

Aus der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt
operative Intensivmedizin CCM/CVK
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Hämolyse bei Patientinnen und Patienten mit ARDS und
Therapie mit ECMO

Hemolysis in patients with ARDS and therapy with ECMO

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Philip Moritz Hildebrandt

Datum der Promotion: 25.06.2023

Vorwort

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in: Graw JA, Hildebrandt P, Krannich A, Balzer F, Spies C, Francis RC, Kuebler WM, Weber-Carstens S, Menk M, Hunsicker O. The role of cell-free hemoglobin and haptoglobin in acute kidney injury in critically ill adults with ARDS and therapy with VV ECMO. Crit Care. 2022;26(1):50 (22.02.2022) (1).

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis.....	iv
Abbildungsverzeichnis.....	v
Abkürzungsverzeichnis.....	vi
Abstrakt	1
Abstract	3
1. Einleitung.....	5
1.1 Hämoglobin im menschlichen Blut.....	5
1.1.1 Aufgaben des Blutes	5
1.1.2 Aufbau von Hämoglobin	5
1.1.3 Eigenschaften von Hämoglobin.....	6
1.1.4 Hämoglobin als Bestandteil des Bluts	6
1.1.5 Hämoglobin als reaktiver Komplex.....	7
1.2 Hämolyse	8
1.2.1 Definition und Formen einer Hämolyse	8
1.2.2 Freisetzung von Hämoglobin.....	8
1.2.3 Wechselwirkungen von freiem Hämoglobin.....	9
1.2.4 Klinische Auswirkungen von freiem Hämoglobin.....	10
1.2.5 Kontrolle der Plasmaspiegel von freiem Hämoglobin	11
1.2.6 Haptoglobin	11
1.2.7 Wechselwirkung zwischen freiem Hämoglobin und Haptoglobin.....	11
1.2.8 Glomeruläre Filtration von freiem Hämoglobin	12
1.2.9 Haptoglobin als Hämolyseparameter.....	13
1.3 Acute Respiratory Distress Syndrome	13
1.3.1 Definition des ARDS.....	13
1.3.2 ARDS in der klinischen Praxis.....	14
1.3.3 Pathophysiologie des ARDS	15

1.3.4 Ursachen eines ARDS.....	16
1.3.5 Therapie des ARDS.....	17
1.3.6 ARDS und Hämolyse.....	17
1.4 Extrakorporale Membranoxygenierung	18
1.4.1 Aufbau und Arten der ECMO.....	18
1.4.2 Einsatz der ECMO bei der Therapie des ARDS	18
1.4.3 Ursachen für eine Hämolyse bei der Durchführung einer ECMO-Therapie... 19	
1.4.4 Auswirkungen einer Hämolyse während einer ECMO-Therapie	20
1.5 Akute Nierenschädigung	21
1.5.1 Definition der akuten Nierenschädigung.....	21
1.5.2 Akute Nierenschädigung in der klinischen Praxis.....	21
1.5.3 Akute Nierenschädigung und Hämolyse.....	22
1.6 Zielsetzung der Arbeit	23
2. Methodik.....	24
2.1 Studiendesign	24
2.2 Studienteilnehmerinnen und Studienteilnehmer.....	25
2.3 Laborchemische Parameter	25
2.4 Einteilung der Patientinnen und Patienten	25
2.5 Endpunkte.....	26
2.6 Datenerhebung und -sammlung.....	27
2.7 Statistik	27
3. Ergebnisse	29
3.1 Patientinnen und Patienten der Studie.....	29
3.2 Behandlungsvergleich der Patientengruppen	31
3.3 Akute Nierenschädigung und freies Hämoglobin	33
3.4 Freies Hämoglobin als Risikofaktor für eine akute Nierenschädigung	36
3.5 Haptoglobin als protektiver Faktor für eine akute Nierenschädigung	39

4. Diskussion	41
4.1 Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse.....	41
4.2 Interpretation der Ergebnisse und aktueller Forschungsstand	41
4.3 Aktuelle klinische Anwendung	43
4.4 Stärken und Schwächen der Studie	44
4.5 Implikationen für die Praxis und die zukünftige Forschung.....	45
5. Schlussfolgerungen	46
Literaturverzeichnis	47
Eidesstattliche Versicherung	54
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen.....	55
Lebenslauf.....	56
Komplette Publikationsliste.....	58
Danksagung	59
Bescheinigung Statistik	60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Kriterien, die nach der Berlin Definition zur Diagnose eines akuten Lungenversagens erfüllt sein müssen.....	14
Tabelle 2	Stadien der akuten Nierenschädigung und deren Diagnosekriterien bei Erwachsenen nach KDIGO.....	21
Tabelle 3	Definition der akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO für Erwachsene	26
Tabelle 4	Eigenschaften der Patientinnen und Patienten im Vergleich zwischen Gruppen mit niedriger, moderater und hoher Konzentration von freiem Hämoglobin.....	32
Tabelle 5	Eigenschaften im Vergleich von Patientinnen und Patienten mit und ohne akute Nierenschädigung Stadium 3 bei ECMO-Beginn	35
Tabelle 6	Begutachtung von Risikofaktoren für akute Nierenschädigung Stadium 3 KDIGO bei Beginn der ECMO-Therapie in einer univariablen und multivariablen Analyse	38

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Diagramm des Studienablaufs	29
Abbildung 2	Verteilung der Konzentration von fHb bei Beginn der ECMO-Therapie innerhalb der Studiengruppe	30
Abbildung 3	Verteilung der Konzentration von Haptoglobin bei Beginn der ECMO-Therapie innerhalb der Studiengruppe	30
Abbildung 4	Detaillierte Darstellung der Diagnosekriterien der akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO (A) und der Indikationen für die Durchführung eines Nierenersatzverfahrens bei Beginn der ECMO-Therapie (B).	34
Abbildung 5	Assoziation der Konzentration von fHb mit einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 und der Gruppeneinteilung anhand der Konzentration von fHb	36
Abbildung 6	Die Konzentration von fHb als Risikofaktor für eine akute Nierenschädigung Stadium 3	37
Abbildung 7	Die Rolle von Haptoglobin bei Patientinnen und Patienten mit erhöhter Konzentration von fHb	39
Abbildung 8	Die Konzentration von fHb als Risikofaktor für eine akute Nierenschädigung unter Beachtung der Grenzwerte der Konzentration von Haptoglobin	40

Abkürzungsverzeichnis

AECC	Amerikanisch-europäischen Konsensuskonferenz (engl. American-European Consensus Conference)
AIC	Informationskriterium nach Akaike (engl. Akaike information criterion)
AKI	Akute Nierenschädigung (engl. acute kidney injury)
ARDS	Akutes Lungenversagen (engl. acute respiratory distress syndrome)
AUC	area under the curve
CPAP	kontinuierlicher positiver Atemwegsdruck (engl. continuous positive airway pressure)
CI	Konfidenzintervall (engl. confidence interval)
DAD	diffuser alveolärer Schaden (engl. diffuse alveolar damage)
ECMO	Extrakorporale Membranoxygenierung (engl. extracorporeal membrane oxygenation)
fHb	freies Hämoglobin
Hp	Haptoglobin
IQR	Interquartilsabstand (engl. interquartile range)
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
KI	Konfidenzintervall
LDL	low density Lipoprotein
MetHb	Methämoglobin
NO	Stickstoffmonoxid
NRI	net reclassification improvement
OR	Odds Ratio
PBW	Idealgewicht (engl. predicted body weight)
PEEP	positiver endexpiratorischer Beatmungsdruck (engl. positive end-expiratory pressure)
PIP	inspiratorischer Spitzendruck (engl. peak inspiratory pressure)

Pplateau	Plateau-Druck
SAPS	Simplified Acute Physiology Score
SOFA	Sepsis-related organ failure assessment
VA ECMO	veno-arterielle ECMO
VV ECMO	veno-venöse ECMO
VVA ECMO	veno-veno-arterielle ECMO

Abstrakt

Hintergrund Bei Patientinnen und Patienten mit einem schweren acute respiratory distress syndrome (ARDS) kann eine Therapie mit einer extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) notwendig sein. Sowohl das ARDS selbst als auch die Therapie mit ECMO können eine Hämolyse verursachen. Diese kann zur Freisetzung von Hämoglobin in das Blutplasma (fHb) und dadurch zur Schädigung umliegender Strukturen führen. Bei einer Hämolyse kann die Niere hohen fHb-Konzentrationen ausgesetzt sein. Dies kann möglicherweise zu einer akuten Nierenschädigung beitragen. Als Antagonist zu fHb existiert das Protein Haptoglobin (Hp), das fHb im Blutplasma bindet. Ziel der Arbeit war die Überprüfung der Assoziation erhöhter Konzentrationen von fHb bei Beginn der ECMO-Therapie mit dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung sowie die Evaluation, ob eine Assoziation zwischen einer hohen Hp-Konzentration und einem Schutz der Niere vor der Schädigung durch fHb besteht.

Methodik Die Daten der vorliegenden Arbeit wurden bei Patientinnen und Patienten mit einem ARDS und Therapie mit veno-venöser ECMO (VV ECMO) im Zeitraum vom 01.01.2007 bis 31.12.2018 erhoben. Überprüft wurde eine Assoziation der Konzentration von fHb und Hp bei Beginn der ECMO-Therapie mit dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). Zusätzlich erfolgte die Evaluation einer Hp-Konzentration, die mit hoher Sensitivität vor dem Vorliegen einer akuten Nierenschädigung schützt.

Ergebnisse Es wurden 273 Patientinnen und Patienten eingeschlossen, von denen 154 (56,4%) bei Beginn der ECMO-Therapie eine akute Nierenschädigung aufwiesen. Die fHb-Konzentration und die Prävalenz einer akuten Nierenschädigung stiegen proportional bis zu einem Plateau von 15 mg/dl an. Patientinnen und Patienten mit moderater (5-14 mg/dl) und hoher fHb-Konzentration (≥ 15 mg/dl) hatten im Vergleich zu Patientinnen und Patienten mit niedriger fHb-Konzentration (< 5 mg/dl) ein zweieinhalbfach bzw. fünffach erhöhtes Risiko für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung (korrigierte Odds Ratio [OR] moderat vs. niedrig 2,69 [95% KI 1,25-5,95] $p=0,012$ und OR hoch vs. niedrig 5,47 [95% KI 2,00-15,9] $p=0,001$). In den Gruppen mit moderater und hoher fHb-Konzentration war eine hohe Hp-Konzentration ($> 2,7$ g/l bei moderatem fHb, $> 2,4$ g/l bei hohem fHb) zu Beginn der ECMO-Therapie mit dem gleichen Risiko für das Vorliegen

einer akuten Nierenschädigung assoziiert wie in der Gruppe mit niedriger fHb-Konzentration.

Diskussion Eine erhöhte Konzentration von fHb bei Beginn der ECMO-Therapie ist bei Patientinnen und Patienten mit ARDS und Therapie mit VV ECMO ein unabhängiger Risikofaktor für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung. Bei Vorherrschen erhöhter fHb-Konzentrationen sind höhere Hp-Konzentrationen mit einer reduzierten Prävalenz einer akuten Nierenschädigung assoziiert. Daher könnte eine höhere Hp-Konzentration einen Ansatz zum Schutz der Niere bei Hämolyse darstellen.

Abstract

Background Patients with the severe acute respiratory distress syndrome (ARDS) might require the use of an extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). The ARDS itself and the therapy with ECMO can cause a hemolysis and lead to plasma free hemoglobin (fHb), which potentially harms the surrounding tissues. When hemolysis occurs, the kidney can be exposed to high concentrations of fHb which might be a factor for an acute kidney injury. Haptoglobin (Hp) functions as scavenger of fHb. The aim of this study was to investigate a possible association between an increased concentration of fHb at the beginning of therapy with ECMO and the presence of an acute kidney injury. Moreover, this study explored if a high plasma concentration of Hp is associated with renal protection from fHb-associated harmful effects.

Methods Data were collected from patients with ARDS who received therapy with venovenous ECMO (VV ECMO) between January 2007 and December 2018. An association between the concentration of fHb and Hp at the beginning of therapy with ECMO and the presence of an acute kidney injury stage 3 Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) was evaluated. Furthermore, it was assessed whether a certain plasma concentration of Hp was associated with protection from fHb-associated renal injury.

Results There were 273 patients with ARDS and treatment with VV ECMO. At the beginning of therapy with ECMO, 154 of these patients (56,4%) had an acute kidney injury. The concentration of fHb and the presence of an acute kidney injury increased linear until reaching a plateau at 15 mg/dl. Patients with a moderate (5-14 mg/dl) or high fHb-concentration (≥ 15 mg/dl) had either a 2.5-fold or 5-fold higher risk of an acute kidney injury when compared to patients with a low concentration of fHb (adjusted odds ratio [OR] moderate vs. low 2,69 [95% CI 1,25-5,95] $p=0,012$ and OR high vs. low 5,47 [95% CI 2,00-15,9] $p=0,001$). In the group of patients with a moderate and high concentration of fHb, patients with high concentrations of Hp ($>2,7$ g/l in patients with moderate fHb, $>2,4$ g/l in patients with high fHb) at the beginning of therapy with VV ECMO had a similar risk for acute kidney injury compared to patients with a low plasma concentration of fHb.

Discussion An increased concentration of fHb at the beginning of therapy with VV ECMO is associated with the presence of acute kidney injury in patients with ARDS who are treated with VV ECMO. Among patients with ARDS und high concentrations of fHb,

higher concentrations of Hp are associated with a lower prevalence of acute kidney injury. Therefore, higher concentrations of Hp could serve as a new approach to protect the kidney in patients with hemolysis.

1. Einleitung

1.1 Hämoglobin im menschlichen Blut

1.1.1 Aufgaben des Blutes

Sauerstoff ist für den menschlichen Körper für viele Stoffwechselprozesse zwingend erforderlich und ermöglicht, große Mengen Energie bereitzustellen. Daher nimmt der Mensch ca. 300ml Sauerstoff pro Minute über die Lunge auf. Dort wird der Sauerstoff an das Blut sowie Kohlenstoffdioxid (CO_2) vom Blut in die Ausatemluft abgegeben. Zusammen mit den beiden Atemgasen transportiert das Blut Nährstoffe sowie viele Stoffwechselprodukte und -produkte und erfüllt wichtige Aufgaben bei der Abwehr gegenüber Pathogenen und der Regulation des pH-Wertes des Körpers. Das Blut lässt sich in zelluläre Bestandteile wie Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten sowie das zum größten Teil aus Wasser bestehende Blutplasma aufteilen (2). Weitere Bestandteile des Blutplasmas sind insbesondere verschiedene Proteine sowie Elektrolyte.

Da Sauerstoff bei 37°C einen mit $0,211\text{ml}$ pro Liter Wasser und kPa sehr schlechten Löslichkeitskoeffizienten aufweist, kann nur wenig Sauerstoff in physikalisch gelöster Form im Blut transportiert werden. Daher wird Sauerstoff im Blut reversibel an das in den Erythrozyten lokalisierte Protein Hämoglobin gebunden (2, 3). Dadurch steigt die Sauerstofftransportkapazität des Blutes auf das Fünzigfache (4). Darüber hinaus transportieren die Erythrozyten über Bindungen an die Aminogruppen des Hämoglobins CO_2 vom Gewebe zur Lunge, wo dieses abgeatmet wird (2).

1.1.2 Aufbau von Hämoglobin

Hämoglobin wurde mit seinen chemischen und physiologischen Eigenschaften und insbesondere als Transporter der Atemgase erstmals von Felix Hoppe-Seyler beschrieben (5). Das menschliche Hämoglobin besitzt als Grundgerüst ein Globin-Tetramer, bestehend aus zwei Dimeren, die wiederum aus jeweils einer α - und einer β -Kette zusammengesetzt sind, wobei alle Ketten über intermolekulare Bindungen zusammengehalten werden (4, 6). Zusätzlich zum Tetramer besitzt Hämoglobin noch vier prosthetische Häm-Gruppen, wobei an jede Kette eine Häm-Gruppe gebunden ist (2, 4, 6). Diese Häm-Gruppe ist ein Chelatkomplex und setzt sich wiederum aus vier untereinander verbundenen Porphyrinringen und einem zentralen zweiwertigen Eisenatom, das über koordinative Bindungen im Porphyrinring fixiert ist, zusammen. Die Häm-Gruppe ist im Inneren des

Globin-Tetramers über nicht-kovalente Bindungen fixiert. Außerdem bildet sich zwischen dem zentralen Eisenatom und einem Histidinrest der Globinkette eine kovalente Bindung aus (4). Die freie sechste koordinative Bindung des zentralen Eisenatoms wird bei Bindung durch das Sauerstoffmolekül besetzt. Insgesamt kann ein Hämoglobinmolekül damit insgesamt vier Sauerstoffmoleküle binden.

1.1.3 Eigenschaften von Hämoglobin

Die Bindung eines Sauerstoffmoleküls (Oxygenierung) verändert die Konformation der Hämgruppe. Da das Eisenatom der Hämgruppe kovalent an das Globinmolekül gebunden ist, ändert sich auch die Konformation des Globinmoleküls. Diese Konformationsänderung verändert vor allem die Bindungen zwischen den Dimeren und ist essenziell für die speziellen Eigenschaften des Hämoglobins bezüglich des Sauerstofftransportes. Hämoglobin kann in einem sogenannten R-Zustand mit hoher Affinität für Sauerstoff oder in einem sogenannten T-Zustand mit geringer Affinität für Sauerstoff vorliegen. Durch die verschiedenen Konformationen besitzt Hämoglobin je nach Zustand eine unterschiedliche Sauerstoffaffinität und daher eine unterschiedliche Wahrscheinlichkeit, Sauerstoff zu binden. Ein vollständig desoxygeniertes Hämoglobinmolekül befindet sich im T-Zustand (4). Die Bindung von Sauerstoff an eine Globinkette führt dazu, dass die Affinität der anderen Globinketten für Sauerstoff steigt. Daher wird die Bindung von weiterem Sauerstoff durch ein Hämoglobinmolekül wahrscheinlicher, je mehr Globinketten dieses Moleküls bereits Sauerstoff gebunden haben (4). Durch diese Eigenschaft des Hämoglobins wird eine ausreichende Oxygenierung der peripheren Gewebe sichergestellt, da bei dem dort herrschendem niedrigen Sauerstoffpartialdruck das Hämoglobin nur eine niedrige Affinität zu Sauerstoff besitzt. Eine graphische Darstellung als Diagramm der Sauerstoffsättigung des Hämoglobins in Prozent gegen den Sauerstoffpartialdruck in mmHg ergibt daher keine lineare Bindungskurve, sondern eine sigmoidale Form mit einer geringen Steigung bei sehr niedrigem und sehr hohem Sauerstoffpartialdruck. Darüber hinaus ist die Wahrscheinlichkeit der Bindung bzw. Abgabe von Sauerstoff an Hämoglobin und damit eine Verschiebung der sigmoidalen Bindungskurve abhängig vom pH-Wert, der Temperatur und der Konzentration von 2,3-Bisphosphoglycerat (2, 7).

1.1.4 Hämoglobin als Bestandteil des Bluts

Hämoglobin ist physiologisch in den Erythrozyten im Blut enthalten und macht 97% der Trockenmasse des Erythrozyten aus (2, 8). Erythrozyten stellen mit 3,9 bis 5,8 Millionen

Zellen pro Mikroliter Blut den mit Abstand größten Anteil der Zellen im Blut dar. Erythrozyten entstehen durch Erythropoese im Knochenmark und verlieren während der Differenzierung ihren Zellkern. Daher sind reife Erythrozyten nicht länger zur Proteinbiosynthese fähig und können somit auch kein neues Hämoglobin mehr synthetisieren (2). Der Verlust des Zellkerns führt dazu, dass die Erythrozyten als kleine, bikonkave Scheiben mit einem durchschnittlichen Volumen von $94\mu\text{m}^3$ sehr flexibel sind und ein gutes Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis für einen effizienten Gasaustausch besitzen (2, 8). Die geringe Größe und hohe Flexibilität ist erforderlich, um auch in peripheren Geweben und in der Lunge durch kleinste Gewebskapillaren zu passen, ohne dass es zu einer Hämolyse oder Embolie kommt (2, 9). Die Erythropoese im Knochenmark dauert acht Tage und beginnt mit der Differenzierung von hämatopoetischen Stammzellen, allerdings lassen aktuelle Studien vermuten, dass die Hämatopoese *in vivo* deutlich komplexer abläuft als im klassischen, linearen Modell angenommen (6, 10). Als Retikulozyten, die noch Reste an messenger ribonucleic acid enthalten, werden Erythrozyten ins Blut freigesetzt. Die reifen Erythrozyten leben durchschnittlich ungefähr 120 Tage (9, 11, 12). Mit zunehmendem Alter der Erythrozyten sinkt ihre Flexibilität und sie können daher nur noch schlecht die engen Gewebskapillaren passieren. Dies führt zur Erkennung und zum Abbau alter Erythrozyten durch Makrophagen vor allem in der Milz, aber auch in Leber und Knochenmark.

