemäß interner *Standard Operating Procedure* (SOP) und/oder entsprechend den Leitlinien hämodynamisch stabil ist sowie keine Blutungen als klinisch manifeste Gerinnungsstörung auftritt [2, 16-18]. Muss die Azidose zur Stabilisierung von Hämodynamik und Gerinnungsparametern korrigiert werden, wird häufig Bikarbonat eingesetzt. Bikarbonat ist jedoch in Patienten mit ventilatorischer Einschränkung

nicht geeignet, den Säure-Basen-Haushalt im Gesamtorganismus zu korrigieren [19, 20]. Die Bikarbonat-basierte Korrektur des Blut pH-Wertes kann bei reduzierter CO₂-Elimination sogar die intrazelluläre Azidose steigern [19, 20]. Ein ventilationsunabhängiges, alternatives Puffersystem stellt Tris-Hydroxymethyl-Aminomethan (THAM) dar [19]. THAM kann Protonen aufnehmen und wird renal oder über ein Nierenersatzverfahren ausgeschieden [21]. Allerdings sind auch negative Effekte, wie Hypotension und Hypoglykämie für THAM beschrieben [21]. Mit prädilutorisch zum NEV-Filter gegebenem THAM könnten die Protonen aufgenommen und anteilig sofort filtriert werden. Damit könnte die Dosis, die in den Organismus gelangt, und folglich die Nebenwirkungen reduziert werden (P3). Somit lautet die Fragestellung:

- Ist die durch das NEV ermöglichte gesteigerte THAM-Dosis in der Lage die gemischte Azidämie kurzfristig zu korrigieren (P3)?
- Hat es einen positiven Effekt auf potentielle Nebenwirkungen wie Blutdruckabfall oder Lungenödem wenn THAM prä- statt postdilutorisch (in Analogie zur zentralvenösen Applikation) gegeben wird (P3)?

Pulmonale Biokompatibilitätsreaktionen (P1): Untersuchung pulmonaler Biokompatibilitätsreaktionen auf Beatmung und Nierenersatzverfahren mit Fokus auf pro- bzw. anti-inflammatorischen Reaktionen unter einer gemischten (respiratorisch-metabolischen) Azidämie vs. Azidämie mit zusätzlicher Hypoxämie.

Hämodynamische Biokompatibilitätsreaktionen (P1 &P2): Analyse hämodynamischer Biokompatibilitätsreaktionen auf Beatmung und Nierenersatzverfahren unter gemischter (respiratorisch-metabolischer) Azidämie.

CVVH-gestützte Therapie mit THAM-Puffer (P3): Untersuchung der Verträglichkeit einer CVVH-gestützten Korrektur der gemischten Azidämie mittels THAM-Puffer.

2.4.Methodik

Die Tiere wurden entsprechend den Richtlinien der Europäischen und der Deutschen Gesellschaft für Versuchstierkunde sowie der Tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz gehalten. Für die Versuche wurden die Räumlichkeiten sowie die nach ISO 9001:2008 zertifizierte Tierhaltung der Einrichtung für Experimentelle Medizin (FEM) der Charité – Universitätsmedizin Berlin genutzt. Die Haltung erfolgte bei Standardklima (20-22° C, Feuchtigkeit <70%) und Lichtwechselbedingungen (12h/12h) in Tageslichtlichträumen, auf planbefestigtem Vollboden mit Stroh-Einstreu und Standardfutter für Mastläufer (Mast Solo (1), Agravis Raiffeisen AG, Münster, Deutschland). Überdies wurde Beschäftigungsmaterial wie Obst, Gemüse, Heu und Spielzeug zur Verfügung gestellt. Die Boxen wurden zweimal täglich gereinigt, wobei sich die Tierpfleger spielerischen mit den Tieren beschäftigten und diese

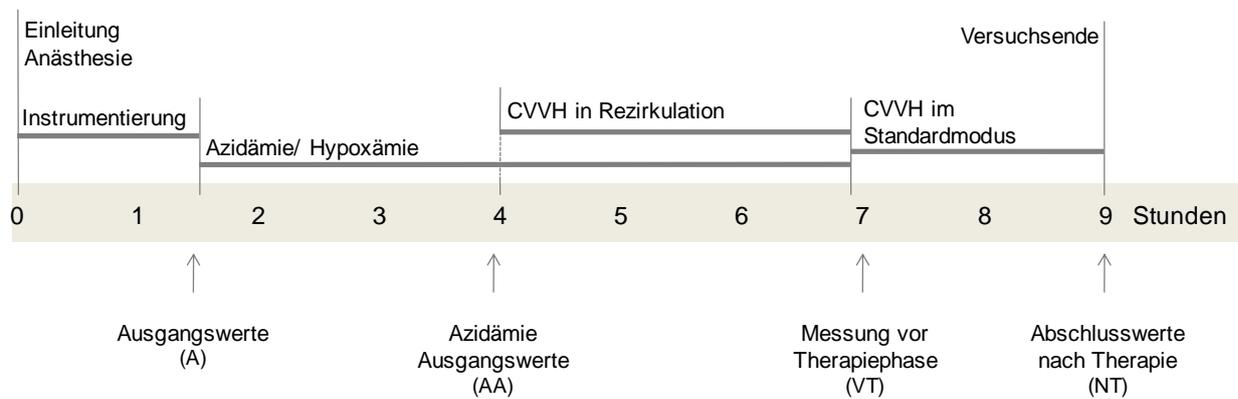


Abb. 1 Versuchsablauf

uschten. Die Schweine konnten sich ausgiebig mit Wasser beschäftigen und suhlen.

Tiere: Als Versuchstiere dienten männliche, kastrierte Hausschweine im Alter von 3,5 - 4,5 Monaten (38-45,5 kg, Muttersaulinie aus Deutsche Landrasse x Large White).

Versuchsablauf: Bis 12 h vor Versuchsbeginn hatten die Schweine *ad libitum* Zugang zum Standarderhaltungsfutter, danach stand das Raufutter der Einstreu und Wasser zur freien Verfügung. Die Tiere erhielten eine i.m. applizierte Prämedikation (3 mg/kg AzaperonStresnil® Jansen-Cilag, Neuss, Deutschland, 0,03 mg/kg Atropin, Atropinsulfat®, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland, 25 mg/kg Ketamin, Ursotamin®, Serumwerk, Bernberg, Deutschland und 3,5 mg/kg Xylazinhydrochlorid, Rompun®, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland), 7-10 mg/kg Propofol i.v. (Propofol 1% MCT®, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) für die Intubation gefolgt von einer total intravenöse Anästhesie (17,5-20 mg/kg/h Thiopental, Trapanal®, ALTANA Pharma, Konstanz, Deutschland und 5,5-7µg/kg/h Fentanyl, Fentanyl®, Jansen-Cilag, Neuss, Deutschland) für Instrumentierung und Versuchsphase (maschinelle Beatmung (Ventilator 711®, Siemens, Forchheim, Deutschland) initial mit $V_T = 10$ ml/kg, Ziel: endexpiratorischer $paCO_2$ 35-45 mmHg; $SO_2 > 95\%$, peripherer venöser Zugang am Ohr, arterieller Zugang in rechte Arteria femoralis, zentralvenöser Katheter in linke Vena jugularis externa, Pulmonalarterienkatheter über rechte Vena jugularis externa und Doppellumenkatheter für CVVH in rechte Vena femoralis) [22]. Nach Erhebung der Ausgangswerte (A) wurde die Azidämie induziert. Dazu wurden 2 mmol/kg/h Säureäquivalente infundiert (0,2 M Milchsäure und 0,2 M Salzsäure Sigma Aldrich, Deutschland; in 0,9% Natriumchlorid von Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) und das V_T auf 6-8 ml/kg reduziert. Die Tiere, deren pH in physiologischem Bereich gehalten wurde, bekamen entsprechende Mengen an physiologischer Kochsalzlösung und behielten ein V_T von 10 ml/kg. Parallel zur Azidämie-Induktion wurde in der entsprechenden Gruppe die Hypoxämie mittels Senkung der Atemfrequenz (AF) und der inspiratorischen Sauerstoff-Fraktion erreicht. Die Zielwerte lagen für den arteriellen pH bei 7,19-7,24, für den $paCO_2$ bei 80-85 mmHg. Nach Erreichen einer stabilen Azidämie/Hypoxämie

Referenzgruppe	Azidämie Kontrollgruppe	azidämische Versuchsgruppen		
mit CVVH	ohne CVVH	mit CVVH		
pH 7,4; V _T 10 ml/kg	pH 7,2; V _T 6-8 ml/kg	pH 7,2; V _T 6-8 ml/kg		pH 7,2; V _T 6-8 ml/kg & Hypoxämie
NaCl	THAM i.v.	THAM prädilutorisch	THAM postdilutorisch	THAM prädilutorisch
P1, P2, P3	P2, P3	P1, P2, P3	P3	P1

