

Aus den Forschungseinrichtungen für experimentelle Medizin (FEM) des  
Campus Virchow Klinikums  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Einfluss intensivmedizinischer Therapiekonzepte  
auf die Hämostase bei einer kontinuierlich veno-venösen  
Hämodialyse (CVVH)  
unter besonderer Betrachtung des Gerinnungssystems**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Janis Rebecca Bedarf

aus Berlin

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. vet. J. Unger

2. Prof. Dr. S. Mitzner

3. Prof. Dr. J. Flöge

Datum der Promotion: 23.06.2013

## **Inhaltsverzeichnis**

Zur Dissertation eingereichte Publikationen	4
Zusammenfassung der Publikationen	
Abstract	5
Einleitung und Zielstellung	6
Methodik	7
Ergebnisse	10
Diskussion	13
Zusammenfassung	19
Abkürzungsverzeichnis	20
Literaturverzeichnis	21
Anteilerklärung an den Publikationen	27
Druckversionen der Publikationen	
Publikation I)	29
Publikation II)	35
Publikation III)	46
Lebenslauf	58
Vollständige Publikationsliste	59
Erklärung über die Selbständigkeit	60
Danksagung	61

## Zur Dissertation eingereichte Publikationen

Publikation I)

Russ M, Esche V, Ott S, **Bedarf J**, Unger JK. Stable mixed acidemia in anesthetized pigs-a model for research on biocompatibility of hemofilters under a deteriorated acid-base balance. *Artif Organs* 2010;35:192-196

Impact factor 2010: 1.719

Publikation II)

**Bedarf JR**, Russ M, Ott S, Keckel T, Kirschfink M, Unger JK. Influence of acidaemia and hypoxaemia on CVVH haemocompatibility in a porcine model. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2010; 25(9):2960-9

Impact factor 2010: 3,564

Publikation III)

Russ M, Deja M, Ott S, **Bedarf J**, Keckel T, Hiebl B, Wagner JJ, Unger JK. Experimental high volume hemofiltration (HVHF) with predilutional Tris-Hydroxymethylaminomethane (THAM) for correction of acidosis despite low tidal volume ventilation. *Artif Organs* 2011; 35(6):E108–E117

Impact factor 2010: 1,719

## Zusammenfassung der Publikationen

### Abstract

Hintergrund: Die akut reduzierte Hämokompatibilität durch frühes Filterversagen limitiert als häufige Komplikation den erfolgreichen Einsatz extrakorporaler Systeme, wie der kontinuierlich veno-venösen Hämofiltration (CVVH). Neben adversen Eigenschaften künstlicher Oberflächen werden Gerinnungsstörungen im Kontext zugrundeliegender Erkrankungen als ursächlich angesehen. Über die Interaktion therapiekonzeptbedingter Einflüsse, wie lungenprotektiver Beatmung mit tolerierter Azidämie, Infusion hyperchlorämischer Lösungen, Pufferstrategien, Antikoagulation mit einer CVVH im Hinblick auf die Gerinnungsfunktion ist bisher wenig bekannt. Eine durch lungenprotektive Beatmungstherapie assoziierte Azidose bedarf darüber hinaus einer ventilationsunabhängigen Korrektur.

Methodik: Durch Kombination aus Säureinfusion (je 0,2 M Milchsäure/Salzsäure) und niedrigen Beatmungsvolumina ( $6-8 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) wurde in gesunden anästhesierten Schweinen die Aufrechterhaltung einer gemischten Azidämie (pH 7,2) etabliert. Zusätzlich zur Azidämie wurde in einer weiteren Gruppe eine Hypoxämie (pH 7,2;  $\text{PaO}_2 < 70 \text{ mmHg}$ ) induziert. Zur forcierten Blut-System-Interaktion wurde eine CVVH für drei Stunden mit Filtrat-Rezirkulation betrieben. Eine anschließende Azidosekorrektur erfolgte mittels THAM-Puffer und CVVH im Standardmodus. Die Heparinisierung ( $60 \text{ IU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) erfolgte ACT basiert.

Ergebnisse: Die Azidämie zeigte pro- und antikoagulatorischen Einfluss auf die plasmatische Gerinnungsfunktion. Im Vergleich zum pH 7,4 führte Azidämie zu erhöhten Aktivierungsmarkern, Thrombozyten- und Fibrinogenverlusten. Die Filterfunktion und Blutflussraten unterschieden sich nach 5 Stunden Filterlaufzeit noch nicht, eine Azidämie assoziierte höhere Anzahl an verstopften Filterkapillaren deutete sich jedoch bereits an. THAM  $8 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ , prädilutorisch appliziert, ermöglichte eine rasche Azidosekorrektur und wies eine signifikant geringere Anzahl verstopfter Filterkapillaren auf, voraussichtlich auf der Basis einer günstigeren Hämorheologie im Filter durch die prädilutorische pH-Korrektur.

Diskussion: Eine Azidämie bedingte Interaktion mit der CVVH-Hämokompatibilität und Gerinnungsfunktion konnte gezeigt werden. Zur Optimierung des Nutzen-Risiko-Verhältnisses für den Intensivpatienten unter CVVH sollte der interaktive Einfluss einzelner Therapievariablen im Sinne einer verbesserten „Begleittherapie“ zukünftig systematisch evaluiert werden.

## **Einleitung und Zielstellung**

Neben ihrem Einsatz beim akuten Nierenversagen findet die kontinuierlich venovenöse Hämofiltration (CVVH) zunehmend Verwendung am Patienten mit Sepsis oder Multiorganversagen (MOV) [1, 2]. Frühes Filterversagen im Kontext einer (a priori aber auch konsekutiv) gestörten Gerinnungsfunktion [3-5] stellt eine häufige Komplikation dar und limitiert den Therapieerfolg maßgeblich. Neben ungünstigen Oberflächeneigenschaften und unphysiologischer Hämorheologie im extrakorporalen System stellt eine massiv entgleiste Homöostase von Gerinnungsfunktion und Immunsystem im Intensivpatienten [6, 7] hohe Anforderungen an die Hämokompatibilität und den Therapieerfolg einer CVVH. Unabhängig von den zugrundeliegenden Pathophysiologien (Inflammation, Mediatorenfreisetzung, Organversagen, Trauma, Mikrozirkulationsstörungen) und deren Effekt auf die Gerinnungsfunktion, ist der Einfluss gängiger Therapiekonzepte (lungenprotektive Beatmung und/oder Infusion hyperchlorämischer Lösungen mit Störungen im Säure-Base Haushalt/Azidämie; Pufferstrategien; Antikoagulation) im kritisch Kranken im Hinblick auf eine CVVH-Interaktion nicht eindeutig. Ein negativer Einfluss einer Azidämie auf das Gerinnungssystem ist bereits aus der Traumatologie und Hämorrhagieforschung bekannt [8-10]. Die direkte Interaktion einer Azidämie mit einer CVVH ist bisher jedoch wenig untersucht. Angesichts häufig parallel laufender intensivmedizinischer Therapiekonzepte, wie der „low tidal volume ventilation“ mit permissiver Hyperkapnie/tolerierter Azidämie, und dem Einsatz einer CVVH scheint daher die gezielte Untersuchung einzelner Therapievariablen (Azidämie, Hypoxämie, Pufferstrategie, Volumentherapie, Antikoagulation) sinnvoll. Vor diesem Hintergrund hat die vorliegende Arbeit zum Ziel:

Modelletablierung (PI): Etablierung einer standardisierten Azidämie im Schweinmodell unter lungenprotektiver „low tidal volume ventilation“, welches eine CVVH-Behandlung mit zur Klinik vergleichbaren Blutfluss- und Filtrationsraten ermöglicht.

CVVH-Hämokompatibilität (PII): Evaluation der Azidämie/Hypoxie-CVVH-Interaktion unter besonderer Betrachtung von Gerinnungssystem und Filterfunktion.

CVVH-Hämokompatibilität (PIII): Entwicklung einer ventilationsunabhängigen Methode zur Korrektur von Beatmungs-assoziiertes Azidämie mittels prädilutorisch applizierten THAM-Puffers und CVVH.

## **Methodik**

Das Tierversuchsvorhaben wurde durch die Berliner Tierschutzbehörde genehmigt (Versuchsnummer G 0380/05) und in den Operationssälen der Einrichtung für Experimentelle Medizin (FEM) der Charité – Universitätsmedizin Berlin entsprechend den Richtlinien der Europäischen (FELASA) und der Deutschen Gesellschaft für Versuchstierkunde (GV-SOLAS) und der Tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz (TVT) durchgeführt.

Tiermodell: Die Versuche wurden an jungen Hausschweinen (38-46 kg) durchgeführt. In einem bereits etablierten CVVH-Schweinmodell [11, 12] wurde zur Azidämie/Hypoxämie-CVVH-Interaktionsforschung die Aufrechterhaltung einer standardisierten, gemischt metabolisch-respiratorischen Azidämie (PI und II) sowie einer additiven Hypoxämie (PII) etabliert.

Studiendesign: Das gesamte Protokoll wurde an anästhesierten, beatmeten Tieren durchgeführt. Nach der Instrumentierung erfolgte die Induktion einer gemischten Azidämie durch Säureinfusion und Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina sowie einer kombinierten Azidämie/Hypoxämie. Auf drei Stunden CVVH-Rezirkulations-Modus zur forcierten System-Blut-Interaktion folgte eine zweistündige Azidämie-Korrekturphase mit Gabe von THAM-Puffer im offenen CVVH-Modus (s. Abb. 1).