1.1.5 Hämoglobin als reaktiver Komplex

Hämoglobin hat unter anderem aufgrund seines zentralen Eisenatoms ein hohes Potential für Oxidationsreaktionen. Eine zurzeit viel diskutierte Thematik ist die Interaktion von Hämoglobin und Stickstoffmonoxid (NO). NO vermittelt als Signalmolekül viele physiologische Aufgaben, führt durch Vasodilatation zu einer Regulation des Blutflusses u.a. im Gehirn, im Herz, in der Lunge, im Gastrointestinaltrakt und in der Niere und wirkt als Neurotransmitter (13). Als ungeladenes Molekül kann NO frei durch alle Membranen diffundieren und in den Zielzellen direkt mit spezifischen Zielstrukturen interagieren (13). Eine der am besten untersuchten Strukturen, auf die NO wirkt, ist Eisen, das wie beschrieben in Hämoglobin, aber auch in der Guanylatcyclase glatter Muskelzellen enthalten ist (13). Physiologisch wird NO aus Arginin durch die endotheliale Stickstoffmonoxid-synthase gebildet und wirkt nach Diffusion in die glatte Muskulatur der Gefäße über eine durch Aktivierung der Guanylatcyclase vermittelte Absenkung der intrazellulären Kalziumkonzentration vasodilatierend (2, 4). NO und Hämoglobin können in der sogenannten

Deoxygenierungsreaktion zu Methämoglobin (MetHb), also dreiwertigem Eisen in der Häm-Gruppe, und Nitrat reagieren (4). Diese Reaktion führt also zu einer Reduktion der NO-Konzentration, deren pathophysiologische Folgen im Folgenden genauer erläutert werden. Allerdings ist Hämoglobin, wie oben beschrieben, physiologisch innerhalb der Erythrozyten lokalisiert, dort durch Kompartimentierung geschützt und kommt daher kaum mit NO in Kontakt (14). Hämoglobin hat aufgrund seiner reaktiven Eigenschaften vielfältige Wechselwirkungen mit NO, die abhängig von der konkreten Bindung von NO und dem Oxygenierungszustand des Hämoglobinmoleküls sind (15, 16). Zusammengefasst spielen Erythrozyten und das enthaltene Hämoglobin eine wichtige Rolle bei der Kontrolle vasoaktiver Substanzen, die an der Regulierung der kardiovaskulären Funktion beteiligt sind (2).

1.2 Hämolyse

1.2.1 Definition und Formen einer Hämolyse

Bei einem verfrühten Abbau oder einer Zerstörung von Erythrozyten spricht man von einer Hämolyse, die je nach Ursache und Auftreten weiter unterschieden wird. Zum einen kann zwischen einer von außen auf den Erythrozyten wirkenden Ursache (extrakorpustulär) und einer Ursache, die vom Erythrozyten selbst ausgeht, z.B. Membrandefekte, Enzymdefekte oder abnorme Hämoglobinvarianten (korpustulär), für eine Hämolyse unterschieden werden. Zum anderen erfolgt die Einteilung einer Hämolyse nach dem Ort der Zerstörung der Erythrozyten in extra- und intravasale Hämolyse. Abhängig von Ort und Ätiologie einer Hämolyse erfolgt eine unterschiedliche Verstoffwechslung der anfallenden zerstörten Erythrozyten.

1.2.2 Freisetzung von Hämoglobin

Eine Form der intravasalen, extrakorpustulären Hämolyse ist eine mechanische Zerstörung der Erythrozyten z.B. bei der kontinuierlichen Durchleitung von Blut durch technische Geräte (extrakorpustuläre Kreisläufe) in der Intensivmedizin (14). Durch diese unkontrollierte Zerstörung der Erythrozytenmembran wird das in den Erythrozyten befindliche Hämoglobin in das Plasma freigesetzt. Dieses Hämoglobin wird daher als Plasma-Hämoglobin oder freies Hämoglobin (fHb) bezeichnet (3). Dabei hat Hämoglobin ohne die schützende Umhüllung durch die Erythrozytenmembran stärkere Wirkungen auf umliegende Strukturen als Hämoglobin innerhalb der Erythrozyten (14, 17). Das freigesetzte

Hämoglobin ist deutlich anfälliger für Redoxreaktionen und wird häufig zu MetHb oxidiert, welches wiederum sehr leicht die hochreaktive Häm-Gruppe freisetzen kann (18, 19). Da die Häm-Gruppe hydrophob ist, verbleibt sie nicht lange frei im Blutstrom, sondern bindet an umgebende Proteine oder Lipide (20). Das entstandene MetHb kann auch mit Wasserstoffperoxid zu einer Verbindung mit 4-wertigem Eisen unter Bildung eines Globinradikals weiter reagieren (21).

1.2.3 Wechselwirkungen von freiem Hämoglobin

In das Plasma freigesetztes Hämoglobin führt, im Gegensatz zum durch die Erythrozytenmembran geschützten Hämoglobin, zu einem Verbrauch von NO durch die Redoxreaktion von 2-wertigem Eisen im oxygeniertem Zustand mit NO zu 3-wertigem Eisen und Nitrat (22). Diese Reaktion erfolgt extrem schnell und irreversibel und kann daher schon bei geringer Konzentration von freiem Hämoglobin zu einem vollständigen endothelialen NO-Verbrauch führen (14). Eine zweite Reaktion, die zu einem NO-Verbrauch und einer anschließenden Hb-Oxydierung führt, ist die Eisennitrosylation von desoxygeniertem Hämoglobin durch direkte Bindung von NO an das desoxygenierte Eisen (2-wertiges Eisen ohne Ligand) (23). Zuerst beschrieben wurde der Einfluss von Hämoglobin auf den NO-Stoffwechsel von Reiter et al. bei Patientinnen und Patienten mit Sichelzellanämie, bei denen es durch ihre Erkrankung zu einer chronischen Hämolyse kommt. Es konnte nachgewiesen werden, dass fHb auch *in vivo* einen Verbrauch von NO verursacht, der möglicherweise zu bekannten Komplikationen der Sichelzellanämie, beispielsweise akuten pulmonalen und systemischen vaskulären Ereignissen, führt (24). Diskutiert wird auch, welche Rolle eine Hämolyse bei einer möglicherweise verminderten Neubildung von NO aus Arginin spielt (22). Rother et al. haben zusammengefasst, dass der Verbrauch von NO durch fHb zu Hypertonie, Kontraktionen des Gastrointestinaltrakts, erektiler Dysfunktion und Thrombusbildung führt (14). Darüber hinaus katalysiert fHb die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies durch eine Fenton-Reaktion, wobei unklar bleibt, ob dies *in vivo* zu einer Schädigung führt (25). Freies Häm führt außerdem zu einer verstärkten toxischen Wirkung reaktiver Sauerstoffspezies auf das Endothel (26). Des Weiteren ist freies Häm, ähnlich wie Lipopolysaccharide an einer anderen Bindungsstelle, ein Aktivator des Toll-like Receptor 4 und führt über dessen Aktivierung zu einer Freisetzung von Tumornekrose-Faktor α (27). Damit ist freies Häm an der Auslösung einer systemischen Inflammation beteiligt und wirkt über die Expression von Gewebefaktor auf dem Endothel prokoagulatorisch (28, 29). Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass im Mausmodell und in

Nierenbiopsien bei Patientinnen und Patienten mit Sichelzellanämie eine intravasale Hämolyse mit einer Komplementaktivierung assoziiert ist (20). Freies Häm führt darüber hinaus zu einer Oxidierung von low density Lipoprotein (LDL), wobei freies Eisen abgegeben wird (18, 30). Dieses freie Eisen katalysiert die Oxidation von weiterem Häm und einigen Bestandteilen von LDL (18). Das entstehende oxidierte LDL, dessen Fett- und Apoproteinanteil oxidiert werden, wirkt wiederum selbst toxisch auf das Endothel (30).

1.2.4 Klinische Auswirkungen von freiem Hämoglobin

fHb führt bei gesunden Probandinnen und Probanden zu gastrointestinalen, kardiovaskulären, pulmonalen, urogenitalen, hämatologischen und renalen Veränderungen und bei Patientinnen und Patienten zur Verstärkung bereits bestehender klinischer Symptome (14). So konnte bei Patientinnen und Patienten, die eine Herzoperation mit kardiopulmonalem Bypass erhielten, festgestellt werden, dass eine Hämolyse mit einer Schädigung der Darmschleimhaut und der Entwicklung einer akuten Nierenschädigung assoziiert ist (31). Der genaue Pathomechanismus, durch den fHb zu einer Nierenschädigung führt, ist zurzeit noch unklar, allerdings lässt sich aufgrund der vorliegenden Datenlage vermuten, dass mittels multipler Faktoren fHb sowohl direkt als auch indirekt zu einer akuten Nierenschädigung führen kann (32). Dies rührt insbesondere daher, dass die Niere für ungebundenes fHb den Haupteliminationsweg darstellt und somit besonders hohen Konzentrationen ausgesetzt ist (32). In den Nierentubuli von Ratten zeigten fHb und freies Eisen *in vitro* zytotoxische Effekte, gemessen anhand erhöhter Enzymfreisetzung und Lipidperoxidation, und führten zu einer verminderten Zellfunktion (33). Auch beim Menschen ist eine erhöhte Plasmakonzentration von fHb bei Patientinnen und Patienten mit Sepsis mit einer erhöhten Letalität assoziiert (34, 35). Daher rückt eine frühzeitige Erkennung einer Hämolyse in der Intensivmedizin in den letzten Jahren verstärkt in den Fokus. Therapeutisch gibt es erste Hinweise darauf, dass die Gabe von NO bei Patientinnen und Patienten, die sich einer komplizierten Herzklappenoperation mit verlängertem kardiopulmonalem Bypass unterziehen, die Inzidenz und die Schwere einer akuten Nierenschädigung signifikant reduzieren kann (36). Klinisch lässt sich daher vermuten, dass die toxischen, proinflammatorischen und NO-verbrauchenden Effekte einer Hämolyse zu einer erhöhten Mortalität und Morbidität der Patientinnen und Patienten beitragen können.

1.2.5 Kontrolle der Plasmaspiegel von freiem Hämoglobin

Aufgrund der beschriebenen schädigenden Effekte von fHb im Plasma, haben sich im Laufe der Evolution mehrere Systeme entwickelt, die, zumindest unter normalen physiologischen Bedingungen oder bei leichter Hämolyse, die Konzentration von freiem Hämoglobin und freiem Häm im Plasma kontrollieren können. Das Ziel ist es, fHb aus dem Blutplasma zu entfernen. Dabei kommen als wichtigste Faktoren Haptoglobin (Hp) als Gegenspieler von fHb und Hämopexin als Gegenspieler von freiem Häm zum Tragen (23). Diese beiden Proteine ergänzen sich durch ihre unterschiedlichen Eigenschaften in der Verminderung der toxischen Wirkungen einer Hämolyse. Da Hp im Verlauf der Stoffwechsellung und dem Zerfall von freiem Hämoglobin früher eingreift, wird es oft als erste Barriere gegen Hämoglobin-vermittelte Toxizität angesehen (37).

1.2.6 Haptoglobin

Hp wird zum größten Teil in der Leber gebildet und ist ein Akut-Phase-Protein, weshalb die Plasmakonzentration während schwerer Inflammationen ansteigt (37, 38). Bereits von Smithies 1955 in Grundzügen beschrieben, gibt es beim Menschen drei verschiedene Phänotypen (Hp1-1, Hp2-1 und Hp 2-2), basierend auf zwei verschiedenen Alleltypen (Hp1 und Hp2) (39-41). Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass Mäuse mit einem Hp2-2-Phänotyp beim Auslösen einer künstlichen Sepsis eine erhöhte Inflammation in der Lunge, eine verstärkte Schädigung der Lungengefäße sowie eine erhöhte Mortalität im Vergleich zu Mäusen mit einem Hp1-1-Phänotyp haben (42). Weiterhin wird vermutet, dass fHb eine relevante Rolle bei der Pathogenese eines akuten Lungenversagens (engl. acute respiratory distress syndrome [ARDS]) spielen könnte. Es gibt Hinweise darauf, dass ähnlich wie bei einer Sepsis im Mausmodell, auch beim Menschen die verschiedenen Hp-Varianten einen Einfluss auf das Risiko für die Entwicklung eines ARDS haben, wenn eine erhöhte Plasmakonzentration von fHb besteht (42).

1.2.7 Wechselwirkung zwischen freiem Hämoglobin und Haptoglobin

Der positive Effekt von Hp auf die Toxizität von freiem Hämoglobin im Plasma kommt nach aktuellem Erkenntnisstand durch mehrere Phänomene zustande. Zum einen kann das alleine relativ kleine Molekül Hämoglobin (32 kDa) im Komplex mit Hp (>150 kDa) nicht mehr den intravaskulären Raum verlassen, wird daher nicht mehr in der Niere gefiltert und erreicht nicht die für Redoxreaktionen anfälligsten Bereiche, z.B. die endotheliale Barriere (23). Es verhindert dadurch die oben genannten Reaktionen von Hb mit

umliegenden Strukturen und Verbindungen, insbesondere NO (23). Zum anderen reduziert die Komplexbildung von Hp mit Hämoglobin zwar nicht die Bildung von Radikalen, aber es stabilisiert Hämoglobin mit 4-wertigem Eisen und Globinradikal, wodurch die Reaktivität und Schädigung durch fHb reduziert wird (43, 44). Außerdem bindet Hp Hämoglobin räumlich nah an dessen Häm-Gruppe, weshalb Andersen et al. spekulierten, dass dadurch die Freisetzung von Häm blockiert wird und damit dessen schädigende Effekte ausbleiben (45). Abschließend wird diskutiert, dass die enge Bindung von Hp und Hämoglobin weitere für Radikale anfällige Aminosäuren der Globinketten schützt (46). Zusammengefasst sorgt Hp dafür, dass fHb im Plasma verbleibt, aber dessen Reaktionsfreudigkeit gesenkt wird. Dadurch werden höchst effektiv die toxischen Effekte vermindert. Erste Hinweise aus präklinischen Studien lassen vermuten, dass Hp dazu beitragen kann, Hypertonie und eine Nierenschädigung zu vermindern (23). Darüber hinaus konnte an Schafen gezeigt werden, dass die intrathekale Gabe von Hp Vasospasmen cerebraler Arterien, die durch die vorherige intrathekale Gabe von fHb ausgelöst wurden, verhindert werden können (47).

Der bei Bindung von Hämoglobin an Hp entstandene Komplex aus Hp und freiem Hämoglobin (Hp-Hb-Komplex) bindet anschließend an den CD163-Rezeptor, der ausschließlich auf der Oberfläche von Makrophagen und Monozyten exprimiert wird (48). Der Bindung folgt eine Endozytose des CD163-Hp-Hb-Komplexes, was wiederum zu einer Erhöhung der Expression von Heme-Oxygenase 1 führt (49). Die Heme-Oxygenase 1 ist eine Isoform der Heme-Oxygenase, die Häm zu Kohlenstoffmonoxid, Biliverdin und 2-wertigem Eisen abbaut (50, 51). Das immer noch reaktionsfreudige und daher potenziell toxische 2-wertige Eisen induziert indirekt die Expression von Ferritin, wird mit Hilfe von Ferroportin aus der Zelle geschleust und steht damit dem Körper an Transferrin gebunden zur Wiederverwertung zur Verfügung (51, 52). Hp ist also zentraler Baustein eines Abbauwegs für fHb.

1.2.8 Glomeruläre Filtration von freiem Hämoglobin

Wie oben bereits erläutert, kann fHb aufgrund seiner geringen Größe frei filtriert werden und zu einer Nierenschädigung führen. Die Applikation von fHb führte in Kulturen humaner Zellen des proximalen Tubulus und in Nieren von Mäusen mit Sichelzellerkrankheit zu einer erhöhten Expression der Heme-Oxygenase 1, während die Gabe von Hp die Expression von Heme-Oxygenase 1 nivellierte (53). Mäuse, deren Expression von Hp genetisch abgeschaltet worden war, zeigten eine Ablagerung von injiziertem, radioaktiv-

markiertem fHb in den Nieren, während sich das fHb bei Wildtyp-Mäusen in Leber und Milz ablagerte (54). Es zeigte sich, dass Hp entscheidend daran beteiligt ist, die glomeruläre Filtration von Hämoglobin und damit langfristig die tubuläre Ablagerung von freiem Eisen zu unterbinden (54). Daher ist offenbar der einfachste Weg eine Akkumulation von fHb in der Niere und damit die schädigenden Effekte auf die Nierentubuli zu vermeiden, eine Bindung von fHb an Hp (23). Eine solche Komplexierung durch Hp trägt dazu bei, fHb im Blutplasma und damit in einem Kompartiment mit verhältnismäßig hoher Widerstandsfähigkeit gegen oxidative Prozesse zu halten (23).

1.2.9 Haptoglobin als Hämolyseparameter

Da Hp während des Abbaus von freiem Hämoglobin nicht wiederverwendet wird, sinkt die Plasmakonzentration von Hp bei Hämolyse ab, wenn die Schwere der Hämolyse die Kapazität der Neubildung von Hp übersteigt (49). Dies kann bei Patientinnen und Patienten mit schwerer Hämolyse dazu führen, dass Hp im Plasma nicht mehr nachweisbar ist (37). Wenn die Reserve an Hp im Plasma verbraucht ist, tritt nicht-proteingebundenes Hämoglobin im Blut als nun im Plasma messbares fHb auf. Aus den genannten Gründen stellt Hp einen der empfindlichsten Indikatoren für eine intravasale Hämolyse dar.

1.3 Acute Respiratory Distress Syndrome

1.3.1 Definition des ARDS

Das ARDS ist eine Art der akuten und diffusen inflammatorischen Lungenschädigung, die durch eine erhöhte Lungengefäßpermeabilität, ein erhöhtes Lungengewicht und einen Verlust an belüftetem Lungengewebe zu den klinischen Auswirkungen eines gestörten pulmonalen Gasaustauschs führt (55). Erstmals beschrieben wurde das ARDS 1967 von Ashbaugh et al. anhand klinischer Parameter wie Tachypnoe und Hypoxie, die auch heute noch, wenn auch modifiziert, als Diagnosekriterien für das ARDS dienen (56). Im Laufe der Zeit wurden verschiedene Definitionen entwickelt, die aus unterschiedlichen Gründen abgelöst wurden. Eine wichtige Entwicklung bei der klinischen Beschreibung und gleichzeitig für die gezielte Forschung zum ARDS stellt die Definition der Amerikanisch-europäischen Konsensuskonferenz (AECC, engl. American-European Consensus Conference) von 1994 dar. Diese Definition ermöglichte sowohl im klinischen Kontext als

auch in der Forschung einheitliche und fest definierte Kriterien anzuwenden und war damit Grundlage für ein umfassenderes Verständnis des ARDS und dessen Behandlung. Um die Reliabilität und Validität zu erhalten, wurde diese Definition überarbeitet und 2011 von der aktuellen Berlin Definition abgelöst (55). Auch die Berlin Definition orientiert sich zur Definition des ARDS weiterhin an klinischen Parametern, die zur Diagnosesicherung herangezogen werden. Dabei handelt es sich um insgesamt vier Kriterien, die unabhängig voneinander erfüllt sein müssen (Tabelle 1).

Tabelle 1 Kriterien, die nach der Berlin Definition zur Diagnose eines akuten Lungenversagens erfüllt sein müssen
Quelle: modifiziert nach (55)

Kriterium	Erklärung
Zeit	Symptombeginn/-verschlechterung innerhalb einer Woche
Bildgebung (Röntgen-Thorax oder CT)	Bilaterale Verschattungen (ohne vollständige Erklärung durch Erguss, Kollaps oder Knoten)
Ursache des Lungenödems	Lungenversagen nicht ausschließlich durch kardiales Versagen oder Volumenüberladung erklärbar
Oxygenierung	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300$ mmHg und $\text{PEEP} \geq 5$ cmH ₂ O bzw. bei mildem ARDS $\text{CPAP} \geq 5$ cmH ₂ O

PEEP: positiver endexpiratorischer Beatmungsdruck, ARDS: akutes Lungenversagen, CPAP: kontinuierlicher positiver Atemwegsdruck

Im Zuge der Aktualisierung der ARDS-Definition durch die Berlin Definition wurde der Abschnitt zur Ursache des Lungenödems verändert, wobei die Entstehung des Lungenödems nicht ausschließlich durch eine kardiale Genese oder eine Hypervolämie erklärt werden kann. Zum einen wurde damit der verminderten Verbreitung von invasiven Maßnahmen, insbesondere des pulmonalarteriellen Katheters, und der damit einhergehenden erschwerten Differenzierung der Ursache eines Lungenödems Rechnung getragen. Zum anderen hatte sich klinisch gezeigt, dass oft eine Koexistenz einer kardialen und respiratorischen Genese des Lungenversagens besteht (55).

1.3.2 ARDS in der klinischen Praxis

Ähnlich wie schon die Definition des ARDS durch die AECC teilt die aktuelle Berlin Definition das ARDS in drei Schweregrade anhand der Oxygenierung ein: mild, moderat und schwer. Dabei kommt der Horowitz-Quotient ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) zum Einsatz, ein in der Intensivmedizin weitverbreiteter und relativ leicht zu erhebender Parameter. Für das Stadium

mild muss ein Horovitz-Quotient von >200 mmHg und ≤ 300 mmHg, für das Stadium moderat von >100 mmHg und ≤ 200 mmHg und für das Stadium schwer von ≤ 100 mmHg vorliegen (55). Wie in Tabelle 1 ersichtlich, muss zusätzlich für alle Stadien und demnach auch für die Diagnose eines ARDS nach Berlin Definition mindestens ein PEEP (positiver endexpiratorischer Beatmungsdruck) ≥ 5 cmH₂O bzw. beim milden ARDS alternativ ein CPAP ≥ 5 cmH₂O, vorliegen. Insgesamt müssen unabhängig vom Stadium alle vier Kriterien der Berlin Definition zur Diagnose eines ARDS erfüllt sein. Dabei unterscheidet sich die Krankenhausmortalität zwischen den Stadien mit 34,9% bei mildem ARDS, 40,3% bei moderatem ARDS und 46,1% bei schwerem ARDS deutlich (57). Das ARDS ist allerdings kein seltenes Phänomen im klinischen Alltag, sondern wird im Gegenteil eher unterdiagnostiziert und oft auch untertherapiert (57, 58). Die Prävalenz des ARDS in der Gesamtbevölkerung variiert in großem Ausmaß zwischen den einzelnen Regionen weltweit (59). Beispielsweise liegt die Inzidenz in Spanien mit 7,2/100.000 Einwohner/Jahr bei Erwachsenen deutlich niedriger als in den USA mit 33,8/100.000 Einwohner/Jahr (60, 61). In der internationalen multizentrischen LUNG SAFE-Studie wurde bei Patientinnen und Patienten auf der Intensivstation für das ARDS eine Inzidenz von 10,4% und bei Patientinnen und Patienten, die eine mechanische Beatmung benötigten, eine Inzidenz von 23,4% ermittelt (57). Dabei betrug die Erkennungsrate des ARDS aller Schweregrade im Durchschnitt nur 60,2% (57). Es scheint trotz verbesserter Diagnosekriterien weiterhin eine große Herausforderung zu bleiben, ein ARDS klinisch frühzeitig zu erkennen.