Tab. 1 Versuchsgruppen der Veröffentlichungen, CVVH (Kontinuierlichveno-venöse Hämofiltration); V_T (Tidalvolumen), THAM (Tris-Hydroxymethyl-Aminomethan)

(paO₂ max. 70 mmHg, SvO₂ < 65%) Erhebung der Azidämie-Ausgangswerte(AA) und anschließend wurde unter Heparinisierung (Liquemin[®], Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) die Hämofiltration angeschlossen (AK10-Dialysemaschine, Polyflux 140H-Filter, je Gambro Dialysatoren GmbH, Hechingen, Deutschland). Die Hämofiltration wurde in den ersten 3 h in einem Rezirkulationsmodus genutzt, d.h. das Filtrat wurde in die Tiere zurückgegeben, um die Biokompatibilitätsreaktion zu erhöhen. Nach einer erneuten Messung (vor Therapiephase - VT) wurde die Therapiephase eingeleitet. Dazu wurde die Hämofiltration im Standardmodus weitergeführt, 7 Liter Flüssigkeit innerhalb von 1,5-2h ausgetauscht und die Azidämie mittels THAM korrigiert (Tris 36.34% Braun[®], B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Letzteres wurde entweder in den venösen Schenkel vor dem CVVH-Filter (prädilutorisch) oder nach dem CVVH-Filter dazugegeben (postdilutorisch). In den Kontrolltieren, die keine CVVH bekommen haben, wurde THAM i.v. appliziert.

Versuchsgruppen: Die Tiere wurden zu insgesamt 5 Gruppen randomisiert mit jeweils 6 Schweinen/Gruppe (Tab. 1).

In P1 – folgende 3 Gruppen: Die Referenzgruppe ohne Azidämie unter normoxämischen Bedingungen (R), die normoxämische Azidämie-Gruppe (NA) und die hypoxämische Azidämie-Gruppe (HA). Alle 3 Gruppen waren an die CVVH angeschlossen.

In P2 – gab es 3 Gruppen: 1 Kontrollgruppe ohne CVVH (K) und 1 CVVH-Gruppe (NA) beide azidämisch mit Normoxämie, zudem die normoventilierte Referenzgruppe mit physiologischen pH Werten und CVVH (R).

In P3 – folgende 4 Gruppen: 2 Gruppen mit Azidämie und CVVH. Dabei wurde THAM in einer der beiden Gruppen vor dem Filter (Normoxämische Azidämie prädilutorisch - NA prädilutorisch) und in der anderen nach dem Filter gegeben (Normoxämische Azidämie postdilutorisch - NA postdilutorisch). Eine Gruppe mit Azidämie aber ohne CVVH und geringer dosierter intravenöser THAM-Gabe (K) sowie eine normoventilierte Referenzgruppe mit CVVH und physiologischem Säure-Basen-Haushalt (R).

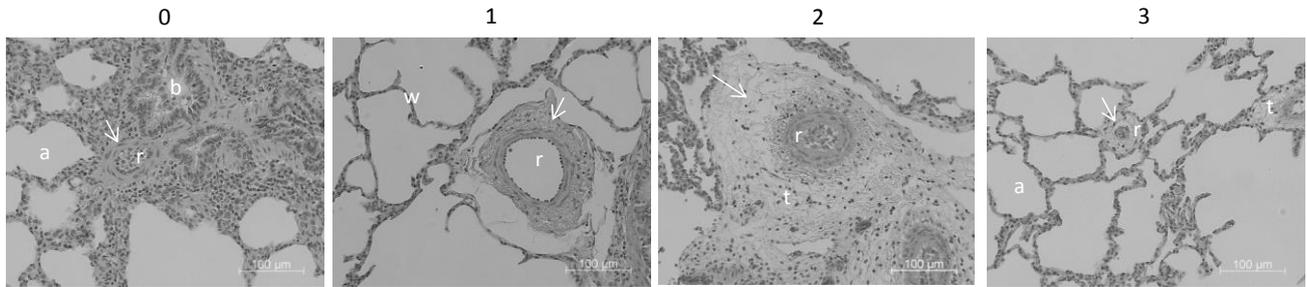


Abb. 2 Score-Einteilung am Beispiel des interstitiellen Ödems Relevante Bereiche mit Pfeilen markiert. 0 - kein Ödem, 1 - leichtes Ödem um ein Gefäß über 50 µm im Durchmesser, 2 - ausgeprägtes Ödem um ein Gefäß über 50 µm im Durchmesser, 3 - Ödem um ein Gefäß unter 50 µm im Durchmesser; **a** (Alveole), **w** (Alveolarwand), **b** (Bronchiole), **r** (Arteriole), **t** (Bindegewebe). HE Färbung, 200 fache Vergrößerung. aus: P1: **Wagner JJ**, et. al . *Artif Organs* 2013; 37:1049-1058

Tabelle 2: Spezifizierung des histologischen Scores (aus P1: **Wagner JJ**, et. al *Artif Organs* 2013; 37:1049-1058)

Ort des Scorings	Score Kriterium	Erklärung der Score Punkte
interstitiell: hier Bindegewebe um Blutgefäße & Bronchiolen		0 kein
	Ödem oder	1 gering um große Gefäße/Atemwege > 50µm
	Leukozyteninvasion	2 ausgeprägtes um große Gefäße/Atemwege
		3 zudem um kleine Gefäße/Atemwege < 50µm
septal oder alveolär je nach Ausmaß		0 kein
	Blutstau	1 Blutstau in venösen Gefäßen
		2 Blutstau in venösen Gefäßen und Kapillaren
		3 Blutstau in venösen Gefäßen, Kapillaren und Arterien
überall	Ödem/ Leukozyten- invasion/ Blutstau/ Erythrozyten oder Alveolarwandver- dickung	0 kein
		1 gering
		2 mittel
		3 hoch
überall	neutrophile Granulozyten	4 sehr hoch
		0 kein
		1 niedrig in 1 Quadranten
		2 hoch in 1 Quadranten
überall	Granulozyten	3 niedrig in 2 oder mehr Quadranten
		4 hoch in 2 oder mehr Quadranten
	Emphysem	In Prozent des Schnittes

Volumenmanagement: Kristalloide und Kolloide (Jonosteril® und Hydroxyethylstärke 6% HES 130kDa/0,4, Voluven®, je Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) wurden in einem Verhältnis von 4:1 verabreicht.

Messungen: Nach der Instrumentierung, nach der Initiierung der Azidämie/Hypoxämie, vor und nach der Therapiephase wurden jeweils Messungen durchgeführt (Abb. 1). Dabei wurden die systemischen und pulmonalarteriellen Drücke (MAP, MPAP) und Widerstände (SVR, PVR), der zentralvenöse Druck (ZVD), der Venenverschlussdruck (PCWP), Herzzeitvolumen (HZV), Schlagvolumen (SV), Herz- und Atemfrequenz (HF/AF) und die Beatmungsdrücke (Ppeak, Pplat, PEEP) sowie SpO₂, exp.CO₂ bestimmt. Weiterhin wurden arterielle, gemischt venöse und zentralvenöse Blutgasanalysen (BGA) durchgeführt und EDTA-Blutproben für Erythrozyten und Leukozyten aus dem Zentralvenenkatheter entnommen. Daraus wurden Sauerstoffangebot und -verbrauch (DO₂, VO₂) mit Standardgleichungen berechnet.

Histologie: Aus jeder Lunge wurde von den Untersuchern jeweils aus dem atelektatischen und dem ventilerten Bereich Proben für die histologische Aufarbeitung gewonnen und unverzüglich in 4%igem Formalin fixiert. Hierbei betrug die Post-Mortem-Zeit mit warmer Ischämie bis zur Formalinfixierung ca. 20 Minuten. Die Aufbereitung der Histologiepräparate mittels standardmäßiger Einbettung in Paraffin und HE-Färbung (Hämatoxylin & Eosin) erfolgte durch die Erstautorin. Die Auswertung erfolgte nach Verblindung der Präparate durch die Erstautorin. Der HE-Score wurde auf Scores von Donauber et al. und Schachtrupp et al. aufgebaut und angepasst [23, 24]. Die Befundung der Präparate gemäß Score erfolgte nach fachlicher Einweisung durch Veterinäre und Veterinärpathologen, um die fachlich korrekte Interpretation des histologischen Bildes zu sichern.

Für die Unterscheidung zwischen prä- und postdilutorisch verabreichtem THAM wurde ein Score zur Beurteilung der Ödemausbreitung verwendet (0 – kein Ödem sichtbar; 1 – Ödem in < 15% des Gesichtsfeldes; 2 – Ödem in 15-50% des Gesichtsfeldes; 3 – Ödem in > 50% des Gesichtsfeldes). Der Score für P1 beinhaltet die Betrachtung von Ödem, Blutstau, Erythrozyten, Leukozyten und neutrophilen Granulozyten, Emphysem und Alveolarwandverdickung. Der semi-quantitative Score reicht von 0 bis 3 bzw. 0 bis 4 und beurteilt Lokalisation und/oder Ausmaß des jeweiligen Kriteriums. 0 bedeutet, dass das entsprechende Kriterium nicht stärker vorgefunden wurde als in Schweinen, die ohne Interventionen für die histopathologische Evaluation getötet wurden. Die Kriterien wurden jeweils interstitiell, septal oder alveolär beurteilt. Die genaue Aufteilung ist in Tab. 2. beschrieben. Beispiele und Bilder zum Scoresystem sind in Abb. 2 und der Publikation P1 dargestellt.