Anästhesie und Volumenmanagement: Die Versuchstiere wurden nach i.m. Prämedikation ( $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Azaperon,  $0,03 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Atropin,  $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Ketamin,  $3,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Xylazinhydrochlorid) und Narkoseeinleitung mit Propofol ( $5-10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  i.v.) mittels totaler intravenöser Anästhesie (TIVA;  $17-21 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  Thiopenton und  $5,5-7 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  Fentanyl kontinuierlich i.v.) in Narkose gehalten.

In vorausgehenden Untersuchungen der Arbeitsgruppe [11] erwies sich sechsprozentige Hydroxyethylstärke 130kDa/0,4 (HES130; Voluven, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) als vorteilhaft im Hinblick auf die CVVH-Biokompatibilität und kam daher als kolloidaler Volumenersatz bei allen Tieren zum Einsatz ( $12 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$  Bolusinfusion während der Azidämie-/Hypoxämieinduktion, anschließend kontinuierliche Infusion mit einer Rate von  $2,3 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ). Das Kristalloid:Kolloid-Verhältnis betrug 4:1 (Jonosteril<sup>®</sup> während der Instrumentierung; Katheterspülung, Säureinfusion, Anästhetikainfusion mit NaCl 0,9%).

CVVH und Antikoagulation: Für die CVVH kam eine AK10<sup>®</sup>-Maschine zum Einsatz. Nach initialer Bolusinjektion ( $60 \text{ IU}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) wurde unfraktioniertes Heparin, basierend auf ACT-Werten, kontinuierlich zur systemischen Antikoagulation infundiert. Der

initiale Sollwert für die ACT lag bei 150-200 Sek. Der CVVH-Anschluss erfolgte über einen 13 F Doppellumenkatheter. Zur forcierten Blut-System-Interaktion wurde die CVVH zunächst für 3 Stunden im Rezirkulations-Modus (Rückführung des Filtrates inklusive Mediatoren über den venösen Schenkel ins Tier) betrieben (Details s. PII). Im Anschluss erfolgte eine Azidose-Korrekturphase über zwei weitere Stunden im offenen Modus (isovolämische Substitution des verworfenen Filtrates mit kristalloider Lösung) in Kombination mit THAM-Puffergabe (PIII).

Parameter: Untersucht wurden plasmatische Gerinnungstests (aktivierte partielle Thromboplastinzeit; aPTT, Thrombinzeit; PT), Vollblutgerinnung (aktivierte „clotting time“; ACT), Blutzellen (Thrombozyten, Erythrozyten, Leukozyten), Antithrombin III (ATIII), Fibrinogen, D-Dimere, Thrombin-Antithrombin-Komplexe (TAT) und der terminale Komplement-Komplex (sC5b-9). Zur Dilutionskorrektur wurden die Gerinnungsparameter und Zellzahlen der Plasmaproteinkonzentration bzw. dem Hämatokrit gegenübergestellt (Details s. PII). Es erfolgte halbstündlich eine arterielle Blutgasanalyse. Nach Versuchsende wurden die Hämofilter mit NaCl 0,9% gespült und nach Aufsägen die prozentuale Anzahl der verstopften Filterkapillaren makroskopisch bestimmt (s. P II und PIII).

Azidämieprotokoll: Durch die Kombination aus Säureinfusion (0,2 M Milchsäure und 0,2 M Salzsäure in 0,9% NaCl, Infusionsrate von  $2,1 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) und Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina ( $6-8 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) wurde eine gemischt metabolisch-respiratorische Azidämie induziert und für eine Dauer von drei Stunden bei einem arteriellen Ziel-pH-Wert von 7,19-7,24 und einem  $P_a\text{CO}_2$  von 80-85 mmHg aufrechterhalten. Die normoventilierten CVVH Kontrollgruppen (PII und PIII) mit physiologischem Säure-Basen-Status erhielten isovolämische Mengen an NaCl 0,9% statt der Säureinfusion.

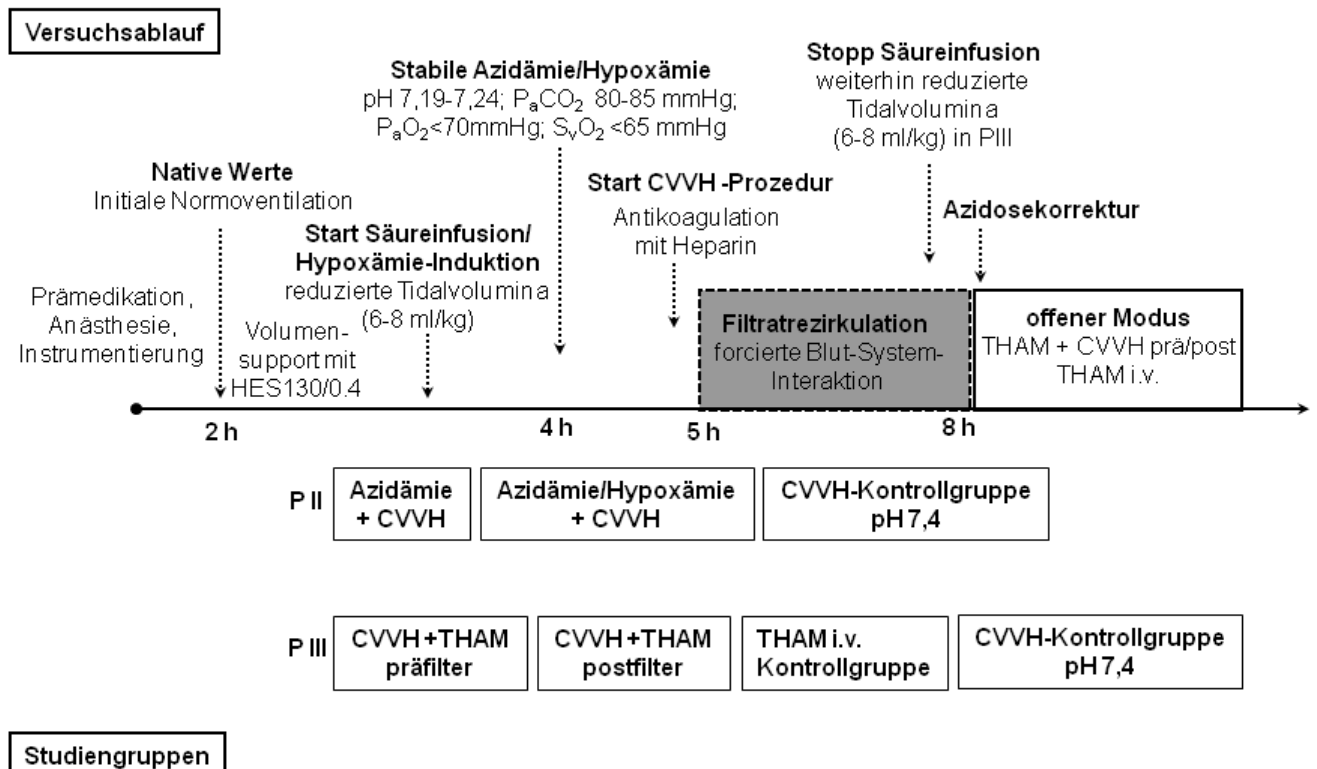
Hypoxämieprotokoll: Durch die Kombination geringer Atemfrequenzen und niedriger Tidalvolumina ( $6-8 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) bei einer inspiratorischen Sauerstoffkonzentration von 0,4 (keine kompensatorische Erhöhung der  $\text{FiO}_2$  auf 1,0) wurde neben der respiratorischen Azidämie zusätzlich eine Hypoxämie erzeugt ( $P_a\text{O}_2 < 70 \text{ mmHg}$  und  $S_v\text{O}_2 < 65 \text{ mmHg}$ ). Dieses Protokoll reduzierte den Bedarf an Säureinfusion ( $0,6 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) zum Erreichen des Ziel-pH-Werts (7,19-7,24) im Vergleich zur normoxämen Azidämiegruppe (PII).

Azidosekorrektur: Die Azidosekorrektur erfolgte durch Kombination aus CVVH und Gabe von THAM-Puffer. THAM wurde entweder vor oder nach dem Filter (prä-



/postdilutorisch) wirkungsassoziiert appliziert (Messung des arteriellen pH-Wertes nach 15 Minuten und Dosisanpassung, s. PIII). Zeitgleich wurden Blut- und Filtratflussraten im offenen CVVH-Modus schrittweise erhöht (*high volume haemofiltration*; HVHF). Es erfolgte ein Austausch von insgesamt 7 Litern mit einer Filtrationsrate von durchschnittlich  $115 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ . Die Dosis für die konventionelle THAM i.v. Gruppe ( $2 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) basierte sowohl auf Angaben aus Schweinemodellen als auch auf den Angaben aus Fallstudien und Empfehlungen für die klinische Anwendung [13-16].

**Statistik:** Die statistische Auswertung erfolgte mit SigmaStat 3.1s (Systat Software GmbH, Erkrath, Deutschland). Auf Grund nicht normal verteilter Daten kamen nicht parametrische Tests zur Anwendung, wobei Unterschiede von  $p < 0,05$  als statistisch signifikant betrachtet wurden (Details siehe PI-III).