1.3.3 Pathophysiologie des ARDS

Die Berlin Definition fasst das ARDS pathophysiologisch weiterhin als eine Art des akuten inflammatorischen Lungenschadens auf (55). Von Katzenstein et al. wurde dem ARDS erstmalig das histologische Korrelat eines diffusen alveolären Schadens (engl. diffuse alveolar damage, [DAD]) zugeordnet (62). Klassischerweise wird das ARDS in drei, histologisch und pathophysiologisch voneinander unterscheidbare Phasen eingeteilt: Erstens die exsudative Phase (diese entspricht dem DAD), zweitens die proliferative Phase und drittens die fibrotische Phase (58, 63, 64). Die exsudative Phase wird durch den initialen Lungenschaden ausgelöst und führt zu einer Einwanderung und Aktivierung von Immunzellen und dem Übertritt proteinreicher Flüssigkeit in das Interstitium und den Alveolarraum (58, 62, 63). Zentrales Problem der exsudativen Phase ist die immunologisch vermittelte Schrankenstörung sowohl des alveolären Epithels als auch des Endothels (58). Durch die Ausfüllung des intraalveolären Raums mit Flüssigkeit kommt es zusätzlich

zu einer Surfactant-Inaktivierung, die ebenfalls zum insgesamt gestörten Gasaustausch und zu einer Verminderung der Compliance der Lunge beiträgt (64). Durch den Flüssigkeitsübertritt in den intraalveolären Raum entsteht daher ein Lungenödem, das sich als bilaterales Infiltrat in der Bildgebung darstellt (64). Der Reparaturvorgang beginnt bereits in der zweiten, proliferativen Phase, deren zentrales Merkmal die Ausbildung hyaliner Membranen entlang der alveolären Septen durch Typ-II-Pneumozyten und Fibroblasten ist (62, 63). Die hyalinen Membranen werden zusätzlich von Immunzellen infiltriert und flankiert, sowohl auf der septalen als auch auf der luminalen Seite (62). Im Vordergrund steht die Wiederherstellung der Epithelfunktionen, um ein weiteres Fortschreiten der Exsudation zu verhindern und den Abbau des Lungenödems zu beginnen (58). Zunächst wird eine instabile und provisorische Matrix ausgebildet (58). Durch die Fibrozyten besteht ein direkter Übergang (Marschall et al. postulieren auch eine Verschmelzung beider Phasen) in die dritte, fibrotische Phase (62, 63). Dabei kommt es zu einer schichtenübergreifenden und umfangreichen Fibrose, die das Interstitium und den intraalveolären Raum betrifft (58). Die Compliance der Lunge sinkt dadurch weiter ab und auch die Hypoxie kann weiter zunehmen (65). Zwar bildet sich nicht bei allen Patientinnen und Patienten mit ARDS eine Fibrose aus, allerdings führt deren Auftreten zu einer verlängerten Beatmung und erhöhten Mortalität (58, 64). Selbst bei überlebenden Patientinnen und Patienten bilden sich zwar die radiologischen Auffälligkeiten vollständig zurück, aber es bleibt mikroskopisch eine Fibrose bestehen (64).

Als histologisches Korrelat zum klinischen ARDS ist der DAD auch heute noch wissenschaftlich akzeptiert, allerdings ist aufgrund einer bei Autopsien geringeren Sensitivität und Spezifität im Vergleich zu den klinischen Definitionen (AECC und Berlin Definition) eine Übertragbarkeit und die Anwendbarkeit in der klinischen Praxis nicht gesichert (58, 66, 67).

1.3.4 Ursachen eines ARDS

In der Berlin Definition wurden Risikofaktoren für das ARDS festgelegt, welche Teil der Definition geworden sind (55). Dabei wird ätiologisch zwischen direkten und indirekten Risikofaktoren unterschieden. Direkte Risikofaktoren wie z.B. Pneumonie, Aspiration von Mageninhalt oder Inhalationstraumata betreffen unmittelbar die Lunge und schädigen diese (55). Indirekte Risikofaktoren wie z.B. eine Sepsis, schwere Traumata oder Pan-

keatitis sind nicht pulmonalen Ursprungs (55). Dabei unterscheiden sich die beiden großen Gruppen der direkten und indirekten Risikofaktoren nicht signifikant in ihrem histologischen Korrelat des DAD (67).

1.3.5 Therapie des ARDS

Therapeutisch ist die frühzeitige Behandlung der jeweiligen individuellen Ursache erst-rangig. Bei einer notwendigen invasiven Beatmung wurde durch eine Studie des „Acute Respiratory Distress Syndrome Network“ im Jahr 2000 ein Paradigmenwechsel eingeleitet (68). Eine lungenprotektive Beatmung mit nur 6ml Tidalvolumen je Kilogramm Idealgewicht führt zu einer signifikant geringeren Mortalität und einer verkürzten Beatmungszeit als eine Beatmung mit 12ml Tidalvolumen je Kilogramm Idealgewicht (68). Als Rescue-Therapiemaßnahmen stehen neben einer Bauchlagerung der Patientinnen und Patienten auch invasivere Therapieverfahren mit derzeit fraglicher Evidenz wie die Extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO) oder inhalatives NO, zur Verfügung (58, 69). Klinisch bleibt die Therapie des ARDS eine hochkomplexe Herausforderung, die modernste Behandlungsmethoden erfordert und Intensivstationen mit einer medianen Intensivverweildauer von 14 Tagen bei überlebenden Patientinnen und Patienten mit schwerem ARDS vor große Herausforderungen stellen kann (57).

1.3.6 ARDS und Hämolyse

Eine Hämolyse kann bei schweren Erkrankungen, beispielsweise einer Sepsis, aus verschiedenen Gründen auftreten (70). Gleichzeitig scheint eine erhöhte Plasmakonzentration von freiem Hämoglobin bereits am ersten Tag der Diagnose bei Patientinnen und Patienten mit schwerer Sepsis ein unabhängiger Risikofaktor für eine erhöhte Mortalität zu sein (34, 35). Auch das ARDS als eine Form der schweren Inflammation kann mit einer Hämolyse assoziiert sein (71). Für Hp, das für das Auftreten einer intravasalen Hämolyse sehr sensitiv ist, konnte eine von Einflussfaktoren unabhängige Assoziation zwischen einer erhöhten Plasmakonzentration von Hp und einer niedrigeren Mortalität bei Sepsis nachgewiesen werden (72).

1.4 Extrakorporale Membranoxygenierung

1.4.1 Aufbau und Arten der ECMO

Die ECMO kommt bei Patientinnen und Patienten mit sehr unterschiedlichen Erkrankungen zum Einsatz. Daher unterscheidet man verschiedene Versionen der ECMO, wobei alle Versionen als zentralen Baustein einen Oxygenator besitzen. Das häufigste für die Behandlung des ARDS verwendete Verfahren ist die veno-venöse ECMO (VV ECMO) (73). Dabei wird über eine großlumige Kanüle dem zentralvenösen System sauerstoffarmes und kohlenstoffdioxidreiches Blut entnommen und anschließend über eine Pumpe dem Oxygenator zugeführt. In diesem findet mittels Diffusion über eine Membran der Austausch von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid zwischen dem Blut und dem zugeführten Gasgemisch statt. Anschließend wird das nun oxygenierte und decarboxylierte Blut in das zentralvenöse System zurückgeführt. Andere Arten der ECMO-Therapie sind die veno-arterielle ECMO (VA ECMO), die zusätzlich das Herz entlasten kann und bei der die Rückgabe des Blutes über eine Kanüle im arteriellen Gefäßsystem erfolgt. Eine weitere Art der ECMO-Therapie ist die pumpenlose arterio-venöse ECMO, bei der der Blutfluss durch den Oxygenator mittels des Druckunterschieds zwischen dem arteriellen und venösen System der Patientin oder des Patienten erzeugt wird. Allerdings kann durch die fehlende Pumpenfunktion und den daher nur begrenzten Blutfluss durch den Oxygenator auch nur ein begrenzter Gasaustausch erfolgen. Als Kombination einer VV ECMO und einer VA ECMO existiert die veno-veno-arterielle ECMO (VVA ECMO), bei der durch eine Aufteilung des Rückgabeschlauchs sowohl eine venöse als auch eine arterielle Rückgabe des Blutes erfolgt. Mit diesem System können sowohl Lunge als auch Herz gleichzeitig und differenziert unterstützt bzw. ersetzt werden.

1.4.2 Einsatz der ECMO bei der Therapie des ARDS

Die ECMO kann bei Patientinnen und Patienten mit schwerem ARDS und nicht ausreichender symptomatischer Behandlung eine der letzten Möglichkeiten zur Sicherung der Oxygenierung und Decarboxylierung darstellen. Bereits seit den frühen 1970er Jahren wird die ECMO bei verschiedenen Arten des Lungenversagens eingesetzt, um die Lungenfunktion zu ersetzen und Zeit bis zu ihrer Regeneration zu gewinnen (74, 75). Bei der Therapie des ARDS hat die ECMO einen doppelten Stellenwert. Patientinnen und Patienten mit schwerem ARDS können durch den Einsatz einer ECMO lungenprotektiv mit niedrigeren Beatmungsdrücken und geringerem Tidalvolumen je Kilogramm Idealgewicht

beatmet werden, wodurch beatmungsassoziierte Lungenschäden vermieden werden können. Wie bereits dargestellt, führt eine lungenprotektive Beatmung zu einer signifikanten Reduktion der Mortalität (68). Außerdem kann bei Patientinnen und Patienten mit nicht ausreichender Oxygenierung und Decarboxylierung auch unter Erschöpfung der invasiven Beatmung durch den möglichen vollständigen Ersatz der ausgefallenen Lungenfunktion das Überleben bis zu einer möglichen Erholung der Lungenfunktion gesichert werden (76). Klassischerweise wird eine ECMO-Therapie erst in schweren Stadien eines ARDS eingeleitet. Bei Patientinnen und Patienten, die eine Therapie mit ECMO erhielten, konnte in der CESAR-Studie ein signifikanter Vorteil bezüglich Überleben oder schwerer Behinderung gegenüber Patientinnen und Patienten, die eine konventionelle Therapie erhielten, gezeigt werden (77). Insbesondere zeigte sich, dass die Behandlung eines ARDS zur optimalen Therapie in einem ARDS-Zentrum erfolgen sollte (77). Allerdings ist die CESAR-Studie aufgrund des Fehlens eines Studienprotokolls für die konventionelle Behandlung eines ARDS ohne den Einsatz einer ECMO und der nur geringen Rate an Patientinnen und Patienten in der ECMO-Studiengruppe, die tatsächlich eine ECMO-Therapie erhielten, umstritten (77, 78). Die neuere EOLIA-Studie konnte diese Schwächen großteils ausgleichen, musste allerdings nach 67 Monaten aufgrund fehlender Aussicht auf Nachweis eines Vorteils der Intervention abgebrochen werden (75). Sie konnte eine Reduktion der Mortalität in der ECMO-Therapie-Gruppe gegenüber einer konventionellen Beatmung um 11% zeigen, allerdings war diese Reduktion nicht signifikant ($p=0,07$) (78). Auch die EOLIA-Studie wies methodische Probleme auf, wie eine späte Randomisierung der Patientinnen und Patienten in die Studiengruppen und damit ein Beginn der ECMO-Therapie erst bei sehr schwerem ARDS. Außerdem erhielten 28% der Patientinnen und Patienten aus der Kontrollgruppe aufgrund einer schweren Hypoxämie während der konventionellen Therapie dennoch eine Therapie mit ECMO und verließen damit die Kontrollgruppe (75, 78). Es bedarf daher weiterer Forschung zum Einsatz einer ECMO als Rescue-Therapiemaßnahme bei schwerem ARDS (75, 78).

1.4.3 Ursachen für eine Hämolyse bei der Durchführung einer ECMO-Therapie

Der extrakorporale Kreislauf bei einer ECMO-Therapie kann an verschiedenen Stellen zu einer Hämolyse führen. Die bei den meisten Systemen enthaltene Pumpe kann bei hohen Rotationsgeschwindigkeiten hohe negative Drücke aufbauen und somit über Kavitation zu einer Hämolyse führen (79). Weitere Gründe für hohe negative Drücke sind ein geringes Blutvolumen, die Lagerung der Patientin oder des Patienten, die Kanülengröße und

-position (79). Zusätzlich kann auch der Kontakt des Blutes mit künstlichen Oberflächen zu einer Hämolyse beitragen, wobei die Oberflächen heutzutage zum Teil mit Materialien beschichtet sind, die nicht zu einer Hämolyse führen (3). Die Auswahl einiger ECMO-Komponenten, z.B. der Kanülengröße und die Geräteeinstellungen, können daher einen Einfluss auf Hämolyseparameter haben, auch wenn dieser Effekt bei modernen Gerätekonfigurationen eher gering zu sein scheint (80, 81). Weitere Ursachen für eine Hämolyse bei ECMO-Therapie sind eine Thrombosierung der Pumpenkammer bei Zentrifugalpumpen, schneller Blutfluss durch eine Kanüle mit geringem Querschnitt und damit hohem Widerstand oder einer Verlegung des Kanülenlumens beispielsweise durch Thrombosierung (82).

1.4.4 Auswirkungen einer Hämolyse während einer ECMO-Therapie

Das Auftreten einer Hämolyse während einer ECMO-Therapie kann zu einer klinischen Verschlechterung und einer erhöhten Mortalität der Patientin oder des Patienten führen. Lehle et al. wiesen nach, dass bei Patientinnen und Patienten, die eine VV ECMO-Therapie erhielten, die maximale Konzentration von fHb bei verstorbenen Patientinnen und Patienten signifikant höher war als bei überlebenden Patientinnen und Patienten (80). Omar et al. konnten bei Patientinnen und Patienten, die eine Therapie mit VV ECMO oder VA ECMO erhielten, nachweisen, dass eine Hämolyse ein unabhängiger Risikofaktor für eine erhöhte Mortalität ist (83). Kutlesa et al. zeigten auch bei Patientinnen und Patienten, die ausschließlich eine VV ECMO erhielten, dass eine Hämolyse während der ECMO-Therapie mit einer erhöhten Mortalität assoziiert ist (84). Auch ist eine Assoziation erhöhter Plasmaspiegel von fHb während einer VA ECMO-Therapie mit dem Auftreten einer akuten Nierenschädigung bekannt (85). Bei vielen, einer ECMO-Therapie vergleichbaren Anwendungen von Systemen zur extrakorporalen Kreislaufunterstützung, ist das Auftreten einer Hämolyse ein Risikofaktor für eine akute Nierenschädigung. Eine Hämolyse bei Patientinnen und Patienten mit ARDS und Therapie mit ECMO ist kein seltenes Ereignis, sondern kommt abhängig vom Studiendesign bei bis zu 41% der Patientinnen und Patienten vor (81). In der international beachteten EOLIA-Studie entwickelten 5% der Patientinnen und Patienten der ECMO-Therapiegruppe eine intravasale Hämolyse (78). Daher könnte eine frühzeitige Erkennung einer Hämolyse bei Patientinnen und Patienten unter einer ECMO-Therapie möglicherweise schwere Komplikationen verhindern. Nach aktuellen Leitlinien wird bei einer ECMO-Therapie empfohlen, bei einer Erhöhung von

fHb auf über 50 mg/dl nach einer Ursache für die Erhöhung der fHb-Plasmakonzentration zu suchen (82).

1.5 Akute Nierenschädigung

1.5.1 Definition der akuten Nierenschädigung

Die Definition einer akuten Nierenschädigung basiert aktuell entsprechend der Definition nach Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) auf zwei Kriterien, dem Serumkreatinin und der Urinausscheidung (86). Für die Diagnose einer akuten Nierenschädigung nach KDIGO reicht die Feststellung eines der beiden Kriterien, wodurch sich die Diagnose einer akuten Nierenschädigung gegenüber den beiden parallel bestehenden Definitionen RIFLE und AKIN deutlich vereinfacht hat. Die Stadien der akuten Nierenschädigung sind in Tabelle 2 dargestellt. Bei unterschiedlichen Stadien der beiden Kriterien erfolgt die Einteilung der Patientin oder des Patienten in das höhere Stadium (86).

Tabelle 2 Stadien der akuten Nierenschädigung und deren Diagnosekriterien bei Erwachsenen nach KDIGO
Quelle: modifiziert nach (86)

Stadium	Serumkreatinin	Urinausscheidung
1	1,5-1,9fache Erhöhung innerhalb von 7 Tagen <i>oder</i> Anstieg des Serumkreatinins um $\geq 0,3$ mg/dl innerhalb von 48h	<0,5 ml/kg/h für 6-12h
2	2,0-2,9fache Erhöhung	<0,5 ml/kg/h für ≥ 12 h
3	3,0fache Erhöhung <i>oder</i> Anstieg des Serumkreatinins auf $\geq 4,0$ mg/dl <i>oder</i> Beginn eines Nierenersatzverfahrens	<0,3 ml/kg/h für ≥ 24 h <i>oder</i> Anurie für ≥ 12 h

KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes

1.5.2 Akute Nierenschädigung in der klinischen Praxis

Die akute Nierenschädigung ist häufig und betrifft im Krankenhaus ca. 10-15% aller Patientinnen und Patienten, auf Intensivstationen wurden Inzidenzen von mehr als 50% der Patientinnen und Patienten beschrieben (87). Gleichzeitig ist das Vorliegen einer akuten Nierenschädigung ein unabhängiger Risikofaktor für eine mehr als dreifach erhöhte Krankenhausmortalität (88). Dabei sind die Ursachen für eine akute Nierenschädigung sehr variabel und können kombiniert auftreten (86). Wichtiger Risikofaktor für die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung ist eine bereits vorliegende chronische Nierenerkrankung, wobei die Wahrscheinlichkeit proportional mit dem Stadium der chronischen Nierenerkrankung steigt (89). Gerade bei schwerkranken Patientinnen und Patienten ist das

Auftreten einer Sepsis mit nahezu 50% häufig Ursache einer akuten Nierenschädigung (90). Bei der Behandlung einer akuten Nierenschädigung ist die Ursachenfindung und -behebung vorrangig, sowie eine grundsätzliche Schonung der Niere durch Sicherstellung einer ausreichenden Perfusion und Vermeidung bzw. Dosisanpassung nephrotoxischer Substanzen und Medikamente (86). Bei Auftreten schwerer klinischer oder laborchemischer Veränderungen, wie einer Azidose, Hyper-/Hypokaliämie, Intoxikation, Hypervolämie oder Urämie, muss der Einsatz eines Nierenersatzverfahrens erwogen werden. Mögliche Verfahren, die auf einer Intensivstation eingesetzt werden können, sind die kontinuierliche Hämofiltration und die intermittierende Hämodialyse. Bei der Hämofiltration wird mittels eines Druckgradienten eine Strömung über eine Filtermembran erzeugt, die harnpflichtige Substanzen mitnimmt. Bei der Hämodialyse bewirkt ein Konzentrationsgradient an einer semipermeablen Membran die Diffusion harnpflichtiger Substanzen in eine Dialyseflüssigkeit, die kontinuierlich ausgetauscht wird. Zurzeit lässt sich keine klare Überlegenheit eines der beiden Verfahren bei kritisch kranken Patientinnen und Patienten erkennen (91).

1.5.3 Akute Nierenschädigung und Hämolyse

Erstmals beschrieben wurde das Auftreten einer akuten Nierenschädigung durch eine Hämolyse bereits 1925 infolge von Komplikationen einer Bluttransfusion (92). Bei Auftreten einer intravasalen Hämolyse kann es zu einer Schädigung der Nieren kommen, da diese bei massiver oder chronischer Hämolyse hohen Konzentrationen von fHb und freiem Eisen ausgesetzt und daher sehr anfällig für die schädigenden Auswirkungen einer Hämolyse sind (32). Dabei kann die bei hämolytischen Erkrankungen auftretende akute Nierenschädigung zu der hohen Morbidität und Mortalität hämolytischer Erkrankungen beitragen (32). Bei Patientinnen und Patienten, die eine große Operationen erhielten, die den Einsatz eines kardiopulmonalen Bypasses beinhaltete, war eine erhöhte Plasmakonzentrationen von fHb mit dem Auftreten einer postoperativen akuten Nierenschädigung sowie der Erhöhung von N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase, einem Biomarker, der mit der Schädigung des Nierentubulus in Verbindung gebracht wird, assoziiert (31, 93). Darüber hinaus ist bei herzchirurgischen Eingriffen der Schweregrad einer Hämolyse eng mit der Inzidenz und der Schwere einer akuten Nierenschädigung assoziiert (31, 94). Auch die Behandlung der akuten Nierenschädigung kann durch das Auftreten einer Hämolyse erschwert sein. So war bei pädiatrischen Patientinnen und Patienten, die mit einer

ECMO therapiert wurden, das Auftreten erhöhter Plasmaspiegel von fHb mit einer längeren Durchführung eines Nierenersatzverfahrens assoziiert (95).