Statistik: Alle Daten wurden mit SigmaStat 3.1 für Windows ausgewertet. Die Analyse der Daten anhand des Kolmogorov-Smirnov-Tests ergab, dass die Daten nicht normalverteilt sind und keine gleiche Varianz vorliegt. Daher wurden die härteren nicht-parametrische Tests verwendet: Für Intergruppenunterschiede wurde der „Mann-Whitney rank sum test“ verwendet, für die

Intragruppen-Differenzen setzten wir den „Friedman repeated measures on ranks test“ ein. Unterschiede mit p-Werten unter 0,05 wurden als signifikant gewertet. Ergebnisse sind als Median und Interquartil-Abstand präsentiert.

2.5. Ergebnisse

Pulmonale Biokompatibilitätsreaktionen (P1)

Die Gesamtzahl der Blutleukozyten stieg in allen 3 Versuchsgruppen an. Im Differentialblutbild zeigte sich, dass dieser Anstieg durch eine Steigerung der Zellzahl von neutrophilen Granulozyten vorlag (Abb. 3b, *Fig. 2d und f* in P1). Unter normoxämischer Azidämie kam es jedoch im Vergleich zu der Referenzgruppe etwas schneller zu diesem Anstieg, sodass am Ende des Versuchs mehr neutrophile Granulozyten im Blut der normoxämischen Azidämie-Gruppe (vs. Referenzgruppe) zu finden waren (*Fig. 2f* in P1). Dahingegen fand sich im ventilerten Lungengewebe der azidämischen Tiere eine verminderte leukozytäre Invasion, im Besonderen auch bzgl. der neutrophilen Granulozyten (Abb. 3). Unter der zusätzlichen Hypoxämie konnte diese durch die Azidämie vermittelte abgeschwächte pulmonale Leukozyten-Invasion nicht mehr beobachtet werden. Die reduzierte Immigration der Leukozyten unter Azidämie war allerdings nicht mit einem abgeschwächten Lungenschaden assoziiert. Es fanden sich vermehrt freie Erythrozyten sowie ein verstärkter Blutstau in den Lungen der azidämischen Tiere im Vergleich zu denen mit physiologischen pH Werten (Abb. 4). Die Tiere mit zusätzlicher Hypoxämie zeigten weniger Blutstau als die Tiere mit alleiniger Azidämie, im Hinblick auf die alveolären Erythrozyten ergaben sich vergleichbare Werte in den beiden Gruppen (NA und HA; Abb. 4).

In Bezug auf das Ödem fand sich kein Unterschied zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen (*Fig. 4d* in P1). Der Sauerstoffindex fiel im Verlauf des Versuches unter Azidämie signifikant ab und auch mit Korrektur der Azidämie konnten die Ausgangswerte nicht erreicht werden (*Fig. 3a* in P1). Am Ende des Versuchs zeigte sich für den Sauerstoffindex ein signifikanter Unterschied zur Referenzgruppe obwohl kein Unterschied bezüglich der Anteile an Emphysem oder Atelektase zwischen beiden Gruppen gefunden werden konnte.

Hämodynamische Biokompatibilitätsreaktionen (P1 & P2)

In der normoxämischen Azidämie-Gruppe kam es zu einem Anstieg des PVR ($p > 0,05$) und MPAP im Vergleich zur Referenzgruppe. Bei den azidämischen Kontrolltieren ohne CVVH konnte dieser Effekt noch ausgeprägter beobachtet und damit der Azidämie zugeordnet werden (Abb. 5). Nach Beendigung der Azidämie sanken PVR und MPAP in beiden Gruppen wieder ($p > 0,05$). Die Hypoxämie verstärkte den Effekt der Azidämie auf PVR und MPAP (*Fig. 4e* in P1). Im Hinblick auf den PCWP fand sich nur unter der Azidämie plus Hypoxämie ein Anstieg

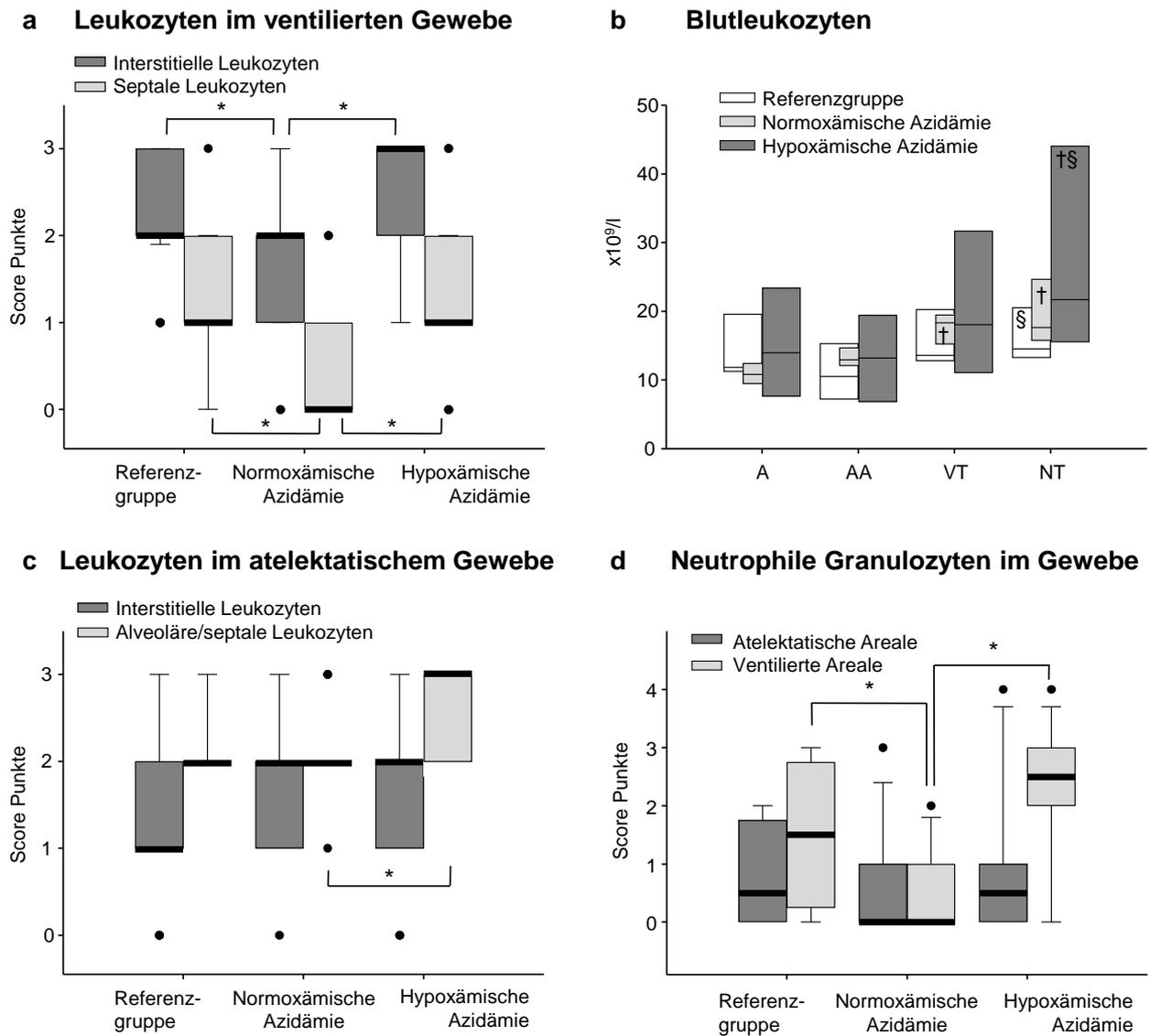


Abb. 3 Leukozyten im Blut und Lungengewebe Die Abbildungen zeigen Histologie-Ergebnisse sowie Blutwerte; A (Ausgangswerte), AA (Azidämie Ausgangswerte), VT (Messwerte vor Therapiephase), NT (Messwerte nach Therapiephase). Boxplots zeigen Median, 25., 75., (10., 90.) Perzentile sowie Ausreißer; *p < 0,05 im Vergleich zwischen 2 Gruppen; †p < 0,05 im Vergleich zu Ausgangswerten, §p < 0,05 im Vergleich zu Azidämie Ausgangswerten; n=6; modifiziert aus: P1: **Wagner JJ**, et al. *Artif Organs* 2013; 37:1049-1058

(Fig. 4f in P1). Außerdem zeigte sich unter der Azidämie eine Abnahme des SVR. Die MAP Werte waren über den Azidämie-Zeitraum in der Azidämie-Gruppe niedriger als in der Referenzgruppe (hier entsprechend während des CVVH-Zeitraums, Abb. 5). In den Kontrolltieren war der MAP über den Azidämie-Zeitraum höher als in der CVVH-Gruppe. Der MAP sank jedoch in allen Gruppen im Laufe des Versuches ab (Tab. 1 in P2). Die HF war unter der CVVH im Vergleich zu den Kontrolltieren erniedrigt (Abb. 5). Das HZV sank in der Referenzgruppe im Verlauf signifikant ab (Tab. 2 je in P1 & P2). In dem Azidämie-Zeitraum zusammengenommen zeigte sich allerdings kein signifikanter Unterschied zu den anderen Versuchsgruppen (Abb. 5).