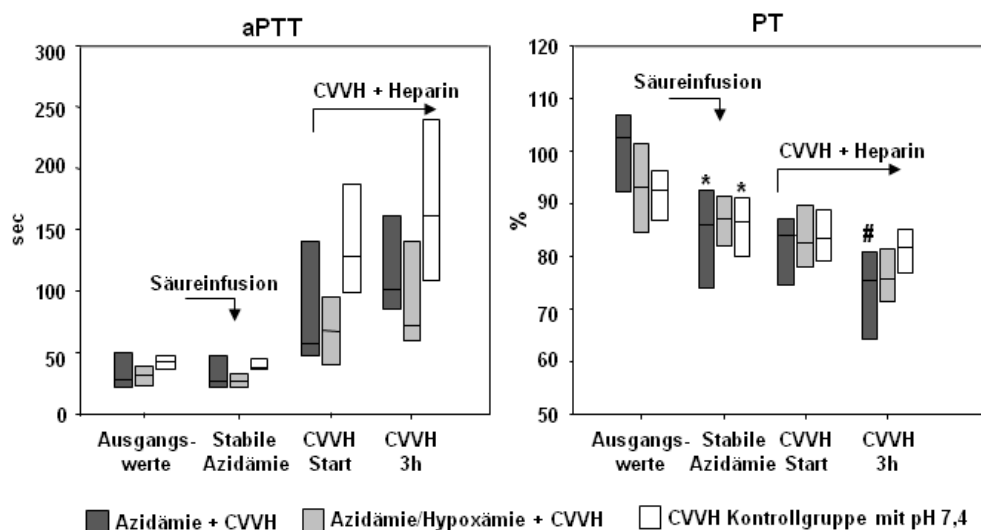


**Abb. 1:** Versuchsablauf und Studiengruppen; CVVH: kontinuierlich veno-venöse Hämofiltration; THAM: Tris-Hydroxymethylaminomethan;  $\text{FiO}_2$ : inspiratorische Sauerstoffkonzentration; HES130: 6% Hydroxyethylstärke 130/0,4kDa; Nach Bedarf JR et al. Influence of acidaemia and hypoxaemia on CVVH haemocompatibility in a porcine model. Nephrology Dialysis Transplantation 2010

## Ergebnisse

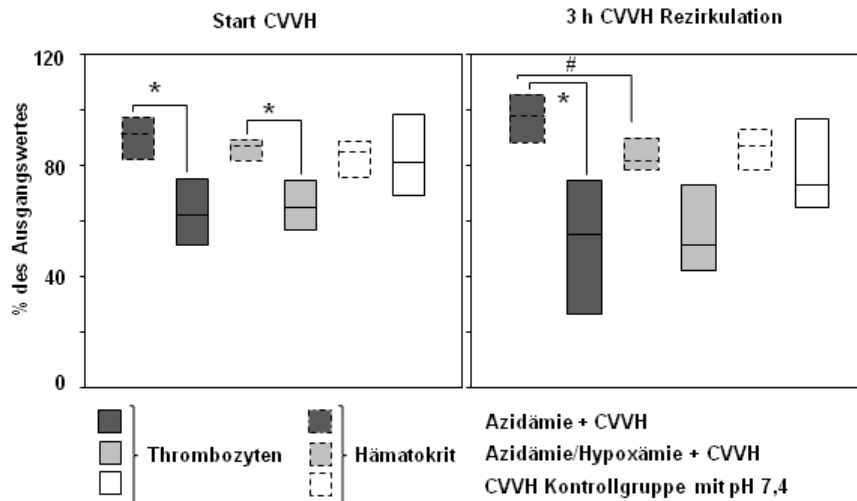
Modelletablierung (PI): Durch Infusion von 0,4 molarer Milchsäure/ Salzsäurelösung, in Kombination mit reduzierten Beatmungsvolumina, konnte eine gemischte Azidämie erfolgreich induziert und innerhalb der definierten pH- und  $P_aCO_2$ -Zielwerte aufrechterhalten werden. Unter dem initialen Versuch, die Azidämie allein mittels Milchsäureinfusion zu induzieren, zeigten sich stark variable arterielle pH- und  $P_aCO_2$ -Werte sowie eine unzureichend stabile Azidämie. Auf Grund kardialer Unverträglichkeit größerer Säuremengen wurden die Säureboli von anfänglich 7  $ml \cdot kg^{-1}$  auf 4,5  $ml \cdot kg^{-1}$  reduziert. Zur Vermeidung einer zu starken Absenkung des pH unter die definierte Grenze (7,19) zeigte sich THAM-Puffer gegenüber 8,4% Natriumbicarbonat überlegen. Die verwandte Methodik erlaubte, bei stabiler Hämodynamik, das Betreiben einer CVVH mit zur klinischen Anwendung vergleichbaren Blutfluss- und Filtrationsraten.

Azidämie/Hypoxämie-CVVH-Interaktion (PII): Im Hinblick auf die Gerinnungsfunktion konnte die Interaktion einer Azidämie/Hypoxämie mit der CVVH gezeigt werden. Die Azidämie wies einen gegensätzlichen, sowohl pro- als auch antikoagulatorischen Einfluss auf das Gerinnungssystem auf. Während sich aktivierende Tendenzen in der aPTT zeigten, kam es in der PT zu einer deutlichen Gerinnungsverlängerung.



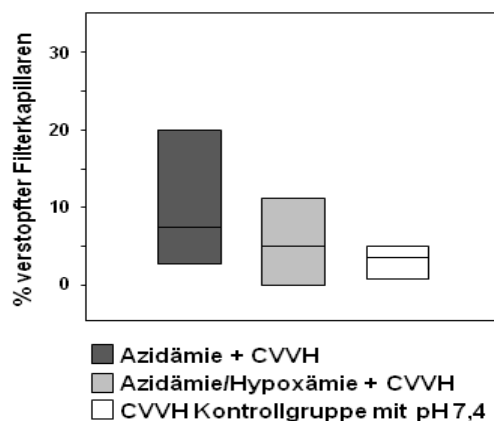
**Abb. 2:** Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) und Prothrombinzeit (PT) über die Versuchszeit; CVVH: kontinuierlich veno-venöse Hämofiltration; \*  $P < 0,05$  vs. Ausgangswerte; #  $P < 0,05$  vs. CVVH Start; Datenpräsentation als Median (25% und 75% Perzentile); nach Bedarf J R et al. Influence of acidaemia and hypoxaemia on CVVH haemocompatibility in a porcine model. Nephrology Dialysis Transplantation 2010

Bereits bei Erreichen einer stabilen Azidämie und Anschluss des extrakorporalen Systems zeigten sich Azidämie-assoziierte Plättchenverluste, welche sich über die CVVH-Rezirkulationszeit noch verstärkten. Es gab keinen Anhalt für eine suffiziente Thrombozyten-Rekrutierung über die Versuchszeit.



**Abb. 3:** Thrombozytenzahlen beim CVVH Start und nach 3 Stunden im Rezirkulationsmodus; Zur Dilutionskorrektur wurden die Thrombozyten dem Hämatokrit als passivem Parameter gegenübergestellt (Details siehe PII); CVVH: kontinuierlich veno-venöse Hämofiltration; \*  $P < 0,05$  vs. Hämatokrit; #  $P < 0,05$  vs. Studiengruppe; Datenpräsentation als Median (25% und 75% Perzentile); nach Bedarf J R et al. Influence of acidaemia and hypoxaemia on CVVH haemocompatibility in a porcine model. Nephrology Dialysis Transplantation. 2010; 25(9):2960-9.

Gegenüber der physiologischen pH-Homöostase kam es durch die Azidämie zudem zu signifikanten Fibrinogenverlusten. Auch diese intensivierten sich über die CVVH Versuchszeit. Die Aktivierungsmarker (D-Dimere, TAT-Komplexe und der terminale Komplement-Komplex) waren gegenüber einer physiologischen Säure-Base-Homöostase mit einem pH von 7,4 erhöht (s. PII).



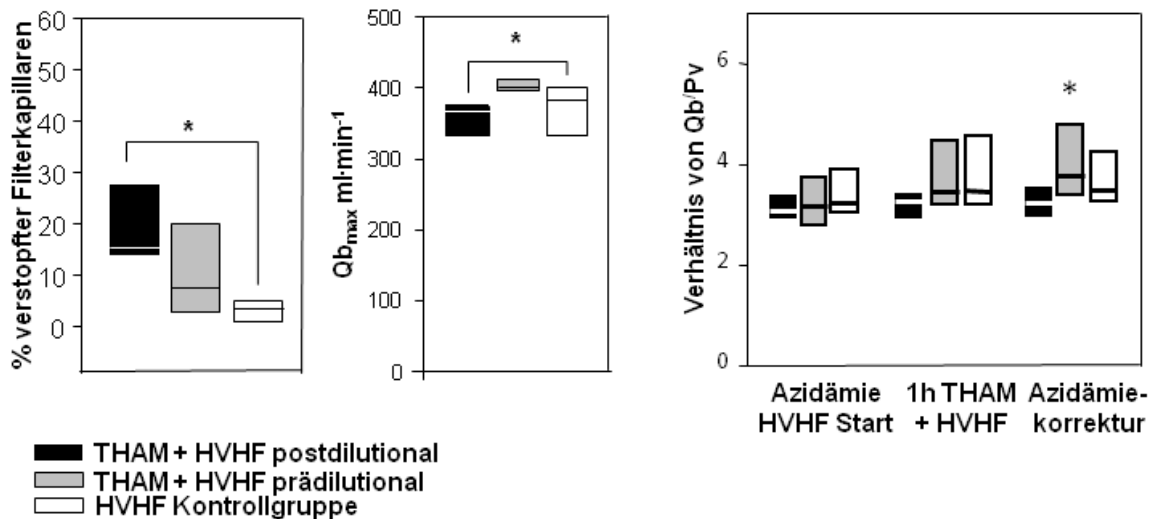
Für die Filterfunktion (Blutflussraten und transmembranären Druck; Daten nicht veröffentlicht) konnten keine Unterschiede festgestellt werden. In der abschließenden Filteruntersuchung zeichnete sich jedoch bereits eine Azidämie assoziierte höhere Anzahl verstopfter Filterkapillaren ab.