1.6 Zielsetzung der Arbeit

In mehreren unabhängigen Studien konnte gezeigt werden, dass eine Erhöhung der Plasmakonzentration von fHb bei Patientinnen und Patienten unter einer Therapie mit VV ECMO mit einem schlechteren Outcome assoziiert ist (80, 83, 84). Eine Assoziation zwischen erhöhten Plasmakonzentrationen von fHb und dem Auftreten einer akuten Nierenschädigung wurde bisher nur bei Patientinnen und Patienten mit einem VA ECMO-System gezeigt (85). In dieser Arbeit wurden als bekannte Marker für eine Hämolyse die Plasmaspiegel von fHb und Hp anhand einer großen Kohorte von Patientinnen und Patienten mit ARDS und VV ECMO-Therapie auf eine Assoziation mit einer erhöhten Mortalität und dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung überprüft. Weiterhin war es Ziel der Arbeit, eine mögliche Korrelation zwischen dem Schweregrad einer Hämolyse, gemessen anhand der Höhe der Plasmakonzentration von fHb, und dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung zu untersuchen.

Als Gegenspieler und Bindeprotein von fHb hat Hp einen wichtigen Einfluss auf die pathophysiologischen Auswirkungen einer intravasalen Hämolyse. Eine Verringerung des Plasmaspiegels von Hp ist einer der sensitivsten Marker für eine intravasale Hämolyse. In der vorliegenden Arbeit wurde überprüft, inwieweit eine erniedrigte Plasmakonzentration von Hp mit dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung bei Patientinnen und Patienten mit ARDS und Therapie mit ECMO assoziiert war.

2. Methodik

2.1 Studiendesign

Die Daten für die vorliegende Arbeit wurden im Rahmen einer retrospektiven Kohortenstudie gesammelt und ausgewertet. Untersucht wurden Patientinnen und Patienten, die mit einem ARDS nach der Berlin Definition auf der intensivmedizinischen Einheit 8i/PACU der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin am Campus Virchow-Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin aufgenommen und mittels einer VV ECMO behandelt wurden (55). Die Patientinnen und Patienten wurden innerhalb des ARDS ECMO Zentrums der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin CCM/CVK der Charité – Universitätsmedizin Berlin betreut. Patientinnen und Patienten, die auf der intensivmedizinischen Einheit mit ECMO behandelt werden, erhalten standardisiert mehrfach täglich Laborkontrollen, bei denen auch die Konzentration von fHb und Hp erhoben wird. Die Behandlung der jeweiligen Grunderkrankung und des ARDS erfolgte nach den zu dem jeweiligen Zeitpunkt gültigen Leitlinien. Anhand der ermittelten Konzentration von fHb vor Beginn der ECMO-Therapie wurden mittels einer Risikostratifikation für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Patientengruppen mit niedriger, moderater und hoher Konzentration von fHb eingeteilt und diese auf Unterschiede der Eigenschaften der Patientinnen und Patienten überprüft. In der vorliegenden Kohorte von Patientinnen und Patienten wurde untersucht, ob eine Assoziation zwischen einer erhöhten Konzentration von fHb und dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO bei Beginn der ECMO-Therapie besteht (86). Abschließend erfolgte die Beurteilung der Bedeutung von Hp bei Patientinnen und Patienten mit erhöhter Konzentration von fHb sowie die Ermittlung eines Grenzwerts von Hp, der möglicherweise vor dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung schützen kann. Die Datenakquise der Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin genehmigt (EA2/019/19). Während der gesamten Studie und der Erstellung dieser Arbeit wurde die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur guten wissenschaftlichen Praxis befolgt und eingehalten.

2.2 Studienteilnehmerinnen und Studienteilnehmer

Eingeschlossen wurden alle zwischen dem 01.01.2007 und dem 31.12.2018 auf die intensivmedizinische Einheit 8i/PACU der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin CMM/CVK aufgenommenen erwachsenen Patientinnen und Patienten, die a) an einem ARDS nach der zum Zeitpunkt der Aufnahme gültigen Definition, zuletzt der Berlin Definition von 2011, erkrankt waren und b) zur Behandlung des ARDS während des Aufenthalts auf der Intensivstation eine Therapie mit einer VV ECMO erhielten (55). Ausgeschlossen wurden Patientinnen und Patienten, die nicht mit einer VV ECMO behandelt wurden, sowie Patientinnen und Patienten, die keine Messung der fHb-Konzentration vor ECMO-Initiierung erhalten hatten.

2.3 Laborchemische Parameter

Als Laborwerte wurden für die statistische Analyse für fHb die Plasmakonzentration von fHb in mg/dl und für Hp die Plasmakonzentration von Hp in g/l genutzt. Ausgewertet wurden jeweils die Laborwerte zum Zeitpunkt des Beginns der ECMO-Therapie. Die Ermittlung der Laborwerte erfolgte mittels Cobas 8000 modular Analysesystemen (Roche Diagnostic, Basel, Schweiz) aus Blutplasma, das aus EDTA Blut gewonnen und durch Zentrifugation (für 15 Minuten bei 2500g) innerhalb von zwei Stunden nach Entnahme hergestellt wurde. Die Konzentration von fHb wurde durch Fotometrie ermittelt. Die Bestimmung der Konzentration von Hp erfolgte mittels Turbidimetrie.

2.4 Einteilung der Patientinnen und Patienten

Die Patientinnen und Patienten wurden anhand ihrer fHb-Konzentration bei Beginn der ECMO-Therapie in drei Kohorten anhand einer sogenannten Grauzoneneinteilung zur Risikobeurteilung für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung unterteilt (96, 97). Die Einteilung erfolgte demnach in eine Gruppe, für die das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung unwahrscheinlich (Gruppe mit niedriger Konzentration von fHb), eine Gruppe, für die das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung wahrscheinlich (Gruppe mit hoher Konzentration von fHb) und eine Gruppe, bei der das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung anhand der initialen Konzentration von fHb nicht von vornherein vorhersagbar war (Gruppe mit moderater Konzentration von fHb). Um diese drei Gruppen voneinander trennen zu können, wurden zwei Konzentrationen von fHb als

Grenzwerte ermittelt. Die eine Konzentration von fHb war die, über der eine akute Nierenschädigung mit einer Spezifität von 90% vorherrschte. Diese Konzentration wurde verwendet, um die Gruppen mit hoher und moderater Konzentration von fHb einzuteilen. Die zweite Konzentration von fHb war die, unter der eine akute Nierenschädigung mit einer Sensitivität von 80% nicht vorherrschte. Diese Konzentration wurde verwendet, um die Gruppen mit niedriger und moderater Konzentration von fHb einzuteilen. Um für den sekundären Endpunkt eine Konzentration von Hp, die vor einer durch fHb ausgelösten akuten Nierenschädigung schützen kann, zu ermitteln, wurde in den beiden Gruppen mit moderater und hoher Konzentration von fHb die Konzentration von Hp bei Patientinnen und Patienten mit akuter Nierenschädigung mit der Konzentration von Hp bei Patientinnen und Patienten ohne Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung verglichen. Mit Hilfe der oben beschriebenen Grauzoneneinteilung wurde anschließend eine Konzentration von Hp in den beiden Gruppen ermittelt, die mit einer Sensitivität von 90% vor einer durch fHb ausgelösten akuten Nierenschädigung schützt. Nach gleichem Verfahren wurde für beide Gruppen eine Konzentration von Hp ermittelt, unter der mit einer Spezifität von 90% Hp nicht mehr in der Lage ist, vor einer durch fHb ausgelösten akuten Nierenschädigung zu schützen.

2.5 Endpunkte

Primärer Endpunkt war das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO (Tabelle 3) bei Beginn der ECMO-Therapie. Sekundäre Endpunkte waren zum einen die Überprüfung der Rolle von Hp bei Patientinnen und Patienten mit erhöhter Konzentration von fHb und zum anderen die Ermittlung eines klinisch signifikanten Grenzwerts der Konzentration von Hp, um vor dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung zu schützen.

Tabelle 3 Definition der akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO für Erwachsene
Nur einer aller Faktoren muss erfüllt sein.
Quelle: modifiziert nach (86)

Serumkreatinin	Urinausscheidung
>3x über Ausgangswert	<0,3ml/kg/h für ≥24 Stunden
Anstieg des Serumkreatinins auf ≥4,0mg/dl	Anurie für ≥12 Stunden
Beginn eines Nierenersatzverfahrens	

KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes

2.6 Datenerhebung und -sammlung

Die notwendigen Daten wurden den beiden elektronischen Dokumentationssystemen, die auf der Intensivstation zum Einsatz kommen, entnommen. Demographische Daten und Angaben über weitere Erkrankungen wurden dem Datenmanagementsystem der Charité – Universitätsmedizin Berlin entnommen (SAP [SAP Deutschland SE & Co.KG, Walldorf, Deutschland]). Die Daten der Laborwerte inklusive der Werte zu fHb und Hp sowie Daten zu klinischen Scorings, ARDS und dessen Behandlung, Medikamenten, Beatmungsparametern und Daten zur ECMO-Therapie wurden der elektronischen Patientenakte der Intensivstation entnommen (COPRA [COPRA System GmbH, Berlin, Deutschland]). Die pseudonymisierte Sammlung der Daten erfolgte mittels des Programms Excel (Excel 2016, Microsoft Corporation, One Microsoft Way, Redmond, WA 98052-6399, USA).

Die Parameter des ECMO-Systems, das für die Therapie genutzt wurde, wurden mehrfach täglich durch das Pflegepersonal der Intensivstationen erhoben und mit dem Zeitpunkt der Erhebung in das COPRA-System eingegeben. Für die Studie wurden ab Tag eins der Therapie mit ECMO die zeitlich am nächsten gelegenen Parameter des ECMO-Systems vor sechs Uhr morgens verwendet, frühestens Parameter um vier Uhr morgens.

2.7 Statistik

Kontinuierliche Variablen wurden als Median mit dem Interquartilsabstand (IQR) angegeben. Statistische Unterschiede für kontinuierliche Parameter wurden mittels des Mann-Whitney-U-Tests und des Kruskal-Wallis-Tests ermittelt. Nominale Variablen wurden angegeben als absolute Zahlen oder Relativwerte in Prozent. Häufigkeiten wurden mittels des exakten Fisher-Tests auf ihre statistische Signifikanz überprüft. Unterschiede kontinuierlicher Parameter mit einem zeitlichen Bezug wurden mittels nicht-parametrischer Analyse für kontinuierliche Daten untersucht.

Für die Berechnung einer Assoziation der Konzentration von fHb mit dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung bei Beginn der ECMO-Therapie wurde eine multivariable logistische Regression durchgeführt, die sich einer backward variable selection procedure, die auf dem Informationskriterium von Akaike (AIC) basiert, bediente. Entsprechend wurden Eigenschaften der Patientinnen und Patienten, die sich in einer univariablen Analyse unterschieden, und bekannte Risikofaktoren für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung mit einbezogen. Zur Sicherstellung der internen Validität

des Modells wurde die area under the curve (AUC) genutzt. Um sicherzustellen, dass die Konzentration von fHb einen zusätzlichen Risikofaktor für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung darstellt, wurde die net reclassification improvement (NRI), basierend auf der Risikostratifizierung für die akute Nierenschädigung, berechnet (98, 99). Die NRI erfasst die Veränderung des Risikos für das Vorherrschen eines Ereignisses bei Vorliegen von Risikofaktoren, wenn zu diesen ein weiterer Risikofaktor hinzugefügt wird (98).

Um einem möglichen Selektionsbias zu begegnen, erfolgte statistisch eine Berücksichtigung prognostischer Einflussfaktoren und Eigenschaften der Patientinnen und Patienten sowie bekannter Risikofaktoren für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung. Diese umfassten das Patientenalter, den Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II), eine chronische Nierenerkrankung, die Therapie mit inhalativem NO vor ECMO-Initiierung, den PEEP vor der ECMO-Initiierung und das Vorliegen eines septischen Schocks. Da es sich um eine explorative Arbeit handelt, wurden alle Analysen als unbestätigt betrachtet. Ein statistisch signifikanter Unterschied wurde angenommen bei einem zweiseitigem p-Wert von $<0,05$. Die statistischen Analysen wurden mit R Software (Version 3.6.1, R project for Statistical Computing, Wien, Österreich) durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Patientinnen und Patienten der Studie

Von insgesamt 1044 Patientinnen und Patienten mit der Aufnahmediagnose eines ARDS wurden 455 Patientinnen und Patienten im untersuchten Zeitraum mit einem VV ECMO-System versorgt (Abbildung 1). Es wurden 182 Patientinnen und Patienten aufgrund einer fehlenden Messung der Konzentration von fHb vor dem Beginn der ECMO-Therapie ausgeschlossen, sodass insgesamt 273 Patientinnen und Patienten statistisch analysiert

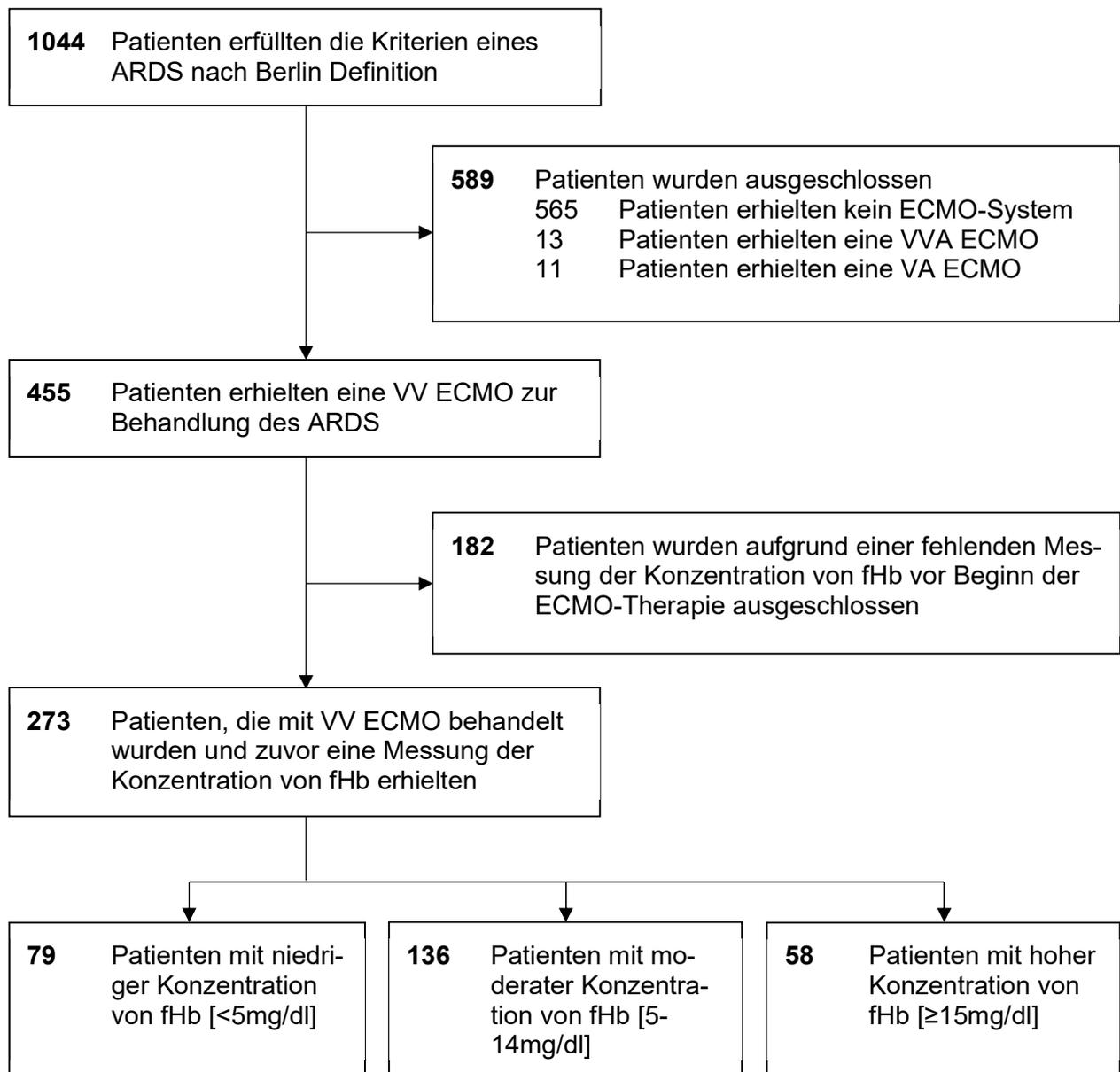


Abbildung 1 Diagramm des Studienablaufs

ARDS: akutes Lungenversagen, ECMO: extrakorporale Membranoxygenierung, VV ECMO: venovenöse ECMO, VVA ECMO: veno-veno-arterielle ECMO, VA ECMO: veno-arterielle ECMO, fHb: freies Hämoglobin

Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

wurden (Abbildung 1). Einhundertdreiundachtzig (67%) Patienten der untersuchten Kohorte waren männlich. Von den eingeschlossenen Patientinnen und Patienten erhielten 257 Patientinnen und Patienten (94,1% [95% Konfidenzintervall [KI], 90,4-96,5]) gleichzeitig eine Messung der Konzentration von Hp. Der Horovitz-Quotient betrug bei Beginn der ECMO-Therapie durchschnittlich 70mmHg (IQR 54-89mmHg). Die Häufigkeit der verschiedenen Ursachen für das ARDS, die Eigenschaften der Patientinnen und Patienten und die Behandlungsdaten sind in Tabelle 4 dargestellt. Die Verteilung der Konzentration von fHb innerhalb der Studiengruppe bei Beginn der ECMO-Therapie ist in Abbildung 2 dargestellt. Abbildung 3 zeigt die Verteilung der Konzentration von Hp innerhalb der Studiengruppe bei Beginn der ECMO-Therapie.

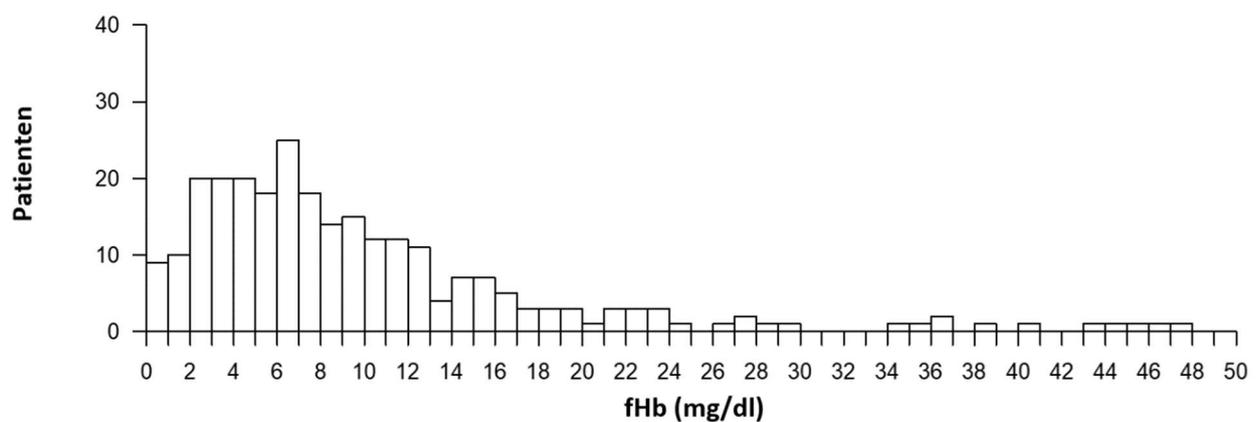


Abbildung 2 Verteilung der Konzentration von fHb bei Beginn der ECMO-Therapie innerhalb der Studiengruppe

Einteilung in Abständen von 1mg/dl und links einschließend. Neun Patientinnen und Patienten hatten nicht messbare Konzentrationen von fHb (3,3% [95% KI 1,6-6,4]).

fHb: freies Hämoglobin, KI: Konfidenzintervall

Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

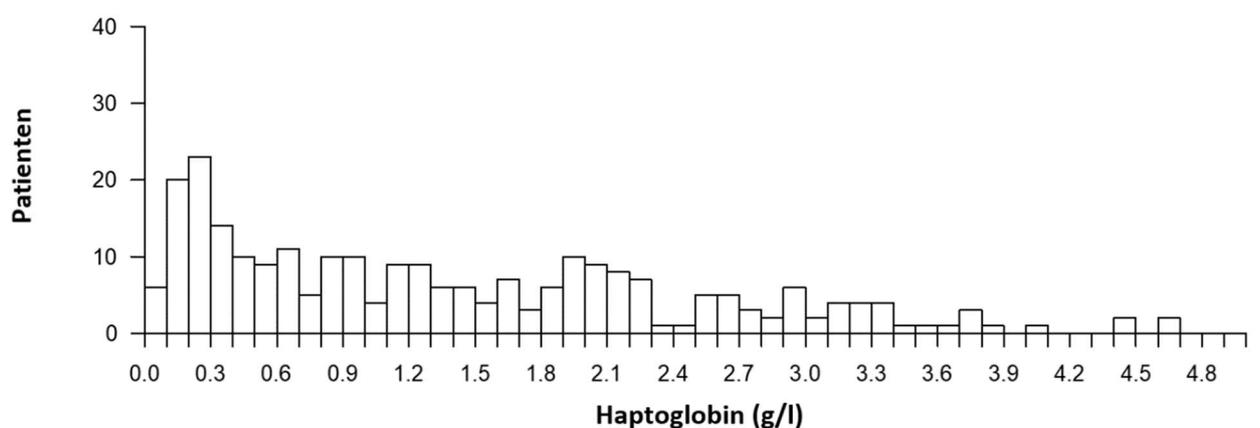


Abbildung 3 Verteilung der Konzentration von Haptoglobin bei Beginn der ECMO-Therapie innerhalb der Studiengruppe

Einteilung in Abständen von 0,1g/l und links einschließend.

Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

3.2 Behandlungsvergleich der Patientengruppen

Die Eigenschaften und Behandlungsparameter der Patientinnen und Patienten im Vergleich zwischen den Gruppen bezüglich verschiedener Konzentrationen von fHb sind in Tabelle 4 dargestellt. Die Einteilung in die verschiedenen Gruppen erfolgte mittels Grauzoneneinteilung anhand des Risikos für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung (siehe 3.3). Patientinnen und Patienten der Gruppe mit hoher Konzentration von fHb bei Beginn der ECMO-Therapie hatten signifikant höhere Werte im Sepsis-related organ failure assessment (SOFA) und im SAPS II-Score zum Zeitpunkt der Diagnosestellung des ARDS ($p < 0,001$ und $p = 0,005$). Es fanden sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede für demographische Eigenschaften und Komorbiditäten der Patientinnen und Patienten, Schwere des ARDS, Ursache des ARDS, Dauer bis zum Beginn der ECMO-Therapie und Einsatz von Rescue-Therapiemaßnahmen wie der Bauchlagerung oder der Nutzung von inhalativem NO (Tabelle 4).

Zusätzlich zur ECMO-Therapie erfolgte bei allen Patientinnen und Patienten eine lungenprotektive Beatmung. Diese umfasste zum einen ein niedriges Tidalvolumen mit einem Median von 5,32 ml/kg Idealgewicht [IQR 3,55-7,8] in der Patientengruppe mit niedriger Konzentration von fHb, 5,44 ml/kg Idealgewicht [IQR 3,88-7,41] in der Patientengruppe mit moderater Konzentration von fHb und 5,27 ml/kg Idealgewicht [IQR 3,86-6,96] in der Patientengruppe mit hoher Konzentration von fHb ($p = 0,836$). Zum anderen umfasste die lungenprotektive Beatmung einen hohen PEEP mit einem Median von 18,2 cmH₂O [IQR 15,3-20,0] in der Patientengruppe mit niedriger Konzentration von fHb, 18,2 cm H₂O [IQR 16,0-20,4] in der Patientengruppe mit moderater Konzentration von fHb und 20,4 cmH₂O [IQR 17,0-22,0] in der Patientengruppe mit hoher Konzentration von fHb ($p = 0,013$). Außerdem fand sich ein niedriger Driving Pressure mit einem Median von 15,6 cmH₂O [IQR 11,0-17,07] in der Patientengruppe mit niedriger Konzentration von fHb, 14,0 cmH₂O [IQR 11,0-19,4] in der Patientengruppe mit moderater Konzentration von fHb und 17 cmH₂O [IQR 12,85-20,6] in der Patientengruppe mit hoher Konzentration von fHb ($p = 0,179$).

Zum Zeitpunkt des Beginns der ECMO-Therapie war bei allen eingeschlossenen Patientinnen und Patienten das kardiovaskuläre System kompromittiert. Bei Patientinnen und Patienten mit hoher Konzentration von fHb lag signifikant häufiger ein Blutgerinnungsversagen vor ($p < 0,001$).

Tabelle 4 Eigenschaften der Patientinnen und Patienten im Vergleich zwischen Gruppen mit niedriger, moderater und hoher Konzentration von freiem Hämoglobin
 Daten sind entsprechend angegeben als Median (mit 25-75% Quartil) oder Häufigkeit (%)
 Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

Eigenschaft	Niedrige Konzentration von fHb [< 5 mg/dl] (N = 79)	Moderate Konzentration von fHb [5–14 mg/dl] (N = 136)	Hohe Konzentration von fHb [≥ 15 mg/dl] (N = 58)	p-Wert*
Konzentration von fHb	3.00 [2.00, 3.60]	8.00 [6.00, 10.25]	23.00 [17.25, 42.25]	<0.001
Alter (Jahre)	48.00 [37.50, 64.00]	53.00 [40.00, 64.00]	46.00 [28.50, 55.75]	0.030
männlich, n (%)	58 (73.4)	87 (64.0)	38 (65.5)	0.351
Body Mass Index (kg/cm)	24.84 [21.60, 27.78]	26.12 [22.17, 29.93]	24.49 [21.57, 30.96]	0.454
Charlson Komorbiditätsindex	2.00 [0.50, 5.00]	3.00 [1.00, 4.00]	2.00 [0.00, 4.00]	0.359
Chronische Nierenerkrankung, n (%)	6 (7.6)	13 (9.6)	6 (10.3)	0.837
Immungeschwächt, n (%)	19 (24.1)	38 (27.9)	15 (25.9)	0.819
SOFA bei ARDS-Diagnose	11.00 [8.00, 14.00]	12.00 [9.75, 15.00]	14.50 [11.25, 16.75]	<0.001
SAPS II bei ARDS-Diagnose	49.00 [35.50, 63.50]	58.00 [42.00, 70.25]	59.50 [47.00, 77.00]	0.005
Chronische Lungenerkrankung, n (%)	32 (40.5)	51 (37.5)	16 (27.6)	0.273
Pulmonaler Ursprung, n (%)	74 (93.7)	120 (88.2)	44 (75.9)	0.008
Schwere des ARDS, n (%)				
Schwer	76 (96.2)	130 (95.6)	56 (96.6)	0.945
Ursache des ARDS, n (%)				0.387
Pneumonie	54 (70.1)	92 (70.2)	32 (55.2)	
Aspirationspneumonie	5 (6.5)	13 (9.9)	8 (13.8)	
Trauma und Verbrennungen	1 (1.3)	5 (3.8)	2 (3.4)	
Andere akute respiratorische Ursache	6 (7.8)	11 (8.4)	8 (13.8)	
Nicht respiratorische und chronische respiratorische Ursache	11 (14.3)	10 (7.6)	8 (13.8)	
ECMO-Beginn, n (%)				0.705
Mobiles ECMO-Team	20 (25.3)	35 (25.7)	18 (31.0)	
Nach Aufnahme	59 (74.7)	101 (74.3)	40 (69.0)	
ECMO-Beginn (ICU-Tag)	0.00 [0.00, 0.00]	0.00 [0.00, 0.00]	0.00 [0.00, 0.00]	0.564
Beatmungsparameter bei ECMO-Beginn				
Mechanische Beatmung (Tage)	3.00 [1.00, 7.50]	2.00 [1.00, 5.50]	1.50 [1.00, 4.00]	0.312
PaO ₂ :FiO ₂ (mmHg)	76.00 [58.66, 89.30]	68.49 [56.12, 90.00]	60.90 [50.76, 85.50]	0.267
PaO ₂ (mmHg)	72.50 [56.22, 85.72]	66.40 [52.10, 86.55]	57.30 [50.50, 85.50]	0.440
PaCO ₂ (mmHg)	69.00 [56.60, 88.05]	62.45 [50.35, 78.40]	71.50 [57.55, 82.40]	0.153
pH	7.25 [7.18, 7.35]	7.25 [7.17, 7.36]	7.20 [7.11, 7.27]	0.095
PIP (cmH ₂ O)	36.20 [31.63, 40.25]	36.86 [32.67, 42.00]	40.50 [36.00, 47.00]	0.001
Pplateau (cmH ₂ O)	33.19 [29.00, 36.02]	33.44 [30.00, 38.00]	38.00 [31.00, 41.00]	0.011
PEEP (cmH ₂ O)	18.20 [15.30, 20.00]	18.20 [16.00, 20.40]	20.40 [17.00, 22.00]	0.013
Driving Pressure (cmH ₂ O)	15.60 [11.00, 17.07]	14.00 [11.00, 19.40]	17.00 [12.85, 20.60]	0.179
Tidalvolumen (ml/kg PBW)	5.32 [3.55, 7.80]	5.44 [3.88, 7.41]	5.27 [3.86, 6.96]	0.836
Atemfrequenz (Atemzüge/min)	25.00 [20.00, 34.34]	24.25 [20.00, 30.05]	25.00 [19.74, 31.79]	0.742
Compliance (ml/cmH ₂ O)	24.61 [15.25, 32.00]	23.80 [13.06, 33.78]	17.09 [9.73, 22.74]	<0.001
Weitere Rescuetherapien, n (%)				
Inhalatives NO	54 (68.4)	95 (69.9)	41 (70.7)	0.954
Bauchlagerung	60 (75.9)	100 (73.5)	44 (75.9)	0.902
Organversagen bei ECMO-Beginn, n (%)				
Blutgerinnung	13 (16.5)	47 (34.6)	31 (53.4)	<0.001
Leber	7 (8.9)	18 (13.2)	12 (20.7)	0.134
Kardiovaskulär	76 (100.0)	123 (100.0)	55 (100.0)	NA
ZNS	42 (53.2)	71 (52.2)	27 (46.6)	0.712

Eigenschaft	Niedrige Konzentration von fHb [< 5 mg/dl] (N = 79)	Moderate Konzentration von fHb [5–14 mg/dl] (N = 136)	Hohe Konzentration von fHb [≥ 15 mg/dl] (N = 58)	p-Wert*
Niere (KDIGO 3)	29 (36.7)	81 (59.6)	44 (75.9)	<0.001
Septischer Schock, n (%)	34 (43.0)	79 (58.1)	39 (67.2)	0.014
Nierenersatzverfahren, n (%)	28 (35.4)	77 (56.6)	44 (75.9)	<0.001
28-Tagemortalität nach ECMO-Beginn, n (%)	18 (22.8)	53 (39.0)	32 (55.2)	0.001

fHb: freies Hämoglobin, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, SAPS: Simplified Acute Respiratory Score, ARDS: akutes Lungenversagen, ECMO: extrakorporale Membranoxygenierung, ICU: Intensive Care Unit, PIP: inspiratorischer Spitzendruck, Pplateau: Plateau-Druck, PEEP: positiver endexpiratorischer Beatmungsdruck, PBW: Idealgewicht, NO: Stickstoffmonoxid, ZNS: Zentrales Nervensystem, KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes

*p-Wert wurde entsprechend mittels Kruskal-Wallis-Test und exaktem Test nach Fisher berechnet im Vergleich der Gruppen mit niedriger, moderater und hoher Konzentration von fHb

3.3 Akute Nierenschädigung und freies Hämoglobin

Eine akute Nierenschädigung im Stadium 3 nach KDIGO hatten zum Zeitpunkt des Beginns der ECMO-Therapie 154 Patientinnen und Patienten (56,4% [95% KI, 50,2-62,3]). Die Verteilung der Kriterien, die zur Diagnosestellung einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO führten, sind in Abbildung 4A dargestellt. Das häufigste Kriterium, das zur Diagnose einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 führte, war der Beginn eines Nierenersatzverfahrens, das seltenste erfüllte Kriterium war eine Erhöhung der Serumkreatininkonzentration über mehr als den dreifachen Ausgangswert oder $\geq 4,0$ mg/dl. Die Verteilung der Indikationen, die zum Beginn der Behandlung mit einem Nierenersatzverfahren geführt haben, sind in Abbildung 4B dargestellt. Die beiden häufigsten Indikationen für den Beginn eines Nierenersatzverfahrens waren eine schwere metabolische Azidose und eine schwere Hyperkaliämie bzw. ein schneller Anstieg der Kaliumkonzentration. Der Vergleich der Eigenschaften von Patientinnen und Patienten mit einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 bei Beginn der ECMO-Therapie und Patientinnen und Patienten ohne eine akute Nierenschädigung zeigte unter anderem signifikante Unterschiede bezüglich relevanter Beatmungsparameter, renaler und pulmonaler Vorerkrankungen, des SOFA-Scores bei ARDS-Diagnose, des Versagens verschiedener Organsysteme, der Durchführung intensivmedizinischer Therapien, der Konzentration von Hp und der Mortalität innerhalb der ersten 28 Tage nach Beginn der ECMO-Therapie (Tabelle 5). Grundsätzlich zeigte sich, dass Patientinnen und Patienten mit einer akuten Nierenschädigung bei Beginn der ECMO-Therapie im Vergleich zu Patientinnen und Patienten ohne eine akute Nierenschädigung signifikant höhere Konzentrationen von fHb bei

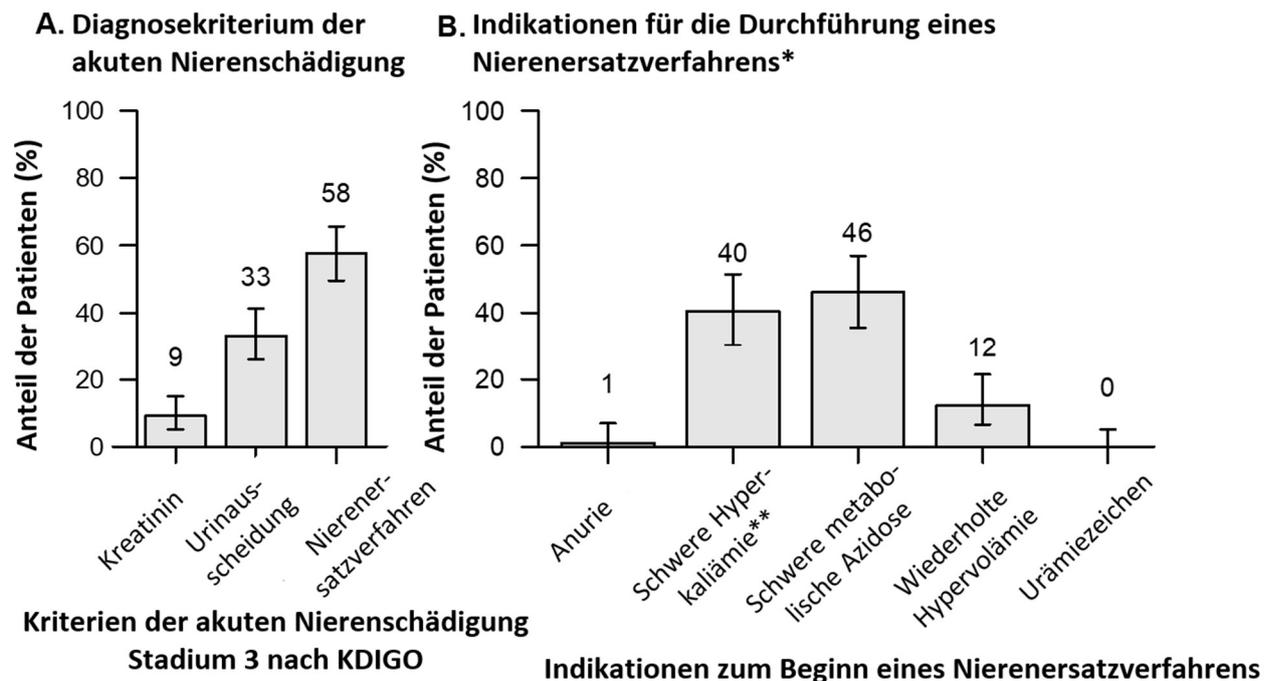


Abbildung 4 Detaillierte Darstellung der Diagnosekriterien der akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO (A) und der Indikationen für die Durchführung eines Nierenersatzverfahrens bei Beginn der ECMO-Therapie (B).

Dargestellt sind der Anteil der Patientinnen und Patienten und das 95% KI.
 *Bei vielen Patientinnen und Patienten mit Nierenersatzverfahren führte mehr als eine Indikation zur Durchführung des Nierenersatzverfahrens bei Beginn der ECMO-Therapie. Zur besseren Übersichtlichkeit ist nur die klinisch führende Indikation angegeben.

**Schwere Hyperkaliämie oder schnell ansteigende Kaliumkonzentration.

KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes, ECMO: Extrakorporale Membranoxygenierung

Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

Beginn der ECMO-Therapie hatten (9,35 mg/dl [IQR 5-16] vs. 6,0 mg/dl [IQR 3-9], $p < 0,001$) (Abbildung 5A). Dabei konnte festgestellt werden, dass sich die Prävalenz einer akuten Nierenschädigung proportional zum Anstieg der Konzentration von fHb bis zu einer Konzentration von 15 mg/dl erhöhte (Abbildung 5B). Entsprechend der statistischen Grauzoneneinteilung wurden die Patientinnen und Patienten anhand des Risikos für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung in eine Gruppe mit niedriger (<5 mg/dl), eine Gruppe mit moderater (5-14 mg/dl) und eine Gruppe mit hoher (≥ 15 mg/dl) Konzentration von fHb eingeteilt (Abbildung 5C). Diese Einteilung ergab für die Gruppe mit niedriger Konzentration von fHb 79 Patientinnen und Patienten (28,9%), für die Gruppe mit moderater Konzentration von fHb 136 Patientinnen und Patienten (49,8%) und für die Gruppe mit hoher Konzentration von fHb 58 Patientinnen und Patienten (21,2%). Der Median der Konzentration von fHb war in der Gruppe mit niedriger Konzentration von fHb 3 mg/dl (IQR 2-4 mg/dl), in der Gruppe mit moderater Konzentration von fHb 8 mg/dl (IQR 6-11 mg/dl) und in der Gruppe mit hoher Konzentration von fHb 23 mg/dl (IQR 17-43 mg/dl) (Abbildung 5D).

Tabelle 5 Eigenschaften im Vergleich von Patientinnen und Patienten mit und ohne akute Nierenschädigung Stadium 3 bei ECMO-Beginn

Daten sind jeweils angegeben als Median (mit 25-75% Quartil) oder Häufigkeit (%)

Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

Eigenschaft	Keine akute Nierenschädigung (N=119)	Akute Nierenschädigung Stadium 3 KDIGO (N=154)	p-Wert*
Alter (Jahre)	46.00 [32.00, 58.00]	53.50 [41.00, 64.00]	0.004
männlich, n (%)	78 (65.5)	105 (68.2)	0.742
Body Mass Index (kg/cm)	24.03 [20.47, 27.93]	26.12 [22.86, 30.86]	0.009
Charlson Komorbiditätsindex	2.00 [0.00, 4.50]	3.00 [1.00, 4.00]	0.496
Chronische Nierenerkrankung, n (%)	2 (1.7)	23 (14.9)	<0.001
Immungeschwächt, n (%)	37 (31.1)	35 (22.7)	0.157
Vorherige Chemotherapie, n (%)	12 (10.1)	14 (9.1)	0.945
SOFA bei ARDS-Diagnose	10.00 [8.00, 12.00]	14.00 [11.00, 17.00]	<0.001
SOFA ohne Nierenparameter bei ARDS-Diagnose	10.00 [8.00, 12.00]	13.00 [10.00, 15.00]	<0.001
SAPS II bei ARDS-Diagnose	46.00 [35.00, 61.00]	63.50 [48.00, 78.75]	<0.001
Chronische Lungenerkrankung, n (%)	59 (49.6)	40 (26.0)	<0.001
Schweres ARDS (Berlin Definition), n (%)	110 (92.4)	152 (98.7)	0.021
Ursache des ARDS, n (%)			0.117
Pneumonie	78 (67.8)	100 (66.2)	
Aspirationspneumonie	6 (5.2)	20 (13.2)	
Trauma und Verbrennungen	4 (3.5)	4 (2.6)	
Andere akute respiratorische Ursache	15 (13.0)	10 (6.6)	
Nicht respiratorische und chronische respiratorische Ursache	12 (10.4)	17 (11.3)	
ECMO-Beginn, n (%)			0.142
Mobiles ECMO- Team	26 (21.8)	47 (30.5)	
Nach Aufnahme	93 (78.2)	107 (69.5)	
ECMO-Beginn (ICU-Tag)	0.00 [0.00, 0.00]	0.00 [0.00, 0.00]	0.085
Beatmungsparameter bei ECMO-Beginn			
Mechanische Beatmung (Tage)	2.00 [1.00, 6.00]	2.00 [1.00, 6.00]	0.095
PaO ₂ :FiO ₂ (mmHg)	72.90 [56.20, 104.08]	64.80 [53.80, 83.90]	0.047
PaO ₂ (mmHg)	70.50 [53.70, 90.20]	63.05 [51.30, 80.72]	0.103
PaCO ₂ (mmHg)	66.90 [52.10, 87.00]	63.80 [52.42, 79.07]	0.510
pH	7.29 [7.21, 7.39]	7.19 [7.10, 7.27]	<0.001
PIP (cmH ₂ O)	35.73 [31.81, 40.00]	38.96 [34.20, 45.00]	<0.001
Pplateau (cmH ₂ O)	31.00 [28.00, 36.00]	36.00 [31.00, 40.00]	<0.001
PEEP (cmH ₂ O)	17.00 [13.23, 19.00]	20.00 [18.00, 22.00]	<0.001
Driving Pressure (cmH ₂ O)	15.70 [11.33, 18.00]	15.00 [11.00, 19.57]	0.705
Tidalvolumen (ml/kg PBW)	5.29 [3.99, 7.23]	5.44 [3.84, 7.24]	0.882
Atemfrequenz (Atemzüge/min)	25.00 [20.04, 34.18]	24.00 [19.40, 30.00]	0.079
Compliance (ml/cmH ₂ O)	23.04 [12.72, 33.25]	20.55 [13.37, 29.74]	0.066
Weitere Rescuetherapien, n (%)			
Inhalatives NO	74 (62.2)	116 (75.3)	0.027
Bauchlagerung	87 (73.1)	117 (76.0)	0.689
Organversagen bei ECMO-Beginn, n (%)			
Blutgerinnung	19 (16.0)	72 (46.8)	<0.001
Leber	7 (5.9)	30 (19.5)	0.002
Kardiovaskulär	119 (100.0)	154 (100.0)	NA
ZNS	62 (52.1)	78 (50.6)	0.90
Niere (KDIGO 3)	0 (0.0)	154 (100.0)	<0.001
Septischer Schock, n (%)	40 (33.6)	112 (72.7)	<0.001
fHb (mg/dl)	6.00 [3.00, 9.00]	9.35 [5.00, 16.00]	<0.001
Haptoglobin (g/l)	2.05 [1.14, 2.90]	1.20 [0.48, 2.34]	<0.001
Serumkreatininkonzentration (mg/dl)	0.98 [0.73, 1.26]	2.10 [1.48, 3.09]	<0.001
Nierenersatzverfahren, n (%)	0 (0.0)	149 (96.7)	<0.001