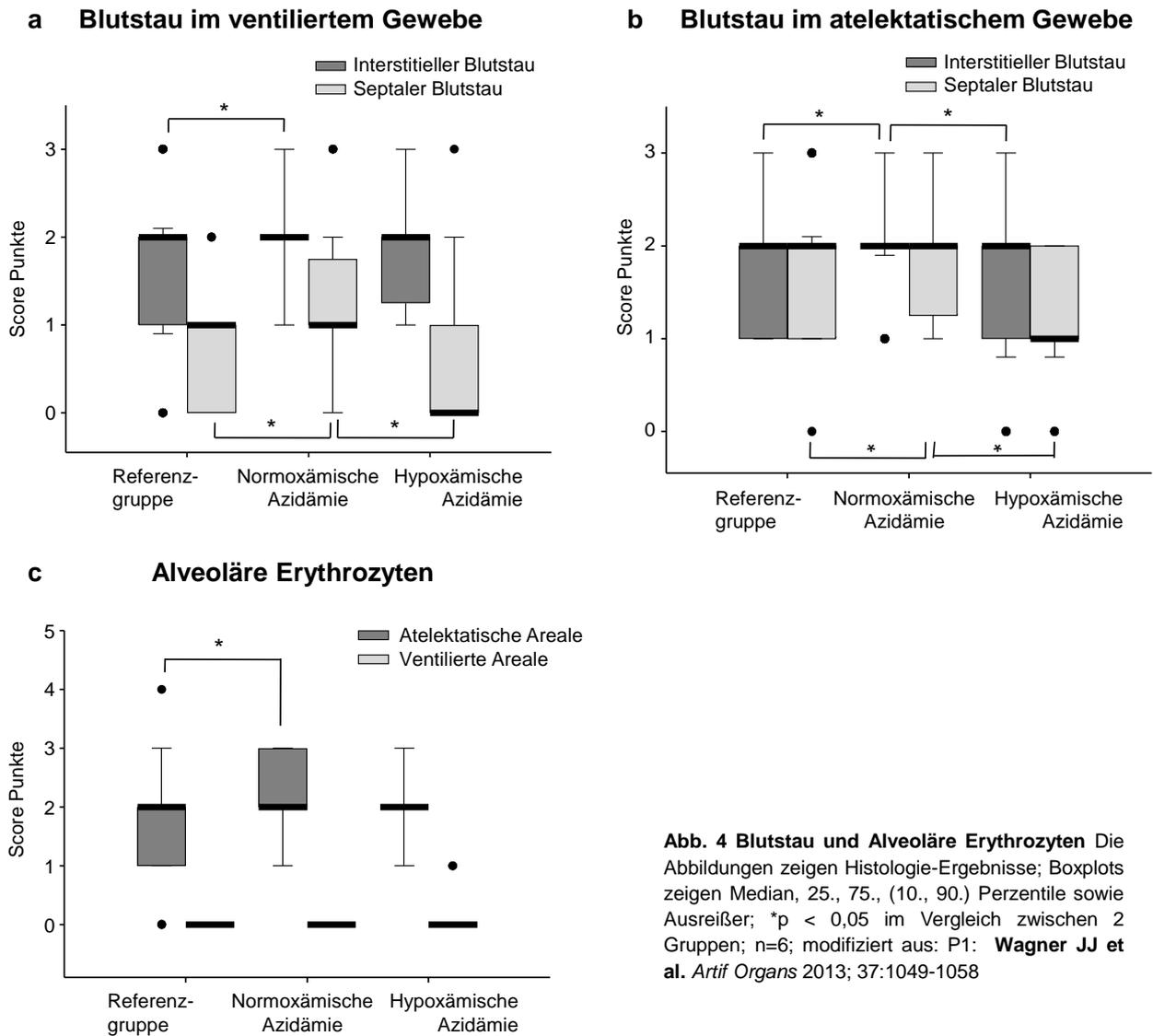


Abb. 4 Blutstau und Alveoläre Erythrozyten Die Abbildungen zeigen Histologie-Ergebnisse; Boxplots zeigen Median, 25., 75., (10., 90.) Perzentile sowie Ausreißer; *p < 0,05 im Vergleich zwischen 2 Gruppen; n=6; modifiziert aus: P1: **Wagner JJ et al. Artif Organs 2013; 37:1049-1058**

CVVH-gestützte Therapie mit THAM-Puffer (P3)

Sowohl die prä- als auch die postdilutorische Gabe von THAM führte zu einem Anstieg der pH Werte in den Bereich der Ausgangswerte der Versuchstiere (Abb. 6). Auch der paCO_2 sank signifikant in den CVVH-Tieren nach THAM-Substitution. Die pH-Werte der Kontrolltiere, die eine i.v. Applikation mit THAM erhielten stiegen zwar während der Therapiephase an, jedoch erreichten sie nicht die Ausgangswerte. Damit unterlag die Kontrollgruppe insgesamt auch einer längeren Azidämiephase als die CVVH-Gruppen. Bikarbonat- und Urin- pH stiegen in allen azidämischen Gruppen während der Therapiephase an (Abb. 6, Tab. 2 in P3). In der Referenzgruppe, die konstant physiologische pH-Werte hatte, zeigte sich eine Abnahme des Bikarbonats und des Basenüberschusses (BE) während der Therapiephase mit hohem Flüssigkeitsaustausch.