**Abb. 4:** Anteil verstopfter Filterkapillaren nach 3 Stunden CVVH im Rezirkulations-Modus. Datenpräsentation als Median (25% und 75% Perzentile); CVVH: kontinuierlich veno-venöse Hämofiltration; Nach Bedarf JR et al. Influence of acidaemia and hypoxaemia on CVVH haemocompatibility in a porcine model. Nephrology Dialysis Transplantation 2010

Azidämie-Korrektur (PIII): Die prädilutorische Applikation von THAM bedeutet eine Blutpufferung mit Abfiltration der Substanz bereits in der ersten Filterpassage. Da somit nicht die komplette Menge an Substanz in das Gefäßsystem gelangt, wurde eine deutlich höhere Dosierung gewählt und toleriert als klinisch üblich, bzw. bisher in der Literatur beschrieben. Eine Dosis von  $8 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  ermöglichte eine rasche Azidosekorrektur mit signifikanter Reduktion des  $\text{P}_a\text{CO}_2$  und Anhebung des pH-Wertes auf das Ausgangsniveau unter Beibehaltung der lungenprotektiven Tidalvolumina. Mit THAM i.v.  $2 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  konnte dies nicht erreicht werden.

Die postdilutorische Applikation von THAM war gegenüber einer prädilutorischen Gabe mit einem erhöhten pulmonalkapillären Verschlussdruck sowie der Entwicklung eines pulmonalen Ödems unterlegen (s. PIII).

Die prädilutorische Gabe führte zu günstigeren Blutfluss- und Filtrationsraten (maximaler Blutfluss  $\text{Q}_b$  und Verhältnis von  $\text{Q}_b/\text{P}_v$ ), welche einer HVHF-Leistung unter physiologischen Säure-Base-Bedingungen gleichkamen. Die pH-Korrektur des azidämischen Blutes vor dem Filter führte zudem zu einer signifikant geringeren Anzahl verstopfter Filterkapillaren.



**Abb. 5:** Anzahl verstopfter Filterkapillaren, maximaler Blutfluss  $\text{Q}_b$  und Verhältnis  $\text{Q}_b/\text{P}_v$  ( $\text{P}_v$ : venöser Systemdruck); Datenpräsentation als Median (25% und 75% Perzentile); HVHF: high volume hemofiltration; \*  $\text{P}<0,05$  vs. Studiengruppen; nach Russ M. et al. Experimental high volume hemofiltration with predilutional Tris-Hydroxymethylaminomethane for correction of low tidal volume-induced acidosis. Artificial Organs 2011

## Diskussion

Die Interaktion verschiedener Therapiebausteine, wie Beatmungsstrategie und tolerierter Azidose, Azidose und CVVH, CVVH unter Systemnutzung zum Azidose-Ausgleich, sowie dadurch veränderte Biokompatibilitätsreaktionen, sind bislang nur unzureichend untersucht. Eine unmittelbare Evaluation des Einzeleinflusses im kritisch Kranken ist jedoch wegen der Komplexität der zugrundeliegenden Erkrankungen oft nicht möglich. Tierversuche, die Krankheitsmodelle involvieren, führen automatisch zu einer vergleichbaren Komplexität wie die Kliniksituation. Auch bei Krankheitsmodellen ist daher eine exakte Zuordnung ätiologischer Faktoren nicht möglich. Vice versa bleibt die direkte Übertragbarkeit aus dem gesunden Tiermodell ohne Organversagen auf die Kliniksituation eingeschränkt. Auf Grund der Interaktion pro- und anti-inflammatorischer Mediatoren mit den Effektoren des Gerinnungssystems [6, 7, 17] würde ein auf Sepsis/Endotoxin basierendes Tiermodell die Beurteilung des alleinigen Azidämie-Einflusses auf die Gerinnungsfunktion erschweren. Darüber hinaus würde die zusätzliche Elimination entsprechender kleinmolekularer Mediatoren [18, 19] über das extrakorporale System den Effekt des Azidose-Ausgleichs im Hinblick auf die Gerinnungsfunktion verfälschen.

Tiermodell: Die Wahl des hier vorgestellten Tiermodells (junge Schweine von ausreichender Größe und Gewicht) ist entscheidend, um eine CVVH mit klinisch vergleichbaren Blutfluss- und Filtrationsraten unter Aufrechterhaltung einer Azidämie/Hypoxämie betreiben zu können. In Kleintiermodellen ([18] Ratten) konnten keine vergleichbaren Ergebnisse erzielt werden. Um eine kardiale Dekompensation der Tiere bei der Azidämie/Hypoxämieinduktion zu verhindern, wurde ein pH-Zielbereich definiert und (zugunsten einer standardisierten Säureinfusion und Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina) mittels kleiner Dosen THAM-Puffer konstant gehalten. Eine stufenweise Infusion der Säuremenge hätte ggf. einen Pufferverzicht bei der Azidämieinduktion ermöglichen können [20]. Dieses Vorgehen hätte allerdings auch die Intensität der „Pathophysiologie Azidämie“ reduziert. Durch den zeitlich begrenzten Rahmen solch experimenteller Untersuchungen/Protokolle wären so gegebenenfalls weniger damit assoziierte Aspekte im Kontext der Hämokompatibilität mit einbeziehbar.

Bei der Infusion von Säure gilt es, eine zu hohe Molarität zur Vorbeugung einer ausgeprägten Hämolyse zu vermeiden. Auf der anderen Seite darf die insgesamt

benötigte Menge an Säureäquivalenten zum Erreichen des angestrebten pH-Wertes nicht zu einer Volumenüberladung mit resultierender Dilutionskoagulopathie durch zu niedrig verwendete Molaritäten führen.

Die Kombination aus Milchsäure/Salzsäure-Infusion ermöglichte eine stabile Hämodynamik, welche für den Einsatz eines extrakorporalen Systems, wie der CVVH, mit konstanter Filtrationsleistung entscheidend ist [21]. Zudem konnte durch das Säuregemisch eine Hämolyse, welche unter alleiniger Verwendung von Salzsäure rasch auftritt und die Beurteilung der Hämokompatibilitäts-Reaktionen stören würde, verhindert werden. Im Hinblick auf das Zusammenspiel von Erythrozyten und Thrombozyten für eine suffiziente Gerinnungsfunktion [22] würde eine methodisch bedingte Hämolyse nicht nur die Rheologie im Filter direkt sondern auch die systemische Gerinnungsfunktion im Organismus beeinflussen.

Die alleinige Verwendung von Milchsäure zur Azidämieinduktion zeigte sich zwar in vorausgegangenen Arbeiten an Neonaten erfolgreich [23]. In Läufer-Schweinen entsprechend der von uns gewählten Größe und Gewicht konnten auf Grund hoher Metabolisierungskapazitäten der Tiere für Milchsäure/Laktat (und konsekutiver Regeneration der endogenen Bikarbonatreserven) keine ausreichend stabilen/konstanten pH Zielwertbereiche eingestellt werden. Daher wurde in den weiterführenden Untersuchungen die Kombination aus Säureinfusion und niedrigen Beatmungsvolumina zur Azidämieinduktion gewählt, welche darüber hinaus ein mit der Klinik vergleichbares Bild einer multifaktoriellen Azidämie (lungenprotektive Beatmung, Infusion hyperchlorämischer Lösungen, gestörte Makro- und Mikrohemodynamik [24, 25]) widerspiegelt.

Extrakorporale Systeme und Gerinnungssystem: Bis heute ist es nicht gelungen in der Ursachenforschung für ein frühes Filterversagen zu einem abschließenden Ergebnis zu kommen [3]. Als Hauptproblem in der Anwendung extrakorporaler Systeme steht eine durch die künstlichen Oberflächen aktivierte Gerinnung mit thrombotischen Komplikationen und Filterclotting einem erhöhten Blutungsrisiko, welches durch häufig notwendige Antikoagulationsregime noch verstärkt wird, gegenüber.

Die wesentliche Grundlage für einen normalen Gerinnungsprozess stellt eine ausgeglichene Balance zwischen pro- und antikoagulatorischen Mechanismen dar. Hier ist die ungestörte Interaktion zwischen Thrombozyten, plasmatischen Gerinnungsfaktoren und Gefäßendothel von entscheidender Bedeutung [26].

Der Kontakt des Blutes und seiner zellulären Bestandteile mit nicht-biologischem Material extrakorporaler Systeme resultiert in einer komplexen pro-koagulatorischen (u. a. Bildung von Proteinlayern mit vWF und Fibrinogen mit konsekutiver Thrombozytenadhäsion und –aktivierung) und -inflammatorischen (Mediatorrelease, Komplementaktivierung) Reaktion, welche eine Vielzahl interagierender Elemente einschließt [27, 28].