Eigenschaft	Keine akute Nierenschädigung (N=119)	Akute Nierenschädigung Stadium 3 KDIGO (N=154)	p-Wert*
28-Tagemortalität nach ECMO-Beginn, n (%)	27 (22.7)	76 (49.4)	<0.001

KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, ARDS: akutes Lungenversagen, SAPS: Simplified Acute Physiology Score, ECMO: Extrakorporale Membranoxygenierung, ICU: Intensive Care Unit, PIP: inspiratorischer Spitzendruck, Pplateau: Plateau-Druck, PEEP: positive endexpiratorischer Beatmungsdruck, PBW: Idealgewicht, NO: Stickstoffmonoxid, ZNS: Zentrales Nervensystem, fHb: freies Hämoglobin
*p-Wert jeweils entsprechend mittels exaktem Wilcoxon-Mann-Whitney-Test und exaktem Test nach Fisher

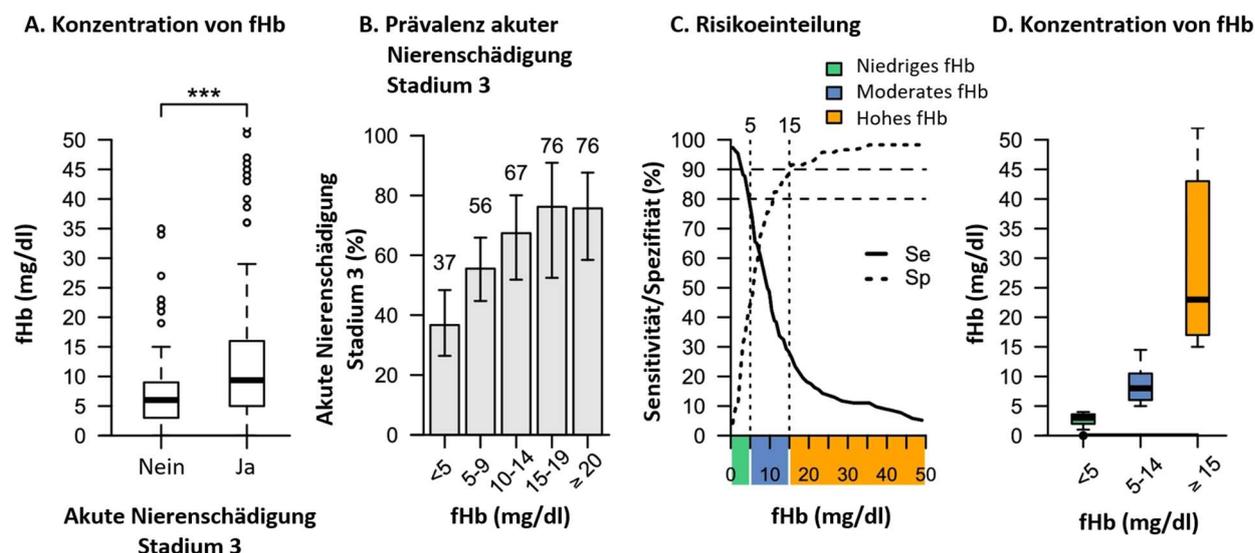


Abbildung 5

Assoziation der Konzentration von fHb mit einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 und der Gruppeneinteilung anhand der Konzentration von fHb

Vergleich der Konzentration von fHb zwischen Patientinnen und Patienten mit und ohne akute Nierenschädigung Stadium 3 mit 95% Konfidenzintervall bei verschiedenen Konzentrationen von fHb (B). Risikoeinteilung anhand der Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse der Konzentration von fHb für das Vorliegen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 (C). Einteilung der Patientinnen und Patienten in drei Gruppen unterschiedlicher Konzentrationen von fHb anhand der Grenzwerte mit 80% Sensitivität und 90% Spezifität. Verteilung der Konzentration von fHb innerhalb dieser Gruppen (D).

*** $p < 0,001$

fHb: freies Hämoglobin, Se: Sensitivität, Sp: Spezifität

Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

3.4 Freies Hämoglobin als Risikofaktor für eine akute Nierenschädigung

Die Prävalenz einer akuten Nierenschädigung betrug in der Patientengruppe mit niedriger Konzentration von fHb 36,7% (95% KI 26,3-48,3), in der Patientengruppe mit moderater Konzentration von fHb 59,5% (95% KI 50,7-67,6) und in der Patientengruppe mit hoher Konzentration von fHb 75,8% (95% KI 62,5-85,7) ($p < 0,001$) (Abbildung 6A). Beim Vergleich von Patientinnen und Patienten mit niedriger Konzentration von fHb mit Patientinnen und Patienten mit moderater Konzentration von fHb ergab sich für letztere Gruppe ein zweieinhalbfach erhöhtes Risiko für das Vorliegen einer akuten Nierenschädigung (Odds Ratio [OR] moderate vs. niedrige Konzentration von fHb 2,53 [95% KI 1,44-4,53], $p < 0,001$). Beim Vergleich der Patientengruppen mit hoher und niedriger Konzentration

von fHb ergab sich für Patientinnen und Patienten mit hoher Konzentration von fHb ein mehr als fünffach erhöhtes Risiko für das Vorliegen einer akuten Nierenschädigung (OR hohe vs. niedrige Konzentration von fHb 5,41 [95% KI 2,59-11,8], $p < 0,001$) (Tabelle 6). Auch nach der Adjustierung der Daten in einem logistischen Multivariablen-Modell auf Risikofaktoren wie Alter, chronische Nierenerkrankung, pH-Wert, PEEP und das Vorliegen eines septischen Schocks konnten diese Ergebnisse bestätigt werden (Tabelle 6). Die interne Validität des Modells ergab eine sehr gute Vorhersagekraft für eine akute Nierenschädigung (AUC = 0,89 [95% KI 0,85-0,93]) (Tabelle 6, Abbildung 6B und 6C). Das Hinzufügen der Einteilung der Patientinnen und Patienten in die Gruppen nach der fHb-Konzentration als Risikofaktor für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung des Stadiums 3 nach KDIGO zu den bereits etablierten Risikofaktoren (Alter, chronische Nierenerkrankung, pH-Wert, PEEP und septischer Schock) führte zu einer deutlichen Verbesserung der Vorhersagesicherheit, bei welchen Patientinnen und Patienten eine akute Nierenschädigung vorherrschte (NRI für Eintreten des Ereignisses 57%, $p < 0,001$). Abschließend zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Mortalität innerhalb der ersten 28 Tage zwischen den Gruppen der Patientinnen und Patienten mit niedriger, moderater und hoher Konzentration von fHb bei Beginn der ECMO-Therapie (Tabelle 4).

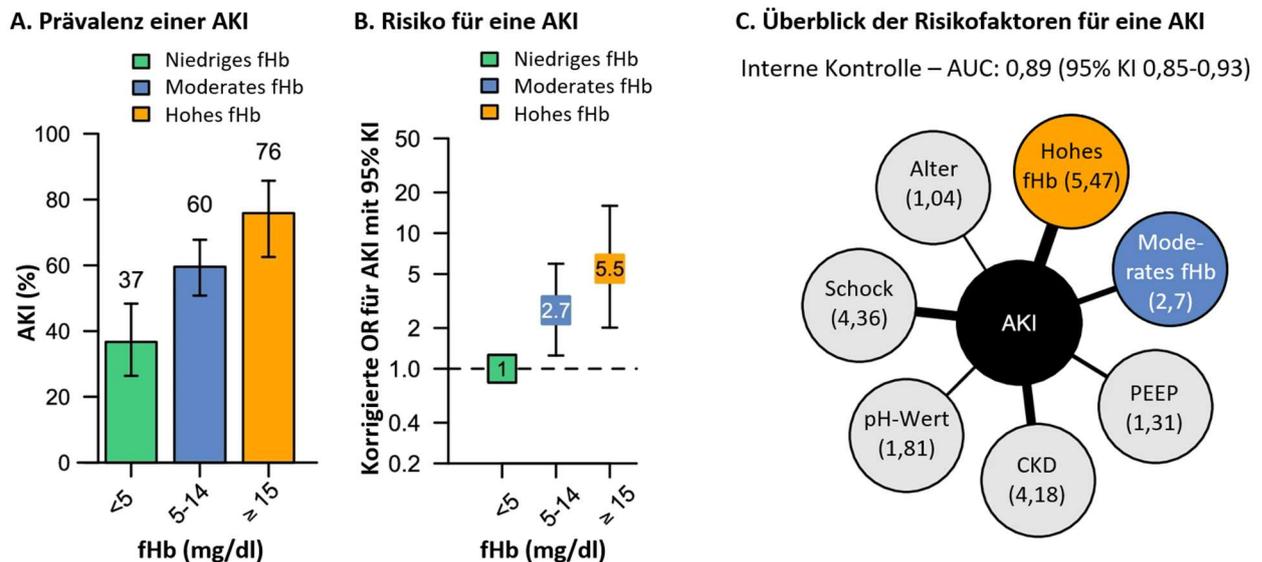


Abbildung 6 Die Konzentration von fHb als Risikofaktor für eine akute Nierenschädigung Stadium 3

Prävalenz der akuten Nierenschädigung Stadium 3 mit 95% Konfidenzintervall in den drei Gruppen der Konzentration von fHb (A). Vergleich des korrigierten Risikos (korrigierte Odds Ratio mit 95% Konfidenzintervall) für eine akute Nierenschädigung Stadium 3 im Vergleich der Gruppen mit niedriger, moderater und hoher Konzentration von fHb, dargestellt als Forest-Plot (B). Überblick der unabhängigen Risikofaktoren und deren korrigierte Odds Ratios (in Klammern ohne 95% Konfidenzintervall) mit der Gruppe mit niedriger Konzentration von fHb als Referenz (entnommen aus dem Multivariablen-Modell) (C).

AKI: akute Nierenschädigung Stadium 3 KDIGO, fHb: freies Hämoglobin, AUC: area under the curve, CKD: chronische Nierenerkrankung, PEEP: positiver endexpiratorischer Beatmungsdruck
Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

Tabelle 6 Begutachtung von Risikofaktoren für akute Nierenschädigung Stadium 3 KDIGO bei Beginn der ECMO-Therapie in einer univariablen und multivariablen Analyse
Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

Modell und Variablen	Univariablenmodell Odds Ratio (95% KI)	p-Wert	Multivariablen-Modell* Odds Ratio (95% KI)	p-Wert
Modell 1				
fHb				
Niedriges fHb	Referenz		Referenz	
Moderates fHb	2.53 (1.44–4.53)	<0.001	2.69 (1.25–5.95)	0.012
Hohes fHb	5.41 (2.59–11.8)	<0.001	5.47 (2.00–15.9)	0.001
Alter	1.02 (1.01–1.04)	0.008	1.03 (1.01–1.06)	0.001
Chronische Lungenerkrankung	0.35 (0.21–0.59)	<0.001	–	
Chronische Nierenerkrankung	3.20 (1.71–8.05)	0.001	4.18 (1.75–15.6)	0.007
Pulmonaler Ursprung	0.40 (0.17–0.86)	0.03	–	
Schwere des ARDS	6.21 (1.59–41.3)	0.02	–	
pH bei ECMO-Beginn	0.94 (0.91–0.96)	<0.001	1.80 (1.30–2.56)	<0.001
PIP bei ECMO-Beginn (pro cmH₂O)	1.07 (1.04–1.11)	<0.001	–	
Pplateau bei ECMO-Beginn (pro cmH₂O)	1.10 (1.06–1.15)	<0.001	–	
PEEP bei ECMO-Beginn (pro cmH₂O)	1.29 (1.20–1.41)	<0.001	1.31 (1.19–1.46)	<0.001
Septischer Schock	5.39 (3.21–9.20)	<0.001	4.35 (2.18–8.97)	<0.001
Modell 2				
fHb und Haptoglobin				
Niedriges fHb	Referenz		Referenz	
Moderates fHb, Haptoglobin ≥2.7 g/l	1.72 (0.57–5.16)	0.32	1.17 (0.24–5.44)	0.11
Moderates fHb, Haptoglobin <2.7 g/l	2.60 (1.44–4.75)	0.001	3.08 (1.37–7.12)	0.007
Hohes fHb, Haptoglobin ≥2.4 g/l	3.44 (0.63–25.9)	0.17	2.89 (0.44–24.9)	0.27
Hohes fHb, Haptoglobin <2.4 g/l	7.08 (3.10–17.5)	<0.001	9.22 (2.80–34.4)	<0.001
Alter	Siehe Modell 1		1.04 (1.02–1.06)	0.001
Chronische Lungenerkrankung	Siehe Modell 1		–	
Chronische Nierenerkrankung	Siehe Modell 1		4.74 (1.84–18.5)	0.005
Pulmonaler Ursprung	Siehe Modell 1		–	
Schwere des ARDS	Siehe Modell 1		–	
pH bei ECMO-Beginn	Siehe Modell 1		1.77 (1.26–2.55)	0.001
PIP bei ECMO-Beginn (pro cmH₂O)	Siehe Modell 1		–	
Pplateau bei ECMO-Beginn (pro cmH₂O)	Siehe Modell 1		–	
PEEP bei ECMO-Beginn (pro cmH₂O)	Siehe Modell 1		1.34 (1.21–1.52)	<0.001
Septischer Schock	Siehe Modell 1		3.97 (1.94–8.39)	<0.001

KI: Konfidenzintervall, fHb: freies Hämoglobin, ARDS: akutes Lungenversagen, ECMO: extrakorporale Membranoxygenierung, PIP: inspiratorischer Spitzendruck, Pplateau: Plateau-Druck, PEEP: positiver endexpiratorischer Beatmungsdruk, AUC: area under the curve

*Multivariable logistische Regression mithilfe eines retrospektiven Variablenselektionsverfahrens, das auf dem Informationskriterium von Akaike (AIC) basiert. Aufgrund der AIC Analyse wurden folgende Variablen aus dem Modell entfernt: Chronische Lungenerkrankung, pulmonaler Ursprung, Schwere des ARDS, PIP bei ECMO-Beginn und Pplateau bei ECMO-Beginn. Die internen Validitäten ergaben jeweils eine sehr gute Vorhersagekraft für Modell 1 AUC = 0,89 (95% KI 0,85-0,93) und Modell 2 AUC = 0,90 (95% KI 0,86-0,93).

3.5 Haptoglobin als protektiver Faktor für eine akute Nierenschädigung

In den Patientengruppen mit moderater und hoher Konzentration von fHb war die Hp-Konzentration bei Patientinnen und Patienten mit akuter Nierenschädigung bei Beginn der ECMO-Therapie im Vergleich zu Patientinnen und Patienten ohne akute Nierenschädigung bei Beginn der ECMO-Therapie signifikant reduziert (Abbildung 7). Dabei hatten Patientinnen und Patienten ohne akute Nierenschädigung sowohl in der Gruppe mit moderater Konzentration von fHb als auch in der Gruppe mit hoher Konzentration von fHb ähnliche Hp-Konzentrationen (Hp-Konzentration bei Patientinnen und Patienten ohne akute Nierenschädigung in der Gruppe mit moderater Konzentration von fHb vs. in der Gruppe mit hoher Konzentration von fHb 1,4 g/l [IQR 0,6-2,1] vs. 1,3 g/l [IQR 0,5-1,8], $p=0,53$). Die Einteilung eines klinischen Grenzwerts einer Konzentration von Hp, die mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit vor dem Vorherrschen einer durch fHb ausgelösten akuten Nierenschädigung schützt, ergab für die Gruppe mit moderater Konzentration von fHb eine Hp-Konzentration über 2,7 g/l und für die Gruppe mit hoher Konzentration von fHb

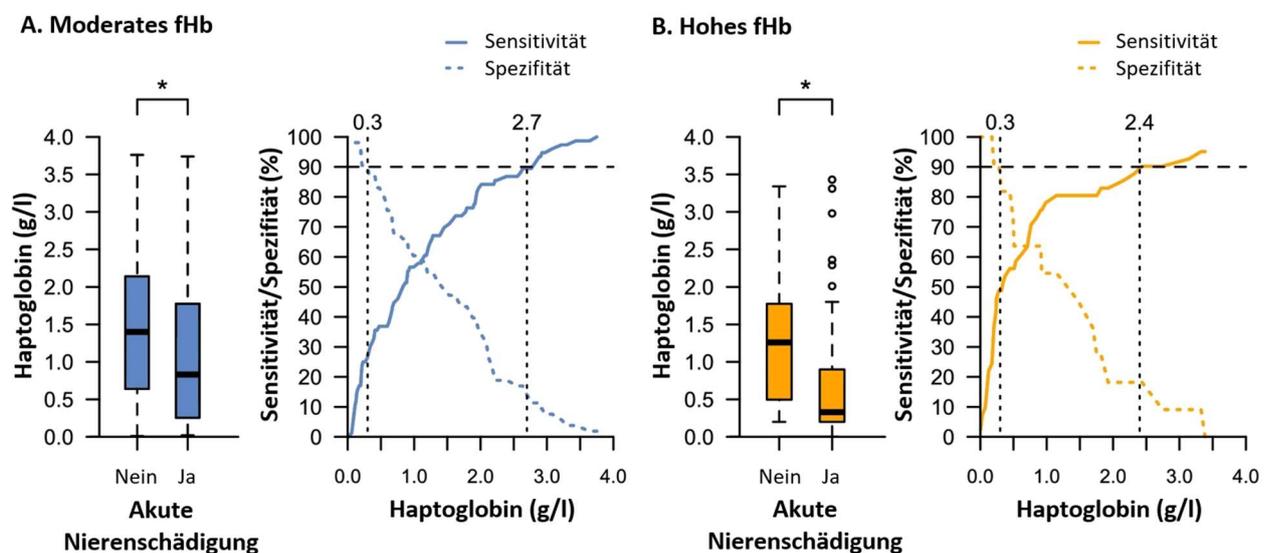


Abbildung 7 Die Rolle von Haptoglobin bei Patientinnen und Patienten mit erhöhter Konzentration von fHb
 Konzentration von Haptoglobin bei Patientinnen und Patienten mit und ohne akute Nierenschädigung Stadium 3 und moderater (A) bzw. hoher (B) Konzentration von fHb. Zusätzlich angegeben ist die jeweilige Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse der Konzentration von Haptoglobin für das Vorliegen einer akuten Nierenschädigung in den Gruppen mit moderater (A) und hoher (B) Konzentration von fHb. Klinische Grenzwerte bei 90% Sensitivität bzw. Spezifität sind markiert. In der Patientengruppe mit moderater Konzentration von fHb hatten 16 (12,4%) Patientinnen und Patienten Konzentrationen von Haptoglobin >2,7 g/l und 27 (20,9%) Patientinnen und Patienten <0,3 g/l. In der Patientengruppe mit hoher Konzentration von fHb hatten 6 (11,5%) Patientinnen und Patienten Konzentrationen von Haptoglobin >2,4 g/l und 21 (40,3%) Patientinnen und Patienten <0,3 g/l.

fHb: freies Hämoglobin

* $p < 0,05$

Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

eine Hp-Konzentration über 2,4 g/l (Sensitivität 89,5% [95% KI 83-96] und 90,2% [95% KI 80-97]). Darüber hinaus zeigte sich, dass auch bei geringeren Hp-Konzentrationen (z.B. 2 g/l) bei Patientinnen und Patienten der beiden Gruppen das Risiko für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung reduziert war (Sensitivität >80%), wohingegen bei Patientinnen und Patienten der Gruppen mit moderater und hoher Konzentration von fHb, die eine Hp-Konzentration unter 0,3 g/l hatten, mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit eine akute Nierenschädigung vorherrschte (Spezifität 89% [95% KI 79-96] und 91% [95% KI 73-99]). Patientinnen und Patienten der Gruppe mit moderater Konzentration von fHb und einer Hp-Konzentration >2,7 g/l hatten ein ähnliches

Risiko für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung wie Patientinnen und Patienten der Gruppe mit niedriger Konzentration von fHb (OR moderate Konzentration von fHb und Hp-Konzentration >2,7 g/l vs. niedrige Konzentration von fHb 1,17 [95% KI 0,24-5,44], $p=0,83$) (Abbildung 8). Selbst bei Patientinnen und Patienten mit hoher Konzentration von fHb führte eine Anwendung des Grenzwerts der Hp-Konzentration über 2,4 g/l zu einer Angleichung des Risikos für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung an das Risiko von Patientinnen und Patienten mit niedriger Konzentration von fHb (OR hohe Konzentration von fHb und Hp-Konzentration >2,4 g/l vs. niedrige Konzentration von fHb 2,89 [95% KI 0,44-24,9], $p=0,27$) (Abbildung 8).