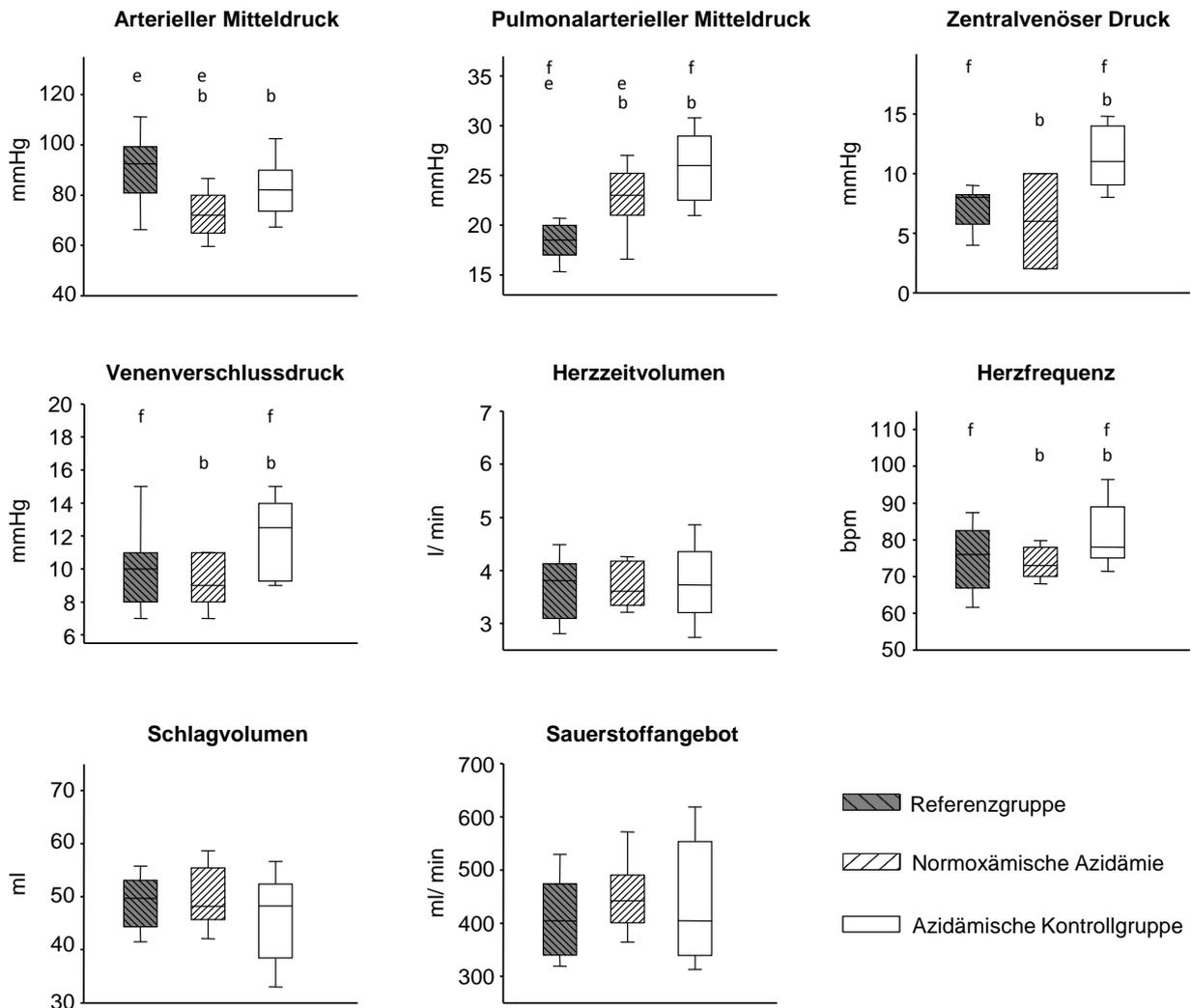


Abb. 5 Hämodynamik Boxplots zeigen alle Werte, die über den gesamten Azidämie Zeitraum in der jeweiligen Gruppe gemessen wurden (bzw. in den 3h CVVH in der Referenzgruppe); Buchstabenpaare (z.B. a a) zeigen signifikante ($p < 0,05$) Unterschiede zwischen den entsprechend Gruppen an. $n=6$; modifiziert aus: P2: Keckel T, Russ M, Bedarf JR, Ott S, Hiebl B, Haacke N, **Wagner JJ**, Unger JK. Int J Artif Organs 2012; 35:180-90.

In keiner der 3 Gruppen führte die THAM Gabe zu einem Abfall des MAP, allerdings konnte auch in keiner der Gruppen die ursprünglichen MAP-Werte wiederhergestellt werden, auch wenn unter prädilutorischer THAM-Gabe ein kurzzeitiger Anstieg des MAP erzielt werden konnte (Fig. 4 in P3). Auf die prädilutorische THAM-Gabe folgte eine signifikante Abnahme des erhöhten MPAP. Eine tendenzielle Abnahme des MPAPs zeigte sich auch für die postdilutorische und intravenöse THAM-Gabe, allerdings ergaben sich hier keine signifikanten Unterschiede. Verglichen mit der prädilutorischen THAM-Gabe resultierte die postdilutorische THAM-Gabe in höheren PCWP Werten und einem höheren Score für das interstitielle pulmonale Ödem (Fig. 4 und 5 in P3). Die maximalen Blutflussraten waren in der prädilutorischen Gruppe signifikant höher als in der postdilutorischen Gruppe. Dazu passend war der Prozentanteil an verschlossenen Hämofilterkapillaren in der postdilutorischen Gruppe

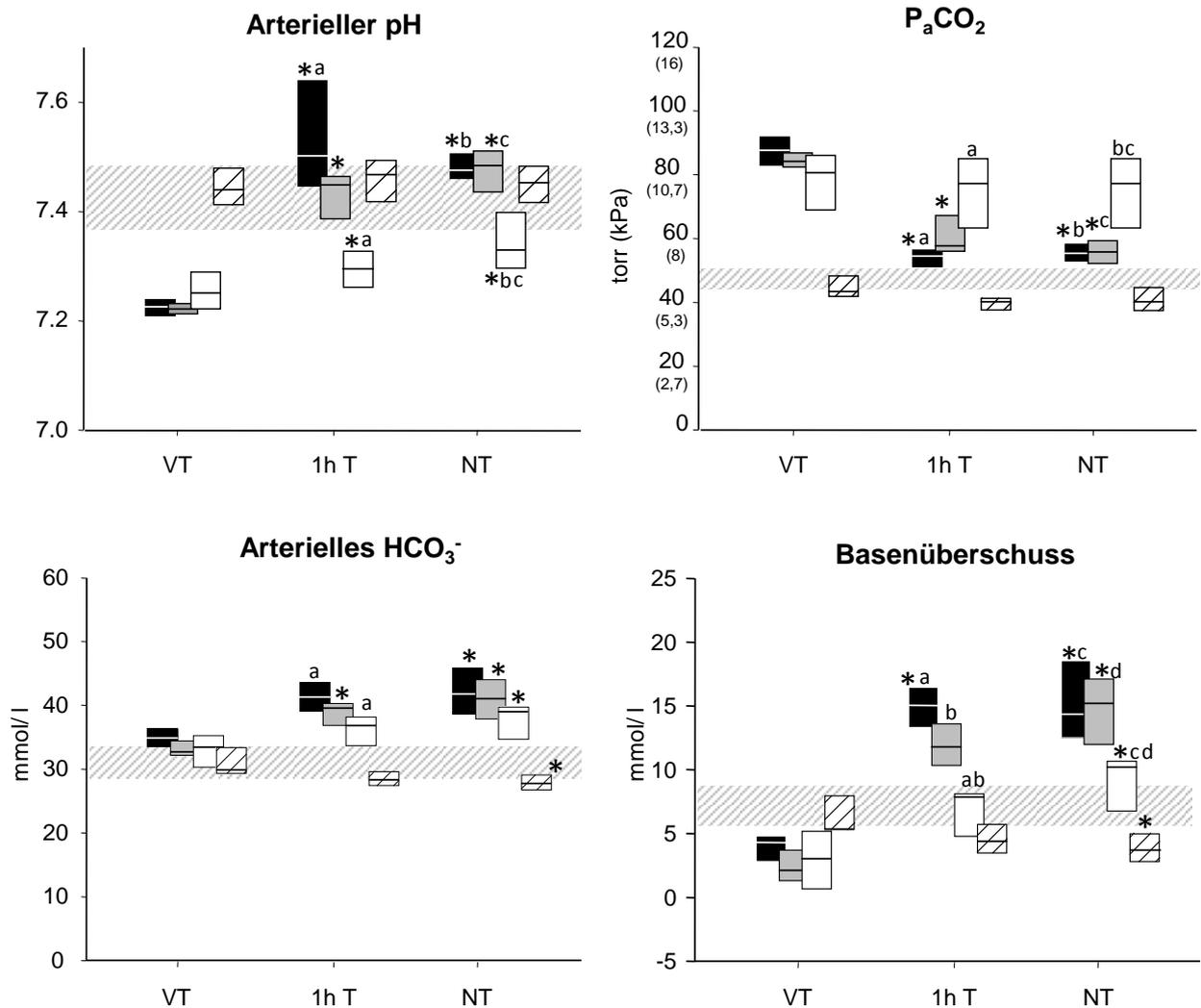


Abb. 6 Blutgasanalyse Boxplots zeigen Median, 25. und 75. Perzentile; VT (vor Therapiephase), 1hT (1h nach Therapiebeginn), NT (nach Therapiephase), grau hinterlegter Bereich gibt den Interquartilenabstand der Ausgangswerte aller Tiere an; * bedeutet einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) zu den Messwerten vor Therapie; Buchstabenpaare (z.B. a a) zeigen signifikante Unterschiede zwischen den entsprechend Gruppen an; n=6; modifiziert aus: P3: Russ M, Deja M, Ott S, Bedarf J, Keckel T, Hiebl B, **Wagner JJ**, Unger JK. *Artif Organs* 2011; 35:E108-18.

höher als in der Referenzgruppe, wohingegen sich zwischen prädilutorischer Gruppe und Referenzgruppe kein signifikanter Unterschied abzeichnete (Fig. 6 in P3).

2.6. Diskussion

Ziel der Arbeiten war es den Einfluss der gemischten Azidämie/Hypoxämie auf die Biokompatibilität extrakorporaler Systeme mit dem Fokus auf Lunge und Kreislauf zu untersuchen und die therapeutische Kapazität von THAM in Kombination mit der CVVH testen.

Das Tiermodell Schwein erscheint uns diesbezüglich sinnvoll, da die Größe der Tiere es ermöglicht, sowohl für die maschinelle Beatmung als auch bei der Anwendung extrakorporaler Kreisläufe mit für den Menschen validierten Klinikgeräten und Materialien zu arbeiten [22, 25].