Alternative Antikoagulationskonzepte zum Heparin (beispielsweise mit lokaler Citratapplikation) konnten die Problematik von Filterclotting einerseits und Blutungskomplikationen andererseits bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht lösen [4, 29, 30]. Auf der anderen Seite hat sich die Anwendung extrakorporaler Systeme in Patienten mit hohem Blutungsrisiko auch ohne (systemische) Antikoagulation als möglich [31, 32] erwiesen. Dies weist darauf hin, dass weitere ggf. dominantere Einflussfaktoren der Gerinnungsaktivierung/-verschlechterung als alleinig künstliche Oberflächen, unphysiologische Strömungsbedingungen oder mechanische Belastung der zellulären Bestandteile des Blutes vorliegen und Schlüsselerkenntnisse und Optionen für verbesserte Regime in sich bergen.

Im Kontext eines zum heutigen Zeitpunkt besseren Verständnisses des Gerinnungsprozesses [26, 33] (weg von einer funktionellen Trennung in extrinsisches/intrinsisches System) und seiner komplexen Interaktionen mit anderen Körpersystemen (inflammatorisches System, Komplementsystem, Endothel, Erythrozyten, Leukozyten) rücken weitere wichtige Variablen in den Vordergrund bzw. weitet sich das Spektrum der möglichen Einflussnahme auf diesen aus. So zeichnet sich nach vorliegenden und weiteren Untersuchungen der Arbeitsgruppe [11, 12, 34] der Stellenwert einer optimierten Begleittherapie im Kontext der Anwendung extrakorporaler Therapieformen wie der CVVH als eine mögliche Stellschraube ab.

Azidämie-Einfluss: Aus unterschiedlichen Untersuchungen ist bekannt, dass eine Azidämie viele Bestandteile des Gerinnungssystems stören kann (Faktoren- und Plättchenverlust, veränderte Thrombingenerations-Kinetik [8, 20]; veränderte  $\text{Ca}^{2+}$ -Bindungsaffinität [35]; pH-Optimum der Gerinnungsproteasen [36]).

In Übereinstimmung mit anderen Studien im Schweinemodell [8, 20], kam es in unseren Untersuchungen zu Azidämie-bedingten Fibrinogen- und Plättchenverlusten. Diese scheinen unter der CVVH-Prozedur additiv verstärkt zu werden. Hier ist durch das Zusammenspiel einer erhöhten mechanischen Belastung, Scherstress sowie

einer veränderten Rheologie in der Filterkapillare/im künstlichen System eine Aggravierung des Azidämie-Einflusses denkbar. In anderen Studien zeigten sich neben Thrombozyten-Verlusten auch Dysfunktionen durch den Einsatz extrakorporaler Systeme [37]. In Synergie mit Fibrinogenverlusten, verkürzter aPTT und erhöhten Aktivierungsmarkern kann der unter CVVH und Azidämie verstärkte Thrombozytenverlust jedoch auch auf einen zusätzlich erhöhten Verbrauch hinweisen. Weitere Untersuchungen mit Gerinnungsfunktionstests, die den gesamten Gerinnungsprozess adäquater abbilden (beispielsweise TEG-Analysen), könnten hier bezüglich Plättchen-Dysfunktion und -Aktivierung aufschlussreich sein.

In einer aktuell publizierten prospektiven Klinikstudie [38] zeigten sich interessanterweise Azidämie-assoziiert längere Filterlaufzeiten. Gegebenenfalls überlagern hier die antikoagulatorischen Einflüsse/assoziierte Koagulopathien der zugrunde liegenden Pathophysiologien aufgrund einer anhaltend azidämischen Situation den teilweise aktivierenden Azidämie-Effekt, welcher in unseren Untersuchungen ersichtlich wurde.

Permissive Hyperkapnie/ tolerierte Azidämie: Die experimentellen und klinischen Daten zum Einfluss einer permissiven Hyperkapnie/Azidämie auf die Immunfunktion sind nicht eindeutig [39, 40]. Ist die Hyperkapnie moderat, scheint sie über anti-inflammatorische Effekte einen positiven Einfluss auf den Krankheitsverlauf und das damit assoziierte Überleben im Patienten mit ALI/ARDS zu haben [41, 42].

Auf der Grundlage anderer Daten bestehen jedoch auch Zweifel bezüglich eines therapeutischen Vorteils einer tolerierten Azidämie, insbesondere beim septischen Lungenversagen (häufigerer Einsatz von Nierenersatztherapie notwendig [40, 43]; Veränderung der chemotaktischen und bakteriziden Aktivität von Neutrophilen/Makrophagen [44-46]). Bisherige Studien zur Interaktion von Gerinnungsfunktion und Immunfunktion liefern nachhaltige Evidenz zur Schlüsselrolle des Gerinnungssystems, z. B. in der Pathogenese des Sepsis induzierten ARDS [47, 48]. Pneumozyten und Endothelzellen, welche durch zahlreiche Stimuli, u. a. Azidämie/Hypoxämie, zu pro-koagulatorischen Oberflächen aktiviert werden können, sind aktiv an der Regulation der Gerinnung beteiligt. So stellt die Gerinnungsaktivierung mit Generation von Thrombin und Fibrin nicht nur lokal pulmonal, sondern auch systemisch, einen pro-inflammatorischen Zustand dar, der die Gesamtsituation im kritisch Kranken weiter moduliert. Gerade vor dem Hintergrund des noch nicht hinreichend geklärten Einflusses permissiver



Hyperkapnie/tolerierter Azidämie auf Immunfunktion und Gerinnungssystem rückt der Faktor Azidämie als möglicher Trigger für Gerinnungsstörungen weiter in den Vordergrund.

Azidämiekorrektur und *Filterclogging*: In vorherigen Studien der Arbeitsgruppe zeigte sich „*Filterclogging*“ durch eine gesteigerte Zellaggregationsneigung sowie eine durch zu geringe Blutflussraten (im Verhältnis zu Kapillaranzahl und Länge) bedingte Stase in den Filterkapillaren als wesentliche Ursache bei der Filterblockade. Hierbei steht weniger eine a priori aktivierte Gerinnungsfunktion als Ursache im Vordergrund. Die Gerinnungsaktivierung ist ebenso Folge der niedrigen Blutflussraten bei gleichzeitig hohen venösen Systemdrücken in Kombination mit einer durch niedrigen Hämatokrit und erniedrigten Albumin:Globulin-Quotienten veränderten Hämorheologie im Filter [49]. In der vorliegenden Arbeit wies die Azidosekorrektur mittels prädilutorischer THAM-Gabe neben einer besseren Hämorheologie bei günstigen Blutflussraten auch eine signifikant geringere Anzahl verstopfter Filterkapillaren auf. Dabei senkte die Präfilter-Applikation von THAM-Puffer voraussichtlich die Zellaggregationsneigung unter Azidämie. Verbesserte Strömungsbedingungen und geeignete Blutflussraten reduzierten damit das *Filter-Clogging*, wodurch die geringere Anzahl verstopfter Kapillaren erklärt würde. In Folge kann eine verminderte Gerinnungsaktivierung angenommen werden.

Ob die alleinige Korrektur des pH-Wertes durch Puffergabe die Azidämieeffekte auf das Gerinnungssystem vollständig reversibel macht, bleibt unklar. Aus anderen Untersuchungen ist bekannt, dass eine komplette Restitution durch alleiniges Puffern nicht möglich ist [20, 50]. Zudem scheinen die verschiedenen Effektoren des Gerinnungssystems nicht einheitlich zu reagieren [20]. Interessanterweise bleibt die Gerinnungsstörung unabhängig von der Wahl des Puffers (THAM, Bikarbonat) zum Azidose-Ausgleich bestehen [16, 20].

THAM-Puffer + CVVH vs. ECMO: Pufferstrategien auf Bikarbonatbasis sind im Kontext einer lungenprotektiven Beatmung nachteilig, da sie über eine Erhöhung der CO<sub>2</sub>-Level zu einer Verstärkung der permissiven Hyperkapnie/Azidämie beitragen können [44, 51]. Gegenüber Bikarbonat ermöglicht die Gabe von THAM-Puffer [14] eine Azidämiekorrektur welche CO<sub>2</sub>/Ventilations-unabhängig bleibt.

Nach seiner Protonierung ( $R-NH_2 + H^+ = R-NH_3^+$ ) wird das Substrat glomerulär filtriert und renal ausgeschieden oder über ein ggf. schon vorhandenes Nierenersatz-Verfahren (RRT) im Intensivpatienten CO<sub>2</sub>-unabhängig eliminiert.

Die Kombination aus THAM und CVVH bzw. einem RRT-Verfahren zur Azidosekorrektur bietet den Vorteil, dass eine lungenprotektive Beatmungsstrategie parallel zur CO<sub>2</sub>-Elimination weiter geführt werden kann. Dies ist insbesondere in einem Patientengut von Bedeutung, welches auf eine straffe CO<sub>2</sub>-Kontrolle angewiesen ist, z. B. beim schweren SHT mit ALI/ARDS in Folge [52].