Risiko bei Nutzung der 90% Sensitivitätsgrenzwerte

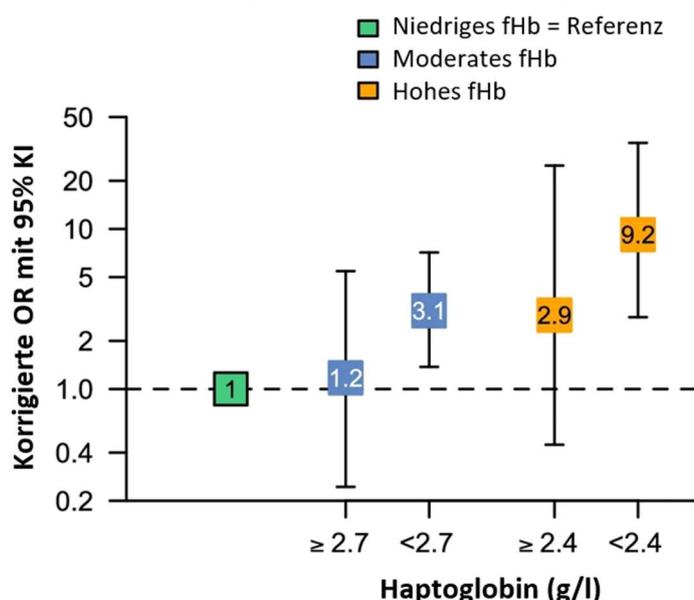


Abbildung 8

Die Konzentration von fHb als Risikofaktor für eine akute Nierenschädigung unter Beachtung der Grenzwerte der Konzentration von Haptoglobin

Mithilfe vertikal angeordneter Forest-Plots wird das korrigierte Risiko (korrigierte Odds Ratios mit 95% Konfidenzintervall) für eine akute Nierenschädigung Stadium 3 bei ECMO-Beginn in den Patientengruppe mit niedriger, moderater und hoher Konzentration von fHb dargestellt. Die Gruppen mit moderater und hoher Konzentration von fHb wurden anhand des 90% Sensitivitätsgrenzwerts für Haptoglobin in jeweils zwei Subgruppen geteilt. Die Gruppe mit niedriger Konzentration von fHb wurde als Referenz verwendet.

fHb: freies Hämoglobin, OR: Odds Ratio, KI: Konfidenzintervall

Quelle: modifiziert nach (1), Lizenz: CC BY 4.0

4. Diskussion

4.1 Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit konnte in einer großen Kohorte von Patientinnen und Patienten mit ARDS und VV ECMO-Therapie gezeigt werden, dass eine erhöhte Konzentration von fHb bei Beginn der ECMO-Therapie ein unabhängiger Risikofaktor für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO ist. Dafür konnten Grenzwerte der Konzentration von fHb festgelegt werden, über denen das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung sehr wahrscheinlich war. Auch konnte erstmals bei Patientinnen und Patienten mit ARDS und VV ECMO-Therapie eine Assoziation der Konzentration von Hp mit dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 bei erhöhten Konzentrationen von fHb festgestellt werden. Zusätzlich konnte die Rolle, die die Höhe der Konzentration von Hp bei Beginn der ECMO-Therapie als protektiver Faktor für das Vorliegen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 hat, überprüft werden. Außerdem war die Festlegung von Grenzwerten der Konzentration von Hp, die verbunden mit einer hohen Sensitivität vor dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung schützen können, möglich.

4.2 Interpretation der Ergebnisse und aktueller Forschungsstand

Eine Hämolyse kann bei Patientinnen und Patienten mit schweren Erkrankungen wie einer Sepsis oder einem ARDS und während einer ECMO-Therapie aus verschiedenen Gründen auftreten (3, 70, 71, 79-81). Unabhängig von der Ursache der Hämolyse ist das dadurch auftretende fHb durch seine Reaktivität an der Schädigung umliegender Strukturen beteiligt (14, 18, 20, 24-30). Selbst bei gesunden Probandinnen und Probanden kam es durch die Verabreichung von fHb zu einer klinisch messbaren Veränderung relevanter Organsysteme (14). Bei Patientinnen und Patienten mit erhöhter Konzentration von fHb aufgrund einer Sepsis, eines ARDS oder eines extrakorporalen Kreislaufs ist fHb mit einer erhöhten Mortalität und einer akuten Schädigung der Niere assoziiert (31, 32, 34, 35, 83-85, 93). Diese Ergebnisse konnten in der vorliegenden Arbeit für Patientinnen und Patienten mit einem ARDS und gleichzeitiger Therapie mit einer VV ECMO bestätigt werden. Die Prävalenz einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO stieg dabei proportional zur Konzentration von fHb bei Beginn der ECMO-Therapie bis zu einem Plateau mit einem Wert von 15 mg/dl an. Es lässt sich vermuten, dass bei noch höheren

Werten möglicherweise keine weitergehende Schädigung der Niere entsteht. Das Ergebnis, dass eine erhöhte Konzentration von fHb mit dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung bei Patientinnen und Patienten mit einer VA ECMO assoziiert ist, konnte in dieser Studie somit auch auf Patientinnen und Patienten mit einer Therapie mit der deutlich weniger invasiveren VV ECMO übertragen werden (85). Mit Hilfe des statistischen Ansatzes der Grauzoneneinteilung konnten dabei für diese Kohorte von Patientinnen und Patienten Grenzwerte einer Konzentration von fHb ermittelt werden, die mit hoher Sensitivität und Spezifität mit dem Vorliegen bzw. Nicht-Vorliegen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO assoziiert sind. Interessanterweise lag dabei der Grenzwert, bei dem mit hoher Wahrscheinlichkeit eine akute Nierenschädigung vorlag, in einem Bereich einer fHb-Konzentration, die deutlich unterhalb der fHb-Konzentration liegt, die in anderen Studien mit dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung und einer erhöhten Mortalität assoziiert war (81, 83, 85). In der vorliegenden Kohorte zeigte sich eine fHb-Konzentration von über 15mg/dl auch nach einer Adjustierung in einem Multivariablen-Modell als ein unabhängiger Risikofaktor für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung.

Eine der Zielsetzungen dieser Arbeit war es, das Verhalten und die Korrelation der Konzentration von Hp in einer großen Kohorte von Intensivpatientinnen und -patienten mit intravasaler Hämolyse zu untersuchen, da Hp als Bindeprotein und Antagonist für fHb fungiert (37, 49). Dabei konnte eine Assoziation der Konzentration von Hp mit dem verminderten Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung in den Gruppen der Patientinnen und Patienten mit moderater und hoher Konzentration von fHb nachgewiesen werden. Dies spricht dafür, dass, wie in Tiermodellen beschrieben, eine hohe Konzentration von Hp, die schädigenden Effekte von fHb abmildern bzw. verhindern kann (23, 53, 54). Da eine hohe Konzentration von Hp dazu beitragen kann, die Akkumulation von fHb in der Niere zu reduzieren, lässt dies die Vermutung zu, dass Hp im vorliegenden Patientenkollektiv an dem verminderten Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO konzentrationsabhängig beteiligt ist (32). Ähnlich zu den Ergebnissen bei fHb lässt der statistische Ansatz der Grauzoneneinteilung die Ermittlung einer Konzentration von Hp zu, über der das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 mit hoher Sensitivität für Patientinnen und Patienten mit moderater und hoher Konzentration von fHb selten ist. Da der Grenzwert der Konzentration von Hp mit 2,7 g/l in der Patientengruppe mit moderater Konzentration von fHb sogar höher liegt als mit 2,4 g/l in der Patientengruppe mit hoher Konzentration von fHb, legt dies den Schluss nahe, dass es

unabhängig von der Konzentration von fHb bei einer Überlastung des Hp-Systems zu einer Nierenschädigung kommen kann. Ebenfalls für die wichtige Rolle von Hp beim Schutz der Niere spricht die Angleichung des Risikos für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 von Patientinnen und Patienten mit hoher Konzentration von Hp in den Patientengruppen mit moderater und hoher fHb-Konzentration an das Risiko von Patientinnen und Patienten mit niedriger fHb-Konzentration. Pathophysiologisch könnte die feste Bindung von Hp an fHb mit folgender Komplexbildung und konsekutiver Verhinderung der renalen Filtrierbarkeit des fHb-Hp-Komplexes für die Nierenprotektion verantwortlich sein, da die renalen Tubulusstrukturen so nicht in Kontakt mit fHb kommen (43, 44). Im Gegenzug ergab die Grauzoneneinteilung für den Grenzwert der Konzentration von Hp, unter dem mit hoher Spezifität eine akute Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO in den Patientengruppen mit moderater und hoher Konzentration von fHb vorlag, eine mit 0,3 g/l sehr niedrige Konzentration. Hp scheint daher selbst bei geringen Konzentrationen noch in der Lage zu sein, in gewissem Maß vor dem Vorherrschen einer durch fHb ausgelösten akuten Nierenschädigung zu schützen. Bisher wurde in den meisten Studien fHb zur Evaluation einer Hämolyse während des Einsatzes von ECMO-Systemen genutzt (80, 82). Die gewonnenen Daten dieser Arbeit sprechen ebenfalls für die Relevanz von Hp als Parameter zur Detektion einer klinisch relevanten Hämolyse.

Das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO war in der untersuchten Kohorte von Patientinnen und Patienten unabhängig von der Genese des ARDS. Außerdem zeigte sich, bis auf eine erstaunlicherweise höhere Assoziation einer chronischen Lungenerkrankung mit dem Nicht-Vorliegen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3, keine Assoziation relevanter extrarenaler Vorerkrankungen mit dem Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3.

4.3 Aktuelle klinische Anwendung

Wie Schaer et al. zusammengefasst haben, beschreiben erste klinische Studien mit geringer Fallzahl sowie einige Fallberichte den Ansatz einer möglichen Behandlung einer nach intravasaler Hämolyse ausgelösten Hämoglobinurie mittels der intravenösen Applikation von Hp (23). Dabei scheint Hp für die Prophylaxe einer akuten Nierenschädigung im Rahmen einer intravasalen Hämolyse selbst bei der relativ kurzen Behandlungsdauer mit einem extrakorporalen Kreislauf in Form einer Herz-Lungen-Maschine ein mögliches pharmakologisches Therapeutikum zu sein (100). In Japan wurde in Einzelfällen von der

Verhinderung einer akuten Nierenschädigung durch die Applikation von Hp während Operationen unter Einsatz eines kardiopulmonalen Bypasses berichtet (101). Die vorliegende Arbeit stützt die Vermutung, dass eine Verabreichung von Hp in Situationen, die mit einer Hämolyse einhergehen, dazu beitragen könnte, die Niere vor einer Schädigung durch fHb zu schützen.

4.4 Stärken und Schwächen der Studie

Die vorliegende Arbeit konnte aufgrund des langen Beobachtungszeitraums eine große Anzahl von Patientinnen und Patienten mit ARDS und VV ECMO-Therapie einschließen und die beschriebenen Thesen anhand einer großen Kohorte überprüfen. Zudem konnte der aus pathophysiologischen Erwägungen sensitive Hämolyseparameter Hp auf seine Korrelation und sein Verhalten beim Vorherrschen einer Hämolyse und einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO evaluiert werden. Der Ansatz der Grauzoneneinteilung ermöglichte die Ermittlung klinisch relevanter Grenzwerte der Konzentration von fHb und Hp mit hoher Sensitivität und Spezifität für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3.

Allerdings hat die vorliegende Arbeit aufgrund ihres Designs und Ablaufs mehrere Limitationen. Zunächst erfolgte die Datenerhebung aus Behandlungsdaten, die im klinischen Routinebetrieb der intensivmedizinischen Einheit der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin CCM/CVK erhoben wurden, retrospektiv. Es wurden nur Patientinnen und Patienten mit einem ARDS und einer VV ECMO-Therapie eingeschlossen. Demnach zeigten alle Patientinnen und Patienten schon bei Studieneinschluss eine hohe Erkrankungsschwere. Dies könnte ein relevanter Faktor für die mit 56,4% [95% KI, 50,2-62,3] insgesamt sehr häufig vorherrschende akute Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO in diesem Patientenkollektiv sein. Aufgrund der Erhebung der Daten aus dem klinischen Routinebetrieb auf der intensivmedizinischen Einheit der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin CCM/CVK, lag bei 182 Patientinnen und Patienten keine Konzentration von fHb am Tag des Therapiebeginns mit ECMO vor. Diese Patientinnen und Patienten mussten daher aus der Studie ausgeschlossen werden. Weiterhin litten einige Patientinnen und Patienten bereits vor Einschluss in die Studie an einer chronischen Nierenerkrankung, die einen relevanten Risikofaktor für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO bei Intensivpatientinnen und -patienten darstellt (90).

Aufgrund des Designs einer retrospektiven Kohortenstudie ist grundsätzlich kein Kausalitätsnachweis, sondern ausschließlich der Nachweis einer Assoziation der gewonnenen Ergebnisse möglich. Außer einer Hämolyse, die zu einer Erhöhung der Konzentration von fHb bzw. Verminderung der Konzentration von Hp geführt hat, könnte auch eine andere Ursache, die klinisch nicht erkannt wurde und Bestandteil des kritischen Gesamtzustandes der Patientinnen und Patienten ist, für die Erhöhung bzw. Verminderung der Konzentration der erhobenen Laborparameter und das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO verantwortlich sein. Um diesem Problem zu begegnen, wurde mittels einer Adjustierung in einem Multivariablen-Modell in der statistischen Auswertung eine Gewichtung der bereits bekannten wichtigen Risikofaktoren für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 vorgenommen. Eine Übertragbarkeit der gewonnenen Ergebnisse auf ein anderes Patientenkollektiv ist aufgrund des Studiendesigns daher, wenn überhaupt, nur eingeschränkt möglich.

4.5 Implikationen für die Praxis und die zukünftige Forschung

Um die klinische Relevanz der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zu prüfen und um sie ggf. auf andere Patientenkollektive übertragen zu können, ist die Durchführung von prospektiven klinischen Studien, die das Verhalten der Konzentration von fHb und Hp in Abhängigkeit der intravasalen Hämolyse untersuchen, erforderlich. Diese sind auch für die Evaluierung der pharmakologischen Potentiale von Hp zur Prophylaxe einer durch eine Hämolyse ausgelösten akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO notwendig. Die vorliegende Arbeit bietet dafür Ansätze für potenzielle Studienendpunkte sowie erste Hinweise auf die Höhe notwendiger Konzentrationen von Hp, die als therapeutisches Target evaluiert werden sollten.

5. Schlussfolgerungen

Eine erhöhte Konzentration von fHb ist ein unabhängiger Risikofaktor für das Vorherrschen einer akuten Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO bei Patientinnen und Patienten mit einem ARDS und Therapie mit VV ECMO. Anhand der gewonnenen Ergebnisse der Studie lässt sich vermuten, dass die Schädigung der Nieren bereits bei verhältnismäßig geringen Konzentrationen von fHb vorherrschen kann. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit können als Grundlage für weitere klinisch-prospektive Studien bei Patientinnen und Patienten mit ARDS dienen und die Definition eines Endpunkts zur Untersuchung des Einflusses der ECMO-Therapie auf das Verhalten der Konzentration von fHb und den klinischen Outcome ermöglichen. Darüber hinaus ist sogar bereits die Festlegung eines ungefähren Bereichs der Konzentration von fHb möglich, in dem, bei Vorherrschen entsprechender Konzentrationen von fHb, eine durch fHb-ausgelöste akute Nierenschädigung als Komplikation evaluiert werden sollte. Weitere Ziele zukünftiger Studien könnte die frühzeitige Erkennung von Patientinnen und Patienten mit schwerem ARDS sein, bei denen die Konzentration von fHb einen kritischen Bereich erreicht, z.B. mittels eines bettseitig verfügbaren Testsystems für fHb.

Bezüglich des fHb-Bindeproteins Hp zeigte sich, dass Hp dazu beitragen kann, eine durch fHb-ausgelöste akute Nierenschädigung Stadium 3 nach KDIGO zu verhindern. Auch bei geringen Konzentrationen von Hp scheint dieses Protein noch an einer Begrenzung der durch das fHb ausgelösten Schädigung der Nieren beteiligt zu sein. Ein laborchemisch messbarer Verbrauch von Hp sollte daher in der Früherkennung einer durch Hämolyse ausgelösten Nierenschädigung weiter evaluiert werden. Darüber hinaus könnte eine Substitutionstherapie mit Hp einen neuen Ansatz zur Prävention einer akuten Nierenschädigung bei Patientinnen und Patienten mit ARDS und ECMO-Therapie darstellen.

Literaturverzeichnis

1. Graw JA, Hildebrandt P, Krannich A, Balzer F, Spies C, Francis RC, Kuebler WM, Weber-Carstens S, Menk M, Hunsicker O. The role of cell-free hemoglobin and haptoglobin in acute kidney injury in critically ill adults with ARDS and therapy with VV ECMO. *Crit Care*. 2022;26(1):50.
2. Kuhn V, Diederich L, Keller TCSt, Kramer CM, Luckstadt W, Panknin C, Suvorava T, Isakson BE, Kelm M, Cortese-Krott MM. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Antioxid Redox Signal*. 2017;26(13):718-42.
3. Vercaemst L. Hemolysis in cardiac surgery patients undergoing cardiopulmonary bypass: a review in search of a treatment algorithm. *J Extra Corpor Technol*. 2008;40(4):257-67.
4. Helms C, Kim-Shapiro DB. Hemoglobin-mediated nitric oxide signaling. *Free Radic Biol Med*. 2013;61:464-72.
5. Felix Hoppe-Seyler (1825-1895) physiological chemist. *JAMA*. 1970;211(3):493-4.
6. Nandakumar SK, Ulirsch JC, Sankaran VG. Advances in understanding erythropoiesis: evolving perspectives. *Br J Haematol*. 2016;173(2):206-18.
7. Weber RE, Campbell KL. Temperature dependence of haemoglobin-oxygen affinity in heterothermic vertebrates: mechanisms and biological significance. *Acta Physiol (Oxf)*. 2011;202(3):549-62.
8. Smith JE. Erythrocyte membrane: structure, function, and pathophysiology. *Vet Pathol*. 1987;24(6):471-6.
9. Mohandas N, Gallagher PG. Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*. 2008;112(10):3939-48.
10. Notta F, Zandi S, Takayama N, Dobson S, Gan OI, Wilson G, Kaufmann KB, McLeod J, Laurenti E, Dunant CF, McPherson JD, Stein LD, Dror Y, Dick JE. Distinct routes of lineage development reshape the human blood hierarchy across ontogeny. *Science*. 2016;351(6269):aab2116.
11. Shemin D, Rittenberg D. The life span of the human red blood cell. *J Biol Chem*. 1946;166(2):627-36.
12. Callender ST PE, Witts LJ. The Life-Span of the Red Cell in Man. *The Journal of Pathology und Bacteriology*. 1945;57(1):129-39.
13. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med*. 1994;120(3):227-37.
14. Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA*. 2005;293(13):1653-62.
15. Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, Patel RP, Reiter CD, Martyr S, Yang BK, Waclawiw MA, Zalos G, Xu X, Huang KT, Shields H, Kim-Shapiro DB, Schechter AN, Cannon RO, 3rd, Gladwin MT. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med*. 2003;9(12):1498-505.
16. Pawloski JR, Hess DT, Stamler JS. Export by red blood cells of nitric oxide bioactivity. *Nature*. 2001;409(6820):622-6.
17. Jeffers A, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Computation of plasma hemoglobin nitric oxide scavenging in hemolytic anemias. *Free Radic Biol Med*. 2006;41(10):1557-65.

18. Balla J, Vercellotti GM, Viktória J, Yachie A, Zsuzsa V, Jacob HS, Eaton JW, György B. Heme, Heme Oxygenase, and Ferritin: How the Vascular Endothelium Survives (and Dies) in an Iron-Rich Environment. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2007;9(12).
19. Bunn HF, Jandl JH. Exchange of heme among hemoglobins and between hemoglobin and albumin. *J Biol Chem*. 1968;243(3):465-75.
20. Merle NS, Grunenwald A, Rajaratnam H, Gnemmi V, Frimat M, Figueres ML, Knockaert S, Bouzekri S, Charue D, Noe R, Robe-Rybikine T, Le-Hoang M, Brinkman N, Gentinetta T, Edler M, Petrillo S, Tolosano E, Miescher S, Le Jeune S, Houillier P, Chauvet S, Rabant M, Dimitrov JD, Fremeaux-Bacchi V, Blanc-Brude OP, Roumenina LT. Intravascular hemolysis activates complement via cell-free heme and heme-loaded microvesicles. *JCI Insight*. 2018;3(12).
21. Jia Y, Buehler PW, Boykins RA, Venable RM, Alayash AI. Structural basis of peroxide-mediated changes in human hemoglobin: a novel oxidative pathway. *J Biol Chem*. 2007;282(7):4894-907.
22. Windsant ICV, Hanssen SJ, Buurman WA, Jacobs MJ. Cardiovascular surgery and organ damage: Time to reconsider the role of hemolysis. *J Thorac Cardiovasc Sur*. 2011;142(1):1-11.
23. Schaer DJ, Buehler PW, Alayash AI, Belcher JD, Vercellotti GM. Hemolysis and free hemoglobin revisited: exploring hemoglobin and heme scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood*. 2013;121(8):1276-84.
24. Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, Hogg N, Cannon RO, 3rd, Schechter AN, Gladwin MT. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nat Med*. 2002;8(12):1383-9.
25. Sadrzadeh SM, Graf E, Panter SS, Hallaway PE, Eaton JW. Hemoglobin. A biologic fenton reagent. *J Biol Chem*. 1984;259(23):14354-6.
26. Balla G, Vercellotti GM, Muller-Eberhard U, Eaton J, Jacob HS. Exposure of endothelial cells to free heme potentiates damage mediated by granulocytes and toxic oxygen species. *Lab Invest*. 1991;64(5):648-55.
27. Figueiredo RT, Fernandez PL, Mourao-Sa DS, Porto BN, Dutra FF, Alves LS, Oliveira MF, Oliveira PL, Graca-Souza AV, Bozza MT. Characterization of heme as activator of Toll-like receptor 4. *J Biol Chem*. 2007;282(28):20221-9.
28. Setty BN, Betal SG, Zhang J, Stuart MJ. Heme induces endothelial tissue factor expression: potential role in hemostatic activation in patients with hemolytic anemia. *J Thromb Haemost*. 2008;6(12):2202-9.
29. Dutra FF, Alves LS, Rodrigues D, Fernandez PL, de Oliveira RB, Golenbock DT, Zamboni DS, Bozza MT. Hemolysis-induced lethality involves inflammasome activation by heme. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(39):E4110-8.
30. Balla G, Jacob HS, Eaton JW, Belcher JD, Vercellotti GM. Hemin: a possible physiological mediator of low density lipoprotein oxidation and endothelial injury. *Arterioscler Thromb*. 1991;11(6):1700-11.
31. Vermeulen Windsant IC, de Wit NC, Sertorio JT, van Bijnen AA, Ganushchak YM, Heijmans JH, Tanus-Santos JE, Jacobs MJ, Maessen JG, Buurman WA. Hemolysis during cardiac surgery is associated with increased intravascular nitric oxide consumption and perioperative kidney and intestinal tissue damage. *Front Physiol*. 2014;5:340.
32. Van Avondt K, Nur E, Zeerleder S. Mechanisms of haemolysis-induced kidney injury. *Nat Rev Nephrol*. 2019;15(11):671-92.