Pulmonale Biokompatibilitätsreaktionen (P1)

Wie in der Referenzgruppe zu beobachten ist, führten maschinelle Beatmung und CVVH zu einem Anstieg der Blutleukozyten und zu einer pulmonalen Leukozyteninfiltration. In Kleintiermodellen und *in vitro* wurde eine abgeschwächte Immunantwort als Folge der hyperkapnischen Azidose gezeigt [3-6]. In unserem Versuch stiegen die Blutleukozyten unter Azidämie zwar früher an als in der Referenzgruppe, die pulmonale Leukozyteninfiltration war jedoch abgeschwächt obwohl zeitgleich eher pro-inflammatorische Komponenten wie CVVH und metabolische Azidose mitwirkten. Das heißt, dass der vorangehend beschriebene anti-inflammatorische Effekt der azidämischen Hyperkapnie in unserem Versuchsaufbau im Großtiermodell unter Nutzung klinisch eingesetzter Originalgeräte und Materialien bezogen auf die Lunge nachvollziehbar ist. Interessanterweise ging diese anti-inflammatorische Wirkung der Azidämie jedoch nicht mit einer allgemein abgeschwächten Lungenschädigung einher. Unter der Azidämie fand sich ein verstärkter Blutstau und vermehrt alveoläre Erythrozyten. Für letzteres könnte der erhöhte PVR und/oder eine eingeschränkte Zellmembranreparatur, die für die hyperkapnische Azidose beschrieben wurde, als Erklärung dienen [26]. Der verstärkte Blutstau könnte das Resultat einer erhöhten Blutviskosität sein. Diese wurden als Folge der metabolischen Azidose beschrieben [27]. Außerdem wurde eine periphere Venokonstriktion für die metabolische Azidose gezeigt [28]. Die Autoren vermuten, dass diese in einer Erhöhung des pulmonalen Blutvolumens resultiert. Dies wäre eine weitere mögliche Erklärung für den vermehrten pulmonalen Blutstau bei den azidämischen Tieren.

Für die Hypoxie sind ein stärkeres Haftvermögen der Endothelzellen für neutrophile Granulozyten, eine erhöhte Aktivität und eine verspätete Apoptose der neutrophilen Granulozyten beschrieben [9-11]. Dies ist in Einklang mit unserer Beobachtung, dass die zusätzliche Hypoxämie in unserem Versuch den anti-inflammatorischen Effekt der Azidämie wieder aufhebt. Dies war auch in den atelektatischen Bereichen der Lunge zu sehen, denn die abgeschwächte Leukozyteninvasion unter Azidämie betraf nur die ventilierten Bereiche. D.h. auch die lokale Hypoxie in den atelektatischen Lungenabschnitten scheint den anti-inflammatorischen Effekt der Azidämie aufzuheben. Evolutionsbiologisch erscheint es sinnvoll, dass unter der azidämischen Hyperkapnie, die als Resultat einer körperlichen Anpassung an eine Gefahrensituation einen normalen kurzzeitigen Zustand darstellt, keine Leukozyten in die Lunge einwandern, da dies bei ausgeprägtem Ausmaß akut den Gasaustausch verschlechtern könnte und so die Überlebenschancen in einer solchen Situation verringern würde. Aber auch eine in Konsequenz erfolgende Initiierung von Entzündungsreaktionen wäre

evolutionsbiologisch nicht plausibel im Kontext mit Normalfunktionen bei Belastung. Eine zusätzliche Hypoxie hingegen findet sich in aller Regel (mit Ausnahme der Exposition zu Höhenluft) bei einem krankheitsbedingtem Geschehen, wie zum Beispiel einer Pneumonie. In dieser Situation liegt eine schnelle Immunantwort im Interesse einer kompensatorischen Pathophysiologie und Heilung. In dieser Situation erscheint die leukozytäre Invasion nachvollziehbar biologisch sinnvoll.

Die anti-inflammatorische Wirkung der Azidämie kann in Bezug auf die Entwicklung eines ALI/ARDS positiv gewertet werden. Ob dieser Effekt das erhöhte Risiko einer Pneumonie oder Sepsis und die negativen Effekte wie die verschlechterte Zirkulation und ungünstige Hämodynamik auf längere Zeit überwiegt, bleibt herauszufinden [29].

Hämodynamische Biokompatibilitätsreaktionen (P1 & P2)

Die für die Azidämie in der Literatur bereits beschriebene Erhöhung des MPAP bzw. des PVR war auch in unserem Tiermodell sowohl mit als auch ohne CVVH zu beobachten, wobei die CVVH diesen Effekt interessanterweise abzuschwächen schien [19, 30]. Im Sinne des Euler-Liljestrand-Mechanismus verstärkte die Hypoxämie diesen MPAP/PVR-Anstieg [31]. Der systemvaskuläre Widerstand reagierte mit einem Abfall auf die Azidämie. Dies wirkte sich nur gering auf den MAP aus, welcher in allen Gruppen im Verlauf des Versuches abfiel. Ursächlich dafür ist vermutlich das HZV, das in der normoxischen Azidämie-Gruppe im Vergleich zur Referenzgruppe nicht so stark abfiel. Dies erklärten wir uns als eine Sympathikusaktivierung, wie sie für die Azidose bereits bekannt ist [32]. Eine kardiodepressive Wirkung der Azidämie konnten wir also in der Kürze der Azidoseexposition nicht beobachten. Diese Kombination aus erhöhtem MPAP und erniedrigtem SVR ist prognostisch jedoch eher ungünstig und verkompliziert zudem die Therapiemöglichkeiten mit Katecholaminen, die unter azidotischen Bedingungen systemvaskulär nur eingeschränkt wirken [33].

CVVH-gestützte Therapie mit THAM-Puffer (P3)

Die Kombination aus CVVH und prädilutorisch gegebenem THAM (8 mmol/kg/h) konnte trotz Aufrechterhalt der *low tidal volume ventilation* pH-Werte um 7,2 und paCO_2 -Werte um 80 cmH_2O innerhalb von 1 h korrigieren. Die auf die alleinige intravenöse THAM-Gabe ohne CVVH angepasste Dosierung gemäß klinischer Fallstudien von 2mmol/kg/h war dagegen nicht in der Lage pH und paCO_2 zu korrigieren. Die CVVH an sich veränderte den pH Wert nicht, wie in der Referenzgruppe zu sehen war. Die vorbeschriebene Nebenwirkung von THAM in Form einer Hypotension konnte hier nicht bestätigt werden [21]. In allen drei THAM-erhaltenden Gruppen blieb der MAP nach THAM-Applikation bzw. Azidämiekorrektur konstant bzw. stieg in der prädilutorischen THAM-Gruppe kurzzeitig an. Letzteres könnte unsere Hypothese der

geringeren systemischen THAM-Spiegel und Nebenwirkungen bei prädilutorischer Gabe bestätigen.

Obwohl die CVVH für die Behandlung der metabolischen Azidose häufig Anwendung findet, ist sie in Bezug auf die hyperkapnische Azidose weitgehend unerforscht. Für die Elimination von CO₂ wird häufig die ECLA (Extracorporeal Lung Assist) oder ECMO (Extracorporeal Membrane Oxygenation) verwendet. Diese jedoch geht mit einem weitaus größeren Risiko für Blutungen, Embolien, Infektionen und Minderdurchblutung der unteren Extremität (ECLA) einher als eine CVVH [34]. Außerdem setzt sie im Fall des arteriovenös geführten ECLA-Systems eine stabile hämodynamische Situation voraus, die gerade bei hyperkapnischen Patienten nicht immer gegeben ist. Wenn Patienten ohnehin bereits an ein NEV angeschlossen sind, könnte hier THAM zum Einsatz kommen. Die Kombination von prädilutorischer THAM-Gabe mit einem NEV-Verfahren, welches eine hohe Substratclearance anbietet (z.B. Hämodiafiltration), macht es möglich, dass die Dosierung der CO₂-Elimination unabhängig von der therapeutisch frei wählenden Systemclearance des NEV in seiner Nierenersatz-Funktion erfolgt. Zudem könnte prädilutorisch zum NEV-System appliziertes THAM, das *Clogging/Clotting* des Filters durch eine verbesserte Rheologie des vor der Filterpassage gepufferten Blutes verringern [35]. Ein Nachteil hoher THAM-Dosierungen, könnte die Entwicklung eines Lungenödems sein. Dies wurde für Hunde beschrieben, die mit einer hoch dosierten, direkt zentralvenösen THAM Applikation und Dialyse behandelt wurden [36]. In unserem Versuchsaufbau zeigte die prädilutorische THAM-Gabe eine geringere Ödembildung im Vergleich zu der postdilutorischen THAM-Gabe, die einer zentralvenösen i.v. Gabe nahe kommt. Inwieweit dies damit zu erklären ist, dass die Gesamtdosis an THAM im prädilutorischen Verfahren geringer ist oder aber damit, dass die lokal ausgeprägten Alkalisierung des Blutes im zentralen Venenstamm und Vorhoffbereich bei der prädilutorischen Applikation wegfällt, lässt sich aus unseren Daten nicht sagen. Auch unklar ist in der retrospektiven Betrachtung des weiter zurückliegenden Hundemodells, ob die Antagonisierung des Heparins mit Protamin im besagten Modell zum Lungenödem beigetragen hatte [36].