RRT-Verfahren finden in einer großen Subgruppe von Intensivpatienten Anwendung, so dass die Möglichkeit zur CO<sub>2</sub>-Elimination über dieses System den Einsatz weiterer invasiver Prozeduren und deren Risiken/Komplikationen vermeiden könnte. So benötigen extrakorporale Membranoxygenatoren zur suffizienten CO<sub>2</sub>-Elimination hohe Flussraten, welche mit Pumpen aufrechterhalten werden. Dies beeinflusst wiederum Rheologie und Gerinnungssystem (Hämolysegefahr, mechanischer Stress für Thrombozyten und Erythrozyten, künstliche Oberflächen s. o.). Der Einsatz pumpenloser, sog. *Low-flow-Systeme (p-ECLA)* [53, 54] bietet bezüglich der Rheologie sowie durch reduzierten Kontakt mit künstlichen Oberflächen bei adäquater Hämokompatibilität [55] möglicherweise einen Vorteil gegenüber konventionellen Systemen zur extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO). Jedoch bleiben die durch Heparin beschichtete Membranen und Kanülen bedingten intrinsischen Einflüsse auf das Gerinnungssystem weiterhin bestehen. Zudem benötigen pumpenlose arterio-venös geführte extrakorporale Verfahren eine ausreichend stabile Hämodynamik. Eine Beatmungs-bedingte permissive Hyperkapnie/Azidämie kann jedoch durch eine reduzierte kardiale Kontraktilität sowie eine reduzierte Sensitivität für Katecholamine die Hämodynamik verschlechtern [13, 56] und den Einsatz eines arterio-venös geführten CO<sub>2</sub>-Eliminations-Systems genau dann erschweren, wenn die vorangeschrittene Pathophysiologie den Einsatz begründet. Auch hier kann der Gebrauch von THAM-Puffer durch einen günstigen hämodynamischen Einfluss [13] vorteilhaft sein.

Urämie vs. Azidämie: Interessanterweise weisen die Ergebnisse der Gerinnungssituation unter Azidämie Ähnlichkeiten mit der im urämischen Patienten auf [57, 58]. Urämie, welche vornehmlich bei fortgeschrittener Nierenfunktionsstörung auftritt, ist oft mit einer Azidose assoziiert.

Unter klinischen Umständen ist der Einfluss der Urämie von einem möglichen Azidämie-Einfluss, als „Hintergrund-Trigger“ für Gerinnungsstörungen, jedoch nicht abgrenzbar. Die Elimination urämischer Toxine durch Nierenersatzverfahren kann die Gerinnungsfunktion nur partiell korrigieren [58]. Da Säure-Base-Störungen unter

und/oder zwischen den Therapiesitzungen ggf. weiter bestehen bleiben [59-61], könnte dies einen weiteren Hinweis auf einen bisher unterschätzten Azidämie-Einfluss auf die Gerinnungsfunktion geben.

### **Zusammenfassung**

Die Aufrechterhaltung einer mehrstündigen, standardisierten Azidämie konnte durch Kombination aus kontinuierlicher Infusion eines 0,4 molaren Milchsäure-Salzsäuregemisches und paralleler Beatmung mit *low tidal volume Ventilation* in Schweinen von 40 kg Körpergewicht erfolgreich etabliert werden. Gleichzeitig war der Einsatz einer kommerziell erhältlichen Hämofiltrationsmaschine mit klinisch vergleichbaren Blutfluss- und Filtrationsraten möglich. Es konnte gezeigt werden, dass verschiedene Therapiebausteine, wie eine lungenprotektive Beatmungsstrategie unter permissiver Hyperkapnie und Azidose toleranz, mit der Biokompatibilitäts-Reaktion auf eine CVVH miteinander interagieren. Die Systemnutzung einer CVVH kombiniert mit Puffergabe zum Azidoseausgleich, führte zur Modulation des Gerinnungssystems und veränderte dadurch die Biokompatibilitätsreaktionen.

Integrativer Forschungsansatz zur Optimierung von Therapieleistung und Hämokompatibilität eines Organersatzverfahrens, wie der CVVH, bleibt es, frühes Filterversagen zu verhindern sowie therapielimitierende Blutungskomplikationen zu reduzieren. Die Wiederherstellung einer annähernd physiologischen Gerinnungsfunktion stellt hier einen zentralen Punkt dar. Unter dem Aspekt eines möglichst guten Nutzen-Risiko-Verhältnisses für den Intensivpatienten und als Resümee der vorliegenden Arbeit wäre es wünschenswert, den Einfluss einzelner Therapie-Variablen aufeinander, im Sinne einer verbesserten „Begleittherapie“, unter dem Einsatz kontinuierlicher Nierenersatzverfahren zukünftig systematisch zu evaluieren.

## Abkürzungsverzeichnis

ARDS/ALI	Acute respiratory distress syndrome/acute lung injury
BGA	Blutgasanalyse
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CVVH	kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration
ECMO	Extracorporeal Membrane Oxygenation
ECLA	Extracorporeal Lung Assist
F	French
FiO <sub>2</sub>	Inspiratorische Sauerstoff-Fraktion
h	Stunden
i.v.	intravenös
HES	Hydroxyethylstärke
kDa	Kilodalton
M	Mol
min	Minuten
NaCl	Natriumchlorid
P <sub>a</sub> CO <sub>2</sub>	Arterieller Kohlendioxidpartialdruck
RRT	renal replacement therapy
THAM	Tris-hydroxymethylaminomethan
TIVA	totale intravenöse Anästhesie
vWF	von Willebrand Faktor

## Literaturverzeichnis

1. Joannidis, M., *Continuous renal replacement therapy in sepsis and multisystem organ failure*. Semin Dial, 2009. **22**(2): p. 160-4.
2. Bellomo, R., P.M. Honore, J. Matson, C. Ronco, and J. Winchester, *Extracorporeal blood treatment (EBT) methods in SIRS/Sepsis*. Int J Artif Organs, 2005. **28**(5): p. 450-8.
3. Joannidis, M. and H.M. Oudemans-van Straaten, *Clinical review: Patency of the circuit in continuous renal replacement therapy*. Crit Care, 2007. **11**(4): p. 218.
4. Oudemans-van Straaten, H.M., J.P. Wester, A.C. de Pont, and M.R. Schetz, *Anticoagulation strategies in continuous renal replacement therapy: can the choice be evidence based?* Intensive Care Med, 2006. **32**(2): p. 188-202.
5. Pannu, N., S. Klarenbach, N. Wiebe, B. Manns, and M. Tonelli, *Renal replacement therapy in patients with acute renal failure: a systematic review*. JAMA, 2008. **299**(7): p. 793-805.
6. Petaja, J., *Inflammation and coagulation. An overview*. Thromb Res, 2011. **127 Suppl 2**: p. S34-7.
7. Levi, M., E. de Jonge, and T. van der Poll, *Sepsis and disseminated intravascular coagulation*. J Thromb Thrombolysis, 2003. **16**(1-2): p. 43-7.
8. Martini, W.Z., *Coagulopathy by hypothermia and acidosis: mechanisms of thrombin generation and fibrinogen availability*. J Trauma, 2009. **67**(1): p. 202-8; discussion 208-9.
9. Lier, H., H. Krep, S. Schroeder, and F. Stuber, *Preconditions of hemostasis in trauma: a review. The influence of acidosis, hypocalcemia, anemia, and hypothermia on functional hemostasis in trauma*. J Trauma, 2008. **65**(4): p. 951-60.
10. Lier, H., B.W. Bottiger, J. Hinkelbein, H. Krep, and M. Bernhard, *Coagulation management in multiple trauma: a systematic review*. Intensive Care Med, 2011. **37**(4): p. 572-82.
11. Unger, J.K., C. Haltern, J.B. Kobela, R. Francis, R. Rossaint, and C. Grosse-Siestrup, *Hydroxyethyl starch 130 kd/0.4 and albumin improve CVVH biocompatibility whereas gelatin and hydroxyethyl starch 200 kd/0.5 lead to*

- adverse side effects of CVVH in anesthetized pigs.* Shock, 2006. **25**(5): p. 533-45.
12. Unger, J.K., K. Pietzner, R.C. Francis, J. Birnbaum, M.M. Theisen, A.J. Lemke, and S.M. Niehues, *Dual-lumen catheters for continuous venovenous hemofiltration: limits for blood delivery via femoral vein access and a potential alternative in an experimental setting in anesthetized pigs.* Crit Care, 2007. **11**(1): p. R18.
  13. Weber, T., H. Tschernich, C. Sitzwohl, R. Ullrich, P. Germann, M. Zimpfer, R.N. Sladen, et al., *Tromethamine buffer modifies the depressant effect of permissive hypercapnia on myocardial contractility in patients with acute respiratory distress syndrome.* Am J Respir Crit Care Med, 2000. **162**(4 Pt 1): p. 1361-5.
  14. Nahas, G.G., K.M. Sutin, C. Fermon, S. Streat, L. Wiklund, S. Wahlander, P. Yellin, et al., *Guidelines for the treatment of acidaemia with THAM.* Drugs, 1998. **55**(2): p. 191-224.
  15. Marano, M., F. Iodice, F. Stoppa, C. Tomasello, D. Perrotta, C. Cecchetti, M. Di Nardo, et al., *Treatment of severe diabetic acidosis with tris-hydroxymethyl aminomethane in a thirteen-year-old child.* Minerva Anesthesiol, 2008. **74**(3): p. 93-5.
  16. Martini, W.Z., M.A. Dubick, C.E. Wade, and J.B. Holcomb, *Evaluation of tris-hydroxymethylaminomethane on reversing coagulation abnormalities caused by acidosis in pigs.* Crit Care Med, 2007. **35**(6): p. 1568-74.
  17. Levi, M. and T. van der Poll, *Inflammation and coagulation.* Crit Care Med, 2010. **38**(2 Suppl): p. S26-34.
  18. Kellum, J.A. and M.K. Dishart, *Effect of hemofiltration filter adsorption on circulating IL-6 levels in septic rats.* Crit Care, 2002. **6**(5): p. 429-33.
  19. De Vriese, A.S., F.A. Colardyn, J.J. Philippe, R.C. Vanholder, J.H. De Sutter, and N.H. Lameire, *Cytokine removal during continuous hemofiltration in septic patients.* J Am Soc Nephrol, 1999. **10**(4): p. 846-53.
  20. Martini, W.Z., M.A. Dubick, A.E. Pusateri, M.S. Park, K.L. Ryan, and J.B. Holcomb, *Does bicarbonate correct coagulation function impaired by acidosis in swine?* J Trauma, 2006. **61**(1): p. 99-106.
  21. John, S. and K.U. Eckardt, *Renal replacement strategies in the ICU.* Chest, 2007. **132**(4): p. 1379-88.