33. Moussavian MR, Slotta JE, Kollmar O, Menger MD, Schilling MK, Gronow G. Hemoglobin induces cytotoxic damage of glycine-preserved renal tubules. *Transpl Int.* 2007;20(10):884-94.
34. Adamzik M, Hamburger T, Petrat F, Peters J, de Groot H, Hartmann M. Free hemoglobin concentration in severe sepsis: methods of measurement and prediction of outcome. *Crit Care.* 2012;16(4):R125.
35. Janz DR, Bastarache JA, Peterson JF, Sills G, Wickersham N, May AK, Roberts LJ, 2nd, Ware LB. Association between cell-free hemoglobin, acetaminophen, and mortality in patients with sepsis: an observational study. *Crit Care Med.* 2013;41(3):784-90.
36. Lei C, Berra L, Rezoagli E, Yu B, Dong H, Yu S, Hou L, Chen M, Chen W, Wang H, Zheng Q, Shen J, Jin Z, Chen T, Zhao R, Christie E, Sabbisetti VS, Nordio F, Bonventre JV, Xiong L, Zapol WM. Nitric Oxide Decreases Acute Kidney Injury and Stage 3 Chronic Kidney Disease after Cardiac Surgery. *Am J Respir Crit Care Med.* 2018;198(10):1279-87.
37. Andersen CBF, Stodkilde K, Saederup KL, Kuhlee A, Raunser S, Graversen JH, Moestrup SK. Haptoglobin. *Antioxid Redox Signal.* 2017;26(14):814-31.
38. Bode JG, Albrecht U, Haussinger D, Heinrich PC, Schaper F. Hepatic acute phase proteins--regulation by IL-6- and IL-1-type cytokines involving STAT3 and its crosstalk with NF-kappaB-dependent signaling. *Eur J Cell Biol.* 2012;91(6-7):496-505.
39. Smithies O. Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem J.* 1955;61(4):629-41.
40. Smithies O, Walker NF. Notation for serum-protein groups and the genes controlling their inheritance. *Nature.* 1956;178(4535):694-5.
41. Smithies O, Walker NF. Genetic control of some serum proteins in normal humans. *Nature.* 1955;176(4496):1265-6.
42. Kerchberger VE, Bastarache JA, Shaver CM, Nagata H, McNeil JB, Landstreet SR, Putz ND, Yu WK, Jesse J, Wickersham NE, Sidorova TN, Janz DR, Parikh CR, Siew ED, Ware LB. Haptoglobin-2 variant increases susceptibility to acute respiratory distress syndrome during sepsis. *JCI Insight.* 2019;4(21).
43. Banerjee S, Jia Y, Siburt CJ, Abraham B, Wood F, Bonaventura C, Henkens R, Crumbliss AL, Alayash AI. Haptoglobin alters oxygenation and oxidation of hemoglobin and decreases propagation of peroxide-induced oxidative reactions. *Free Radic Biol Med.* 2012;53(6):1317-26.
44. Cooper CE, Schaer DJ, Buehler PW, Wilson MT, Reeder BJ, Silkstone G, Svistunenko DA, Bulow L, Alayash AI. Haptoglobin binding stabilizes hemoglobin ferryl iron and the globin radical on tyrosine beta145. *Antioxid Redox Signal.* 2013;18(17):2264-73.
45. Andersen CB, Torvund-Jensen M, Nielsen MJ, de Oliveira CL, Hersleth HP, Andersen NH, Pedersen JS, Andersen GR, Moestrup SK. Structure of the haptoglobin-haemoglobin complex. *Nature.* 2012;489(7416):456-9.
46. Alayash AI, Andersen CB, Moestrup SK, Bulow L. Haptoglobin: the hemoglobin detoxifier in plasma. *Trends Biotechnol.* 2013;31(1):2-3.
47. Hugelshofer M, Buzzi RM, Schaer CA, Richter H, Akeret K, Anagnostakou V, Mahmoudi L, Vaccani R, Vallelian F, Deuel JW, Kronen PW, Kulcsar Z, Regli L, Baek JH, Pires IS, Palmer AF, Dennler M, Humar R, Buehler PW, Kircher PR, Keller E, Schaer DJ. Haptoglobin administration into the subarachnoid space prevents hemoglobin-induced cerebral vasospasm. *J Clin Invest.* 2019;129(12):5219-35.

48. Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, Sonne O, Hoffman HJ, Law SK, Moestrup SK. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature*. 2001;409(6817):198-201.
49. Schaer CA, Schoedon G, Imhof A, Kurrer MO, Schaer DJ. Constitutive endocytosis of CD163 mediates hemoglobin-heme uptake and determines the noninflammatory and protective transcriptional response of macrophages to hemoglobin. *Circ Res*. 2006;99(9):943-50.
50. Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1968;61(2):748-55.
51. Thomsen JH, Etzerodt A, Svendsen P, Moestrup SK. The haptoglobin-CD163-heme oxygenase-1 pathway for hemoglobin scavenging. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:523652.
52. Vile GF, Tyrrell RM. Oxidative stress resulting from ultraviolet A irradiation of human skin fibroblasts leads to a heme oxygenase-dependent increase in ferritin. *J Biol Chem*. 1993;268(20):14678-81.
53. Chintagari NR, Nguyen J, Belcher JD, Vercellotti GM, Alayash AI. Haptoglobin attenuates hemoglobin-induced heme oxygenase-1 in renal proximal tubule cells and kidneys of a mouse model of sickle cell disease. *Blood Cells Mol Dis*. 2015;54(3):302-6.
54. Fagoonee S, Gburek J, Hirsch E, Marro S, Moestrup SK, Laurberg JM, Christensen EI, Silengo L, Altruda F, Tolosano E. Plasma protein haptoglobin modulates renal iron loading. *Am J Pathol*. 2005;166(4):973-83.
55. Force ADT, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA*. 2012;307(23):2526-33.
56. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet*. 1967;2(7511):319-23.
57. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, Gattinoni L, van Haren F, Larsson A, McAuley DF, Ranieri M, Rubenfeld G, Thompson BT, Wrigge H, Slutsky AS, Pesenti A, Investigators LS, Group ET. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA*. 2016;315(8):788-800.
58. Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med*. 2017;377(6):562-72.
59. Villar J, Blanco J, Kacmarek RM. Current incidence and outcome of the acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Crit Care*. 2016;22(1):1-6.
60. Villar J, Blanco J, Anon JM, Santos-Bouza A, Blanch L, Ambros A, Gandia F, Carriedo D, Mosteiro F, Basaldua S, Fernandez RL, Kacmarek RM, Network A. The ALIEN study: incidence and outcome of acute respiratory distress syndrome in the era of lung protective ventilation. *Intensive Care Med*. 2011;37(12):1932-41.
61. Li G, Malinchoc M, Cartin-Ceba R, Venkata CV, Kor DJ, Peters SG, Hubmayr RD, Gajic O. Eight-year trend of acute respiratory distress syndrome: a population-based study in Olmsted County, Minnesota. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(1):59-66.
62. Katzenstein AL, Bloor CM, Leibow AA. Diffuse alveolar damage--the role of oxygen, shock, and related factors. A review. *Am J Pathol*. 1976;85(1):209-28.
63. Marshall R, Bellingan G, Laurent G. The acute respiratory distress syndrome: fibrosis in the fast lane. *Thorax*. 1998;53(10):815-7.

64. Piantadosi CA, Schwartz DA. The acute respiratory distress syndrome. *Ann Intern Med.* 2004;141(6):460-70.
65. Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000;342(18):1334-49.
66. Esteban A, Fernandez-Segoviano P, Frutos-Vivar F, Aramburu JA, Najera L, Ferguson ND, Alia I, Gordo F, Rios F. Comparison of clinical criteria for the acute respiratory distress syndrome with autopsy findings. *Ann Intern Med.* 2004;141(6):440-5.
67. Thille AW, Esteban A, Fernandez-Segoviano P, Rodriguez JM, Aramburu JA, Penuelas O, Cortes-Puch I, Cardinal-Fernandez P, Lorente JA, Frutos-Vivar F. Comparison of the Berlin definition for acute respiratory distress syndrome with autopsy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187(7):761-7.
68. Acute Respiratory Distress Syndrome N, Brower RG, Matthay MA, Morris A, Schoenfeld D, Thompson BT, Wheeler A. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000;342(18):1301-8.
69. Gattinoni L, Tognoni G, Pesenti A, Taccone P, Mascheroni D, Labarta V, Malacrida R, Di Giulio P, Fumagalli R, Pelosi P, Brazzi L, Latini R, Prone-Supine Study G. Effect of prone positioning on the survival of patients with acute respiratory failure. *N Engl J Med.* 2001;345(8):568-73.
70. Effenberger-Neidnicht K, Hartmann M. Mechanisms of Hemolysis During Sepsis. *Inflammation.* 2018;41(5):1569-81.
71. Lin T, Maita D, Thundivalappil SR, Riley FE, Hamsch J, Van Marter LJ, Christou HA, Berra L, Fagan S, Christiani DC, Warren HS. Hemopexin in severe inflammation and infection: mouse models and human diseases. *Crit Care.* 2015;19:166.
72. Janz DR, Bastarache JA, Sills G, Wickersham N, May AK, Bernard GR, Ware LB. Association between haptoglobin, hemopexin and mortality in adults with sepsis. *Crit Care.* 2013;17(6):R272.
73. Brodie D, Bacchetta M. Extracorporeal membrane oxygenation for ARDS in adults. *N Engl J Med.* 2011;365(20):1905-14.
74. Zapol WM, Snider MT, Hill JD, Fallat RJ, Bartlett RH, Edmunds LH, Morris AH, Peirce EC, 2nd, Thomas AN, Proctor HJ, Drinker PA, Pratt PC, Bagniewski A, Miller RG, Jr. Extracorporeal membrane oxygenation in severe acute respiratory failure. A randomized prospective study. *JAMA.* 1979;242(20):2193-6.
75. Gattinoni L, Vasques F, Quintel M. Use of ECMO in ARDS: does the EOLIA trial really help? *Crit Care.* 2018;22(1):171.
76. Hemmila MR, Rowe SA, Boules TN, Miskulin J, McGillicuddy JW, Schuerer DJ, Haft JW, Swaniker F, Arbabi S, Hirschl RB, Bartlett RH. Extracorporeal life support for severe acute respiratory distress syndrome in adults. *Ann Surg.* 2004;240(4):595-605; discussion -7.
77. Peek GJ, Mugford M, Tiruvoipati R, Wilson A, Allen E, Thalanany MM, Hibbert CL, Truesdale A, Clemens F, Cooper N, Firmin RK, Elbourne D, collaboration Ct. Efficacy and economic assessment of conventional ventilatory support versus extracorporeal membrane oxygenation for severe adult respiratory failure (CESAR): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet.* 2009;374(9698):1351-63.
78. Combes A, Hajage D, Capellier G, Demoule A, Lavoue S, Guervilly C, Da Silva D, Zafrani L, Tirot P, Veber B, Maury E, Levy B, Cohen Y, Richard C, Kalfon P, Bouadma L, Mehdaoui H, Beduneau G, Lebreton G, Brochard L, Ferguson ND,

- Fan E, Slutsky AS, Brodie D, Mercat A, Eolia Trial Group R, Ecmonet. Extracorporeal Membrane Oxygenation for Severe Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med*. 2018;378(21):1965-75.
79. Toomasian JM, Bartlett RH. Hemolysis and ECMO pumps in the 21st Century. *Perfusion*. 2011;26(1):5-6.
80. Lehle K, Philipp A, Zeman F, Lunz D, Lubnow M, Wendel HP, Gobolos L, Schmid C, Muller T. Technical-Induced Hemolysis in Patients with Respiratory Failure Supported with Venovenous ECMO - Prevalence and Risk Factors. *PLoS One*. 2015;10(11):e0143527.
81. Materne LA, Hunsicker O, Menk M, Graw JA. Hemolysis in patients with Extracorporeal Membrane Oxygenation therapy for severe Acute Respiratory Distress Syndrome - a systematic review of the literature. *Int J Med Sci*. 2021;18(8):1730-8.
82. Organization ELS. ELSO Guidelines for Cardiopulmonary Extracorporeal Life Support, 2017 [Version 1.4, Zugriff über: https://www.else.org/Portals/0/ELSO%20Guidelines%20General%20All%20ECLS%20Version%201_4.pdf.] Abrufdatum: 26.06.2022
83. Omar HR, Mirsaeidi M, Socias S, Sprenger C, Caldeira C, Camporesi EM, Mangar D. Plasma Free Hemoglobin Is an Independent Predictor of Mortality among Patients on Extracorporeal Membrane Oxygenation Support. *PLoS One*. 2015;10(4):e0124034.
84. Kutlesa M, Novokmet A, Josipovic Mraovic R, Filar B, Mardesic P, Barsic B. Extracorporeal membrane oxygenation treatment for H1N1-induced acute respiratory distress syndrome (ARDS): results of the Croatian Referral Center for Respiratory ECMO. *Int J Artif Organs*. 2014;37(10):748-52.
85. Lyu L, Long C, Hei F, Ji B, Liu J, Yu K, Chen L, Yao J, Hu Q, Hu J, Gao G. Plasma Free Hemoglobin Is a Predictor of Acute Renal Failure During Adult Venous-Arterial Extracorporeal Membrane Oxygenation Support. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2016;30(4):891-5.
86. Section 2: AKI Definition. *Kidney Int Suppl* (2011). 2012;2(1):19-36.
87. Ronco C, Bellomo R, Kellum JA. Acute kidney injury. *Lancet*. 2019;394(10212):1949-64.
88. Bagshaw SM, George C, Bellomo R, Committe ADM. A comparison of the RIFLE and AKIN criteria for acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(5):1569-74.
89. Hsu CY, Ordonez JD, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Go AS. The risk of acute renal failure in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2008;74(1):101-7.
90. Singbartl K, Kellum JA. AKI in the ICU: definition, epidemiology, risk stratification, and outcomes. *Kidney Int*. 2012;81(9):819-25.
91. Gaudry S, Grolleau F, Barbar S, Martin-Lefevre L, Pons B, Boulet E, Boyer A, Chevrel G, Montini F, Bohe J, Badie J, Rigaud JP, Vinsonneau C, Porcher R, Quenot JP, Dreyfuss D. Continuous renal replacement therapy versus intermittent hemodialysis as first modality for renal replacement therapy in severe acute kidney injury: a secondary analysis of AKIKI and IDEAL-ICU studies. *Crit Care*. 2022;26(1):93.
92. Bancroft FW. Anuria Following Transfusion: Effect of Decapsulation of Both Kidneys. *Ann Surg*. 1925;81(4):733-8.
93. Vermeulen Windsant IC, Snoeijs MG, Hanssen SJ, Altintas S, Heijmans JH, Koeppel TA, Schurink GW, Buurman WA, Jacobs MJ. Hemolysis is associated

- with acute kidney injury during major aortic surgery. *Kidney Int.* 2010;77(10):913-20.
94. Spina S, Lei C, Pincioli R, Berra L. Hemolysis and Kidney Injury in Cardiac Surgery: The Protective Role of Nitric Oxide Therapy. *Semin Nephrol.* 2019;39(5):484-95.
 95. Borasino S, Kalra Y, Elam AR, Carlisle O'Meara L, Timpa JG, Goldberg KG, Collins Gaddis JL, Alten JA. Impact of Hemolysis on Acute Kidney Injury and Mortality in Children Supported with Cardiac Extracorporeal Membrane Oxygenation. *J Extra Corpor Technol.* 2018;50(4):217-24.
 96. Coste J, Pouchot J. A grey zone for quantitative diagnostic and screening tests. *Int J Epidemiol.* 2003;32(2):304-13.
 97. Cannesson M, Le Manach Y, Hofer CK, Goarin JP, Lehot JJ, Vallet B, Tavernier B. Assessing the diagnostic accuracy of pulse pressure variations for the prediction of fluid responsiveness: a "gray zone" approach. *Anesthesiology.* 2011;115(2):231-41.
 98. Pencina MJ, D'Agostino RB, Sr., Steyerberg EW. Extensions of net reclassification improvement calculations to measure usefulness of new biomarkers. *Stat Med.* 2011;30(1):11-21.
 99. Pencina MJ, D'Agostino RB, Sr., D'Agostino RB, Jr., Vasan RS. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. *Stat Med.* 2008;27(2):157-72; discussion 207-12.
 100. Hashimoto K, Nomura K, Nakano M, Sasaki T, Kurosawa H. Pharmacological intervention for renal protection during cardiopulmonary bypass. *Heart Vessels.* 1993;8(4):203-10.
 101. Kubota K, Egi M, Mizobuchi S. Haptoglobin Administration in Cardiovascular Surgery Patients: Its Association With the Risk of Postoperative Acute Kidney Injury. *Anesth Analg.* 2017;124(6):1771-6.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Philip Moritz Hildebrandt, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Hämolyse bei Patientinnen und Patienten mit ARDS und Therapie mit ECMO (Hemolysis in patients with ARDS and therapy with ECMO) 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/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Philip Moritz Hildebrandt hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation 1: Graw JA, Hildebrandt P, Krannich A, Balzer F, Spies C, Francis RC, Kuebler WM, Weber-Carstens S, Menk M und Hunsicker O, The role of cell-free hemoglobin and haptoglobin in acute kidney injury in critically ill adults with ARDS and therapy with VV ECMO, Critical Care, 2022

Beitrag im Einzelnen: Herr Hildebrandt hatte maßgeblichen Anteil am Aufbau der dieser Studie zugrundeliegenden Datenbank und übernahm Akquise und Aufbereitung manuell zu erhebender Daten aus den elektronischen Patientenakten. Datennacherhebungen, Überprüfung der Daten auf Plausibilität und Datenkonfiguration für die statistische Ausbereitung wurden ebenfalls durch Herrn Hildebrandt übernommen. Herr Hildebrandt unterstützte Betreuer und Statistiker bei der Interpretation der Daten und Analysen sowie beim Verfassen und der Überarbeitung des Manuskripts.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

Lebenslauf

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

Komplette Publikationsliste

Publikation 1: Graw JA, Hildebrandt P, Krannich A, Balzer F, Spies C, Francis RC, Kuebler WM, Weber-Carstens S, Menk M und Hunsicker O, The role of cell-free hemoglobin and haptoglobin in acute kidney injury in critically ill adults with ARDS and therapy with VV ECMO, Critical Care, 2022

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei meinem Betreuer und Doktorvater Herrn PD Dr. Jan Adriaan Graw für die Ermöglichung der Dissertation, die stetige und umfangreiche Unterstützung und die kompetenten Hilfestellungen. Auch bei Herrn PD Dr. Mario Menk möchte ich mich für die Betreuung und Beteiligung am Projekt bedanken. Ohne das Team des ARDS ECMO Centrums der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin CCM/CVK und allen Projektbeteiligten der Publikation wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen, auch bei diesen Teams möchte ich mich bedanken. Abschließend danke ich meinem persönlichen Umfeld, das immer für alle Fragen offen war und mich jederzeit unterstützt hat.

Bescheinigung Statistik



CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Name, Vorname: Hildebrandt, Philip
Emailadresse:
Matrikelnummer:
PromotionsbetreuerIn: PD Dr. Jan Adriaan Graw
Promotionsinstitution / Klinik: Klinik für Anästhesiologie m.S.
operative Intensivmedizin, CCM/CVK

Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBike)

Direktor: Prof. Dr. Geraldine Rauch

Postanschrift:
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin
Besucheranschrift:
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin

Tel. +49 (0)30 450 562171
geraldine.rauch@charite.de
<https://biometrie.charite.de/>



Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass Herr Philip Hildebrandt innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBike) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Folgende Beratungstermine wurden wahrgenommen:

- *Termin 1: 20.06.2022*

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Planung der Datenerhebung und Auswahl der Analysemethoden wurden während der Beratung erteilt:

- *Die verwendete Methodik ist gut geeignet, um die Fragestellung zu untersuchen.*
- *Wording der Endpunkte noch präzisieren. Im Methodenteil festhalten, dass es sich um eine explorative Auswertung handelt, und die p-Werte entsprechend zu interpretieren sind.*
- *Diskussion der fehlenden fHb-Messwerte könnte erweitert werden, offenbar gibt es da kein Potenzial für Bias, und das kann auch dastehen.*
- *Grauzoneneinteilung prüfen, Sensitivität scheint nur 80% zu sein.*

Diese Bescheinigung garantiert nicht die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren und die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.

Datum: 22.06.2022

Unterschrift Beraterin, Institutsstempel