Limitationen: Da wir den Effekt der Azidämie ohne den Einfluss der zugrundeliegenden Erkrankungen untersuchen wollten, bekamen die Tiere eine kombinierte Milch-/ Salzsäureapplikation und eine Beatmung mit niedrigen V_T. Dies hat den Nachteil, dass auf die Lunge bezogen einige Ergebnisse nicht klar der Azidämie zugeordnet werden können, da auch der Unterschied der Tidalvolumina (Referenz- vs. Azidämie-Gruppe) als Ursache in Betracht gezogen werden muss. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass auch in der Referenzgruppe die Beatmungsdrücke mit P_{plat} und P_{peak} von maximal 22 bzw. 24 cmH₂O nie als kritisch beschriebene Werte erreichten. Für die Pufferung mit THAM ist zu bemerken, dass die in den Versuchstieren erhaltene Nierenfunktion zu der Ausscheidung von protoniertem THAM

beigetragen hat. Ein Versuch an Tieren mit Niereninsuffizienz wäre daher wünschenswert für die Fragestellung, ob prädilutorisches THAM mit einem hoch Clearance NEV eine Therapieoption zur ECLA bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion darstellt. Bezüglich des Einflusses der Azidose führt die erhaltene Nierenfunktion jedoch zu keiner inhaltlichen Einschränkung. Eine weitere Limitation ist die Dauer des Versuches, da die Biokompatibilitätsreaktion mit zunehmender Zeit ausgeprägter wird. Diesem Problem haben wir uns mit der rezirkulatorischen Rückinfusion des Filtrats angenähert. Dieses wurde über 3h zurück in den venösen Schenkel gegeben, um entsprechende Biokompatibilitätsreaktionen zu erhöhen. Wünschenswert wären auch Untersuchungen mit einer Azidosekontrolle gewesen, bei der die Tiere statt der Therapiephase weiterhin einer Azidose unterzogen und die histologischen Präparate direkt aus der Azidämiephase ohne Therapieeinfluss erhalten worden wären. Allerdings erwiesen sich die gewählten Azidämiephasen als oberes, sicheres Limit im Schweinemodell ohne unvermittelte, letale kardiozirkulatorische Dekompensation. Vorzeitig, noch vor Therapiebeginn verstorbene Tiere im Rahmen der Modelletablierung bestätigen in ihren Lungenbefunden – im Sinne einer Fall-Reihe – dass die hier beschriebenen histologischen Befunde aus der Azidämie-Expositionsphase stammen. Die im Protokoll durchgeführte Therapiephase von 2h reichte erwartungsgemäß nicht aus, um auch wieder physiologische Ausgangszustände im Lungengewebe herzustellen.

2.7. Zusammenfassung

Auch in Kombination mit multiplen extrakorporalen Einflussfaktoren und metabolischer Komponente behielt die hyperkapnische Azidämie in unserem Versuch eine anti-inflammatorische Wirkung auf die Lunge bei. Unter zusätzlicher Hypoxämie wiederum wurde dieser Effekt aufgehoben. Die abgeschwächte pulmonale Leukozyten-Invasion war jedoch nicht mit einem geringeren Lungenschaden assoziiert, im Gegenteil, die gemischte Azidämie führte zu einem verstärkten Blutstau und vermehrt alveolären Erythrozyten. Zudem resultierte sie in der ungünstigen Kombination aus einem erhöhten MPAP und erniedrigtem SVR. Es bleibt unklar, ob diese anti-inflammatorischen Effekte über einen längeren Zeitraum bestehen bleiben und ob sie angesichts anderer unvorteilhafter Effekte zu einer Verbesserung der Überlebenschancen beitragen.

Mittels prädilutorischer THAM-Gabe konnte unter Hämofiltration die Azidämie innerhalb von kurzer Zeit korrigiert und die erhöhten CO₂ Werte entsprechend gesenkt werden obwohl die *low tidal volume ventilation* fortgesetzt wurde. Dies wurde von den Tieren gut vertragen. Die vorher beschriebene Hypotension konnte in unserem Versuch nicht festgestellt bzw. gut bewältigt werden.

2.8. Abkürzungsverzeichnis

1h T – Messwerte 1h nach Therapiebeginn

A – Ausgangswerte

AA – Azidämie Ausgangswerte

AF – Atemfrequenz

ALI – *Acute lung injury*/Akutes Lungenversagen

ARDS – *Acute respiratory distress syndrome*/Akutes Atemnotsyndrom

BE – *Base excess*/Basenüberschuss

CVVH – *Continuous veno-venous hemofiltration*/Kontinuierlich veno-venöse Hämofiltration

DO₂ – Sauerstoffangebot

ECLA – *Extracorporeal Lung Assist*/Extrakorporale Lungenunterstützung

ECMO – *Extracorporeal Membrane Oxygenation*/Extrakorporale Membranoxygenierung

FEM – Forschungseinrichtung für Experimentelle Medizin

HA – Hypoxämische Azidämie-Gruppe

HE – Hämatoxilin & Eosin

HES – 6% Hydroxyethylstärke

HF – Herzfrequenz

HZV – Herzzeitvolumen

K – Azidämie Kontrollgruppe

MAP – *Mean arterial pressure*/Arterieller Mitteldruck

MB – Maschinelle Beatmung

MPAP – *Mean pulmonary arterial pressure*/Pulmonalarterieller Mitteldruck

NA – Normoxämische Azidämie-Gruppe

NA prädilutorisch – Normoxämische Azidämie-Gruppe prädilutorisch

NA postdilutorisch – Normoxämische Azidämie-Gruppe postdilutorisch

NEV – Nierenersatzverfahren

NT – Messwerte nach Therapiephase

paCO₂ – arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck

PCWP – *Pulmonary capillary wedge pressure*/Venenverschlussdruck

PEEP – *Positive end-expiratory pressure*/Positiver endexpiratorischer Druck

paO₂ – arterieller Sauerstoffpartialdruck

Ppeak – *Peak airway pressure*

Pplat – *Plateau airway pressure*

PVR – *Pulmonary vascular resistance*/Pulmonaler Gefäßwiderstand

R – Referenzgruppe

SO₂ – Sauerstoffsättigung

SP – Score Punkte

SV – Schlagvolumen

SVR – *Systemic vascular resistance*/Peripherer Gefäßwiderstand

THAM – Tris-Hydroxymethyl-Aminomethan

VO₂ – Sauerstoffverbrauch

V_T – Tidalvolumen

VT – Messwerte vor Therapiephase

ZVD – Zentralvenöser Druck

2.9. Literaturverzeichnis

1. Zambon M, Vincent JL Mortality rates for patients with acute lung injury/ARDS have decreased over time. *Chest* 2008; 133:1120-7.
2. NETWORK TARDS Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med* 2000; 342:1301-8.
3. De Smet HR, Bersten AD, Barr HA, et al. Hypercapnic acidosis modulates inflammation, lung mechanics, and edema in the isolated perfused lung. *J Crit Care* 2007; 22:305-13.
4. Laffey JG, Honan D, Hopkins N, et al. Hypercapnic acidosis attenuates endotoxin-induced acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169:46-56.
5. Laffey JG, Tanaka M, Engelberts D, et al. Therapeutic hypercapnia reduces pulmonary and systemic injury following in vivo lung reperfusion. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:2287-94.
6. Sinclair SE, Kregenow DA, Lamm WJ, et al. Hypercapnic acidosis is protective in an in vivo model of ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166:403-8.
7. Kellum JA, Song M, Li J Science review: extracellular acidosis and the immune response: clinical and physiologic implications. *Crit Care* 2004; 8:331-6.
8. Lardner A The effects of extracellular pH on immune function. *J Leukoc Biol* 2001; 69:522-30.
9. Beck-Schimmer B, Schimmer RC, Madjdpour C, et al. Hypoxia mediates increased neutrophil and macrophage adhesiveness to alveolar epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 25:780-7.
10. Hannah S, Mecklenburgh K, Rahman I, et al. Hypoxia prolongs neutrophil survival in vitro. *FEBS Lett* 1995; 372:233-7.
11. Michiels C, Arnould T, Remacle J Endothelial cell responses to hypoxia: initiation of a cascade of cellular interactions. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1497:1-10.
12. Gorbet MB, Sefton MV Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. *Biomaterials* 2004; 25:5681-703.
13. Grootendorst AF, van Bommel EF, van der Hoven B, et al. High volume hemofiltration improves right ventricular function in endotoxin-induced shock in the pig. *Intensive Care Med* 1992; 18:235-40.
14. Stein B, Pfenninger E, Grunert A, et al. Influence of continuous haemofiltration on haemodynamics and central blood volume in experimental endotoxic shock. *Intensive Care Med* 1990; 16:494-9.
15. Ullrich R, Roeder G, Lorber C, et al. Continuous venovenous hemofiltration improves arterial oxygenation in endotoxin-induced lung injury in pigs. *Anesthesiology* 2001; 95:428-

36.