22. Wohner, N., *Role of cellular elements in thrombus formation and dissolution*. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem, 2008. **6**(3): p. 224-8.
23. Nudel, D.B., A. Camara, and M. Levine, *Comparative effects of bicarbonate, tris-(hydroxymethyl)aminomethane and dichloroacetate in newborn swine with normoxic lactic acidosis*. Dev Pharmacol Ther, 1993. **20**(1-2): p. 20-5.
24. Kaplan, L.J. and S. Frangos, *Clinical review: Acid-base abnormalities in the intensive care unit -- part II*. Crit Care, 2005. **9**(2): p. 198-203.
25. Morris, C.G. and J. Low, *Metabolic acidosis in the critically ill: part 2. Causes and treatment*. Anaesthesia, 2008. **63**(4): p. 396-411.
26. Aird, W.C., *Coagulation*. Crit Care Med, 2005. **33**(12 Suppl): p. S485-7.
27. Oliver, W.C., *Anticoagulation and coagulation management for ECMO*. Semin Cardiothorac Vasc Anesth, 2009. **13**(3): p. 154-75.
28. Gorbet, M.B. and M.V. Sefton, *Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes*. Biomaterials, 2004. **25**(26): p. 5681-703.
29. Tillman, J., *Heparin versus citrate for anticoagulation in critically ill patients treated with continuous renal replacement therapy*. Nurs Crit Care, 2009. **14**(4): p. 191-9.
30. Oudemans-van Straaten, H.M., *Citrate anticoagulation for continuous renal replacement therapy in the critically ill*. Blood Purif, 2010. **29**(2): p. 191-6.
31. Tan, H.K., I. Baldwin, and R. Bellomo, *Continuous veno-venous hemofiltration without anticoagulation in high-risk patients*. Intensive Care Med, 2000. **26**(11): p. 1652-7.
32. Uchino, S., N. Fealy, I. Baldwin, H. Morimatsu, and R. Bellomo, *Continuous venovenous hemofiltration without anticoagulation*. ASAIO J, 2004. **50**(1): p. 76-80.
33. Smith, S.A., *The cell-based model of coagulation*. J Vet Emerg Crit Care (San Antonio), 2009. **19**(1): p. 3-10.
34. Unger, J.K., C. Haltern, B. Portz, B. Dohmen, A. Gressner, and R. Rossaint, *Relation of haemofilter type to venous catheter resistance is crucial for filtration performance and haemocompatibility in CVVH--an in vitro study*. Nephrol Dial Transplant, 2006. **21**(8): p. 2191-201.

35. Suzuki, N., Z. Fujimoto, T. Morita, A. Fukamizu, and H. Mizuno, *pH-Dependent structural changes at Ca(2+)-binding sites of coagulation factor IX-binding protein*. J Mol Biol, 2005. **353**(1): p. 80-7.
36. Hoffman, M., *The cellular basis of traumatic bleeding*. Mil Med, 2004. **169**(12 Suppl): p. 5-7, 4.
37. Hyde, J.A., J.A. Chinn, and T.R. Graham, *Platelets and cardiopulmonary bypass*. Perfusion, 1998. **13**(6): p. 389-407.
38. Zhang, Z., H. Ni, and B. Lu, *Variables associated with circuit life span in critically ill patients undergoing continuous renal replacement therapy: a prospective observational study*. ASAIO J, 2012. **58**(1): p. 46-50.
39. Ijland, M.M., L.M. Heunks, and J.G. van der Hoeven, *Bench-to-bedside review: hypercapnic acidosis in lung injury--from 'permissive' to 'therapeutic'*. Crit Care, 2010. **14**(6): p. 237.
40. Rogovik, A. and R. Goldman, *Permissive hypercapnia*. Emerg Med Clin North Am, 2008. **26**(4): p. 941-52, viii-ix.
41. *Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network*. N Engl J Med, 2000. **342**(18): p. 1301-8.
42. Villar, J., R.M. Kacmarek, L. Perez-Mendez, and A. Aguirre-Jaime, *A high positive end-expiratory pressure, low tidal volume ventilatory strategy improves outcome in persistent acute respiratory distress syndrome: a randomized, controlled trial*. Crit Care Med, 2006. **34**(5): p. 1311-8.
43. Stewart, T.E., M.O. Meade, D.J. Cook, J.T. Granton, R.V. Hodder, S.E. Lapinsky, C.D. Mazer, et al., *Evaluation of a ventilation strategy to prevent barotrauma in patients at high risk for acute respiratory distress syndrome. Pressure- and Volume-Limited Ventilation Strategy Group*. N Engl J Med, 1998. **338**(6): p. 355-61.
44. O'Croinin, D., M. Ni Chonghaile, B. Higgins, and J.G. Laffey, *Bench-to-bedside review: Permissive hypercapnia*. Crit Care, 2005. **9**(1): p. 51-9.
45. Rotstein, O.D., V.D. Fiegel, R.L. Simmons, and D.R. Knighton, *The deleterious effect of reduced pH and hypoxia on neutrophil migration in vitro*. J Surg Res, 1988. **45**(3): p. 298-303.



46. Simchowicz, L. and E.J. Cragoe, Jr., *Regulation of human neutrophil chemotaxis by intracellular pH*. J Biol Chem, 1986. **261**(14): p. 6492-500.
47. Bastarache, J.A., L. Wang, T. Geiser, Z. Wang, K.H. Albertine, M.A. Matthay, and L.B. Ware, *The alveolar epithelium can initiate the extrinsic coagulation cascade through expression of tissue factor*. Thorax, 2007. **62**(7): p. 608-16.
48. Bastarache, J.A., *The complex role of fibrin in acute lung injury*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009. **296**(3): p. L275-6.
49. Unger, J.K., C. Haltern, B. Dohmen, A. Gressner, C. Grosse-Siestrup, D.A. Groneberg, and R. Rossaint, *Albumin and hydroxyethyl starch 130 kDa/0.4 improve filter clearance and haemocompatibility in haemo- and plasmafiltration--an in vitro study*. Nephrol Dial Transplant, 2005. **20**(9): p. 1922-31.
50. Brohi, K., M.J. Cohen, and R.A. Davenport, *Acute coagulopathy of trauma: mechanism, identification and effect*. Curr Opin Crit Care, 2007. **13**(6): p. 680-5.
51. Goldsmith, D.J., L.G. Forni, and P.J. Hilton, *Bicarbonate therapy and intracellular acidosis*. Clin Sci (Lond), 1997. **93**(6): p. 593-8.
52. Mascia, L., E. Zavala, K. Bosma, D. Pasero, D. Decaroli, P. Andrews, D. Isnardi, et al., *High tidal volume is associated with the development of acute lung injury after severe brain injury: an international observational study*. Crit Care Med, 2007. **35**(8): p. 1815-20.
53. Bein, T., M.N. Scherer, A. Philipp, F. Weber, and C. Woertgen, *Pumpless extracorporeal lung assist (pECLA) in patients with acute respiratory distress syndrome and severe brain injury*. J Trauma, 2005. **58**(6): p. 1294-7.
54. Bein, T., F. Weber, A. Philipp, C. Prasser, M. Pfeifer, F.X. Schmid, B. Butz, et al., *A new pumpless extracorporeal interventional lung assist in critical hypoxemia/hypercapnia*. Crit Care Med, 2006. **34**(5): p. 1372-7.
55. Kopp, R., R. Bensberg, D. Henzler, A. Niewels, S. Randerath, R. Rossaint, and R. Kuhlen, *Hemocompatibility of a miniaturized extracorporeal membrane oxygenation and a pumpless interventional lung assist in experimental lung injury*. Artif Organs, 2010. **34**(1): p. 13-21.
56. Camilion de Hurtado, M.C., M.I. Argel, and H.E. Cingolani, *Influence of acid-base alterations on myocardial sensitivity to catecholamines*. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 1981. **317**(3): p. 219-24.

57. Boccoardo, P., G. Remuzzi, and M. Galbusera, *Platelet dysfunction in renal failure*. *Semin Thromb Hemost*, 2004. **30**(5): p. 579-89.
58. Galbusera, M., G. Remuzzi, and P. Boccoardo, *Treatment of bleeding in dialysis patients*. *Semin Dial*, 2009. **22**(3): p. 279-86.
59. Ledebø, I., *Acid-base correction and convective dialysis therapies*. *Nephrol Dial Transplant*, 2000. **15 Suppl 2**: p. 45-8.
60. Davenport, A., E.J. Will, and A.M. Davison, *Hyperlactataemia and metabolic acidosis during haemofiltration using lactate-buffered fluids*. *Nephron*, 1991. **59**(3): p. 461-5.
61. Rocktaschel, J., H. Morimatsu, S. Uchino, C. Ronco, and R. Bellomo, *Impact of continuous veno-venous hemofiltration on acid-base balance*. *Int J Artif Organs*, 2003. **26**(1): p. 19-25.

## **Erklärung über den Anteil der Promovendin**

Frau Janis Rebecca Bedarf ist seit 2008 als Doktorandin und Mitglied der Arbeitsgruppe Extrakorporale Detoxifikation unter der Leitung von PD Dr. med. vet. Juliane Unger wissenschaftlich tätig. Frau Bedarf hat sich ihr Promotionsthema aus der Gesamthematik selbst gewählt und nach Überlassung des Forschungsthemas war sie wesentlich an Vorbereitung, Durchführung, Auswertung, Methoden-etablierung und Veröffentlichung der die Publikationen PI-III betreffenden Versuche/Daten beteiligt. Darüber hinaus hat Frau Bedarf an weiteren Projektabschnitten mitgearbeitet und weitere Manuskripte in Erst- und Ko-Autorenschaft geschrieben bzw. überarbeitet und zur Publikation eingereicht. Auch die Präsentation ihrer Ergebnisse auf einem Anästhesiekongress gehört zu ihrer Gesamtleistung. Frau Bedarf hat sich im Rahmen ihrer Dissertationsarbeit sowie darüber hinausgehend folgende Methoden angeeignet und bei Methodenetablierung selbstständig mitgewirkt: Anästhesieverfahren im Schweinmodell, Instrumentierung für hämodynamische Messungen im Akutversuch, CVVH, Sektionen, Histologie mit Standardverfahren und Immunhistologie.

Im Rahmen anästhesiologischer Dienstleistungen hat Frau Bedarf zudem zur Erweiterung ihrer Methodenkenntnisse in intensivmedizinischen Workshops am Tiermodell (ARDS, ECMO, ECLA, Abdominal- und Thoraxtrauma) mitgewirkt.

### **PI:**

Russ M, Esche V, Ott S, **Bedarf J**, Unger JK. Stable mixed acidemia in anesthetized pigs-a model for research on biocompatibility of hemofilters under a deteriorated acid-base balance. *Artif Organs* 2010;35:192-196

Anteil der Promovendin: 35%

### Beitrag im Einzelnen:

Beteiligung an Vor- und Nachbereitungen und Durchführung der Experimente mit Ausnahme der Versuchstiere, die nur Milchsäure erhalten hatten. Im Besonderen: Durchführung der Anästhesie, Instrumentierung, Azidämieinduktion, Vorbereiten und Betreiben der CVVH. Probenentnahme und -aufarbeitung, Koordination mit den Laboren. Korrekturlesen während der Manuskripterstellung.

## **PII:**

**Bedarf JR**, Russ M, Ott S, Keckel T, Kirschfink M, Unger JK. Influence of acidaemia and hypoxaemia on CVVH haemocompatibility in a porcine model. Nephrology Dialysis Transplantation. 2010; 25(9):2960-9

Anteil der Promovendin: 75%

### Beitrag im Einzelnen:

Beteiligung an Vor- und Nachbereitungen und Durchführung der Experimente. Im Besonderen: Durchführung der Anästhesie, Instrumentierung, Azidämieinduktion, Vorbereiten und Betreiben der CVVH. Probenentnahme und -aufarbeitung, Koordination mit den Laboren. Selbstständige Erstellung des gesamten Artikels inklusive statistischer Datenauswertung, Anfertigung der Tabellen und Abbildungen und Veröffentlichung des Artikels mit Einverständnis von PD. Dr. Juliane K. Unger.

## **PIII:**

Russ M, Deja M, Ott S, **Bedarf J**, Keckel T, Hiebl B, Wagner JJ, Unger JK. Experimental high volume hemofiltration (HVHF) with predilutional Tris-Hydroxymethylaminomethane (THAM) for correction of acidosis despite low tidal volume ventilation. Artif Organs 2011; 35(6):E108–E117

Anteil der Promovendin: 40%

### Beitrag im Einzelnen:

Beteiligung an Vor- und Nachbereitungen und Durchführung der Experimente. Im Besonderen: Durchführung der Anästhesie, Instrumentierung, Azidämieinduktion, Vorbereiten und Betreiben der CVVH. Probenentnahme und -aufarbeitung, Koordination mit den Laboren. Sektion der Versuchstiere mit Entnahme und Aufarbeitung von Gewebeproben. Histologische Aufarbeitung der entnommenen Gewebeproben inklusive Etablierung immunhistologischer Methoden (Daten noch nicht veröffentlicht). Korrekturlesen während der Manuskripterstellung.

## **Druckversion PI**

Russ M, Esche V, Ott S, **Bedarf J**, Unger JK. Stable mixed acidemia in anesthetized pigs-a model for research on biocompatibility of hemofilters under a deteriorated acid-base balance. *Artif Organs* 2010;35:192-196

DOI: 10.1111/j.1525-1594.2010.01053













## Druckversion PII

**Bedarf JR**, Russ M, Ott S, Keckel T, Kirschfink M, Unger JK. Influence of acidaemia and hypoxaemia on CVVH haemocompatibility in a porcine model. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2010; 25(9):2960-9

DOI: 10.1093/ndt/gfq126























## **Druckversion PIII**

Russ M, Deja M, Ott S, Bedarf J, Keckel T, Hiebl B, Wagner JJ, Unger JK. Experimental high volume hemofiltration (HVHF) with predilutional Tris-Hydroxymethylaminomethane (THAM) for correction of acidosis despite low tidal volume ventilation. *Artif Organs* 2011; 35(6):E108–E117

DOI: 10.1111/j.1525-1594.2011.01204



























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

## Vollständige Publikationsliste

### Veröffentlichungen

1. Russ M, Deja M, Ott S, **Bedarf J**, Keckel T, Hiebl B, Wagner JJ, Unger JK. Experimental high volume hemofiltration (HVHF) with predilutional Tris-Hydroxymethylaminomethane (THAM) for correction of acidosis despite low tidal volume ventilation. *Artif Organs* 2011;35(6):E108–E117
2. Russ M, Esche V, Ott S, **Bedarf J**, Unger JK. Stable mixed acidemia in anesthetized pigs—a model for research on biocompatibility of hemofilters under a deteriorated acid-base balance. *Artif Organs* 2010;35:192-196
3. Russ M, Ott S, **Bedarf JR**, Haacke N, Keckel T, Unger JK. Prolonged hypoxemia and acidemia in anesthetized pigs: a model for research on extracorporeal organ support in an intensive care setting. *Int J Artif Organs* 2010;33:544-552
4. **Bedarf JR**, Russ M, Ott S, Keckel T, Kirschfink M, Unger JK. Influence of acidaemia and hypoxaemia on CVVH haemocompatibility in a porcine model. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:2960-9
5. Keckel T, Russ M, **Bedarf JR**, Ott S, Hiebl B, Haacke N, Wagner JJ, Unger JK. In a porcine model of mixed acidemia HES 130/0.4 may support more stable hemodynamics during CVVH when compared to gelatine. *Int J Artif Organs in press*

### Zur Veröffentlichung eingereichte Artikel

1. **Bedarf JR**, Grosch-Ott S, Russ M, Wagner JJ, Hiebl B, Kirschfink M, Unger JK. Impact of different volume resuscitation fluids on coagulation and CVVH hemocompatibility in a porcine model. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*
2. Blank MC, **Bedarf JR**, Russ M, Grosch-Ott S, Thiele S, Unger JK. Total body Na<sup>+</sup>-depletion without hyponatraemia might trigger overtraining-like symptoms with sleeping disorders and increasing blood pressure: explorative case and literature study. *Medical Hypothesis*
3. Russ M, **Bedarf JR**, Grosch-Ott S, Haltern C, Rossaint R, Unger JK. First level prevention instead of third level intervention – a review of systematic experimental research to improve biocompatibility and performance of capillary membrane apheresis in critically ill patients. *Artificial Organs*

### Kongressbeiträge

1. Ott S, **Bedarf JR**, Russ M, Keckel T, Kirschfink, Unger JK. Morphologische Nierenschäden treten bereits nach kurz anhaltender Azidämie auf – Ein Modell im Schwein. *HAI 2009, Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung* 2009; 50: 658
2. **Bedarf JR**, Ott S, Russ M, Keckel T, Kirschfink M, Unger JK. Azidämie und additive Hypoxämie – Einfluß auf die CVVH-Hämokompatibilität und Filterfunktion im Schweinmodell. *HAI 2009, Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung* 2009; 50: 627

## **Erklärung über die Selbständigkeit**

„Ich, Janis Rebecca Bedarf, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: **“Einfluss intensivmedizinischer Therapiekonzepte auf die Hämokompatibilität einer kontinuierlich veno-venösen Hämofiltration (CVVH) unter besonderer Betrachtung des Gerinnungssystems“**

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

## **Danksagung**

Insbesondere PD Dr. med. vet. Juliane K. Unger für jahrelange Unterstützung, Fördern und Fordern und die Begeisterung für wissenschaftliches Arbeiten.

Meinen Mitstreitern Martin Russ, Sascha Ott, Tobias Keckel, Johanna Josophina Wagner und Vera Esche für die angenehme und motivierende Zusammenarbeit sowie stets anregende und kritische Diskussion.

Dr. med. vet. Dipl. Ing. Bernhard Hiebl und Prof. Dr. med. Michael Kirschfink für langjährige Kooperation und wissenschaftliche Unterstützung der Arbeitsgruppe.

Herrn Prof. Dr. Georg Duda für die Möglichkeit zur Nutzung der Histologiellabore und der Bildanalyse des Julius Wolff Instituts.

Frau Gabriele Hardung und Gabriela