16. Weber T, Tschernich H, Sitzwohl C, et al. Tromethamine buffer modifies the depressant effect of permissive hypercapnia on myocardial contractility in patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1361-5.
17. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013; 39:165-228.
18. Deja M, Hommel M, Weber-Carstens S, et al. Evidence-based therapy of severe acute respiratory distress syndrome: an algorithm-guided approach. *J Int Med Res* 2008; 36:211-21.
19. Adroque HJ, Madias NE Management of life-threatening acid-base disorders. First of two parts. *N Engl J Med* 1998; 338:26-34.
20. Kallet RH, Liu K, Tang J Management of acidosis during lung-protective ventilation in acute respiratory distress syndrome. *Respir Care Clin N Am* 2003; 9:437-56.
21. Nahas GG, Sutin KM, Fermon C, et al. Guidelines for the treatment of acidaemia with THAM. *Drugs* 1998; 55:191-224.
22. Russ M, Ott S, Bedarf JR, et al. Prolonged hypoxemia and acidemia in anesthetized pigs: a model for research on extracorporeal organ support in an intensive care setting. *Int J Artif Organs* 2010; 33:544-52.
23. Donaubauer B, Busch T, Lachmann R, et al. Low-dose inhalation of an endothelin-A receptor antagonist in experimental acute lung injury: ET-1 plasma concentration and pulmonary inflammation. *Exp Biol Med (Maywood)* 2006; 231:960-6.
24. Schachtrupp A, Toens C, Hoer J, et al. A 24-h pneumoperitoneum leads to multiple organ impairment in a porcine model. *J Surg Res* 2002; 106:37-45.
25. Russ M, Esche V, Ott S, et al. Stable mixed acidemia in anesthetized pigs--a model for research on biocompatibility of hemofilters under a deteriorated acid-base balance. *Artif Organs* 2011; 35:192-6.
26. Doerr CH, Gajic O, Berrios JC, et al. Hypercapnic acidosis impairs plasma membrane wound resealing in ventilator-injured lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:1371-7.
27. Reinhart WH, Gaudenz R, Walter R Acidosis induced by lactate, pyruvate, or HCl increases blood viscosity. *J Crit Care* 2002; 17:68-73.
28. Mitchell JH, Wildenthal K, Johnson RL, Jr. The effects of acid-base disturbances on cardiovascular and pulmonary function. *Kidney Int* 1972; 1:375-89.
29. O'Croinin DF, Nichol AD, Hopkins N, et al. Sustained hypercapnic acidosis during pulmonary infection increases bacterial load and worsens lung injury. *Crit Care Med* 2008; 36:2128-35.

30. Balanos GM, Talbot NP, Dorrington KL, et al. Human pulmonary vascular response to 4 h of hypercapnia and hypocapnia measured using Doppler echocardiography. *J Appl Physiol* 2003; 94:1543-51.
31. v. Euler US, Liljestrand G Observations on the Pulmonary Arterial Blood Pressure in the Cat. *Acta Physiologica Scandinavica* 1946; 12:301–320.
32. Brofman JD, Leff AR, Munoz NM, et al. Sympathetic secretory response to hypercapnic acidosis in swine. *J Appl Physiol* 1990; 69:710-7.
33. Handy JM, Soni N Physiological effects of hyperchloraemia and acidosis. *Br J Anaesth* 2008; 101:141-50.
34. Ellis S, Burkhardt O, Welte T [Modern artificial respiration concepts in the treatment of acute respiratory distress syndrome]. *Dtsch Med Wochenschr* 2008; 133:2522-6.
35. Russ M, Bedarf JR, Grosch-Ott S, et al. First level prevention instead of third level intervention-review of research to improve biocompatibility and performance of capillary membrane apheresis in critically ill patients. *Artif Organs* 2013; 37:501-12.
36. Gille JP, Saunier C, Schrijen F, et al. Metabolic CO₂ removal by dialysis: THAM vs NaOH infusion. *Int J Artif Organs* 1989; 12:720-7.

3. Eidesstattliche Versicherung

Ich, Johanna-Josophina Wagner, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

„Ausmaß allgemeiner und speziell pulmonaler Biokompatibilitätsreaktionen auf Azidämie und Azidämie/Hypoxämie im Schweinmodell unter Hämofiltrations-basierter Korrektur der Säure-Basen-Störung“

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE - www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Betreuerin, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift

4. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Johanna-Josophina Wagner hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: **Wagner JJ**, Bedarf JR, Russ M, Grosch-Ott S, Keckel T, Hiebl B, Schell H, Unger JK, Adverse influence of mixed acidemia on the biocompatibility of continuous veno-venous hemofiltration with respect to the lungs, *Artif Organs*, 2013

Anteil des Promovenden: 75%.

Beitrag im Einzelnen: Etablierung und Durchführung der Laborarbeiten, Ausarbeitung des Scores zur Beurteilung der Histologie sowie Durchführung der histologischen Auswertung, eigenständige Literaturrecherche bzgl. Einfluss von Azidämie/Hypoxämie auf Lungenhistologie, Hämodynamik sowie Biokompatibilitätsreaktionen von extrakorporalen Systemen, statistische Auswertung, selbstständiges Ausarbeitendes zu veröffentlichen Artikels inklusive Abbildungen und Tabellen sowie anschließende Veröffentlichung mit Einverständnis PD Juliane Unger.

Publikation 2: Keckel T, Russ M, Bedarf JR, Ott S, Hiebl B, Haacke N, **Wagner JJ**, Unger JK, In a porcine model of mixed acidemia HES 130/0.4 may support more stable hemodynamics during CVVH when compared to gelatine, *Int J Artif Organs*, 2012

Anteil des Promovenden: 25%

Beitrag im Einzelnen: Eigenständige Literaturrecherche und Diskussion der Ergebnisse und Literatur mit der Arbeitsgruppe und dem Erstautor.

Publikation 3: Russ M, Deja M, Ott S, Bedarf J, Keckel T, Hiebl B, **Wagner JJ**, Unger JK, Experimental high-volume hemofiltration with predilutional tris-hydroxymethylaminomethane for correction of low tidal volume ventilation-induced acidosis, *Artif Organs*, 2011

Anteil des Promovenden: 30%

Beitrag im Einzelnen: Etablierung und Durchführung der Laborarbeiten, Ausarbeitung des Scores zur Beurteilung der Histologie sowie Durchführung der histologischen Auswertung, eigenständige Literaturrecherche und Diskussion der Ergebnisse mit der Arbeitsgemeinschaft und dem Erstautor.

Da keine direkte Mitarbeit an der in vivo-Phase des Tierversuches möglich war, erfolgte zur Vervollständigung der Kenntnisse und des Grundverständnisses der Methoden die Teilnahme am Lehrprogramm zur Narkoseführung/Instrumentalisierung und Sektion von Schweinen im Tierversuch L0422/09 sowie Hospitanz bei ARDS/ECMO-Workshops der Klinik für Anästhesiologie (L0036/07).

Unterschrift, Datum

5. Druckexemplare der Publikationen

<http://dx.doi.org/10.1111/aor.12104>

<http://dx.doi.org/10.5301/ijao.5000090>

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2011.01204.x>

6. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

7. Vollständige Publikationsliste

1. **Wagner JJ**, Bedarf JR, Russ M, Grosch-Ott S, Keckel T, Hiebl B, Schell H, Unger JK. Adverse influence of mixed acidemia on the biocompatibility of continuous veno-venous hemofiltration with respect to the lungs. *Artif Organs* 2013; 37 (12):1049-1058
2. Keckel T, Russ M, Bedarf JR, Ott S, Hiebl B, Haacke N, **Wagner JJ**, Unger JK. In a porcine model of mixed acidemia HES 130/0.4 may support more stable hemodynamics during CVVH when compared to gelatine. *Int J Artif Organs* 2012; 35 (3):180-90
3. Russ M, Deja M, Ott S, Bedarf J, Keckel T, Hiebl B, **Wagner JJ**, Unger JK. Experimental high-volume hemofiltration with predilutional tris-hydroxymethylaminomethane for correction of low tidal volume ventilation-induced acidosis. *Artif Organs* 2011;35:E108-18
4. Bedarf J, Grosch-Ott S, Russ M, **Wagner JJ**, Hiebl B, Kirschfink M, Unger JK. Impact of different types of resuscitation fluids on coagulation and continuous venovenous hemofiltration hemocompatibility in a porcine model. *Ther Apher Dial* 2013; 17(5):510-23

8. Danksagung

Ohne die Unterstützung vieler Menschen wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Allen voran möchte ich meiner Doktormutter und Betreuerin PD Dr. med. vet. Juliane K. Unger danken. Sie lehrte mich wissenschaftliches Arbeiten und stand mir jederzeit mit ihrem Rat, ihrer konstruktiven Kritik und ihren Ideen zur Seite.

Weiterhinmöchte ich Dr. med. Martin Russ danken, der immer ein Ansprechpartner für Fragen war und Diskussionen bereicherte. Janis Bedarf, Tobias Keckel und Sascha Grosch-Ott danke ich für die Geduld bei der Einarbeitung in die Laborarbeiten und den Anregungen in Diskussionen.

Ebenfalls Herzlichen Dank an Gabriela Korus, aus dem Julius Wolff Institut unter der Leitung von Hr. Prof. Georg Duda, die mich im Labor (JWI) mit vielen Tipps und Tricks unterstützte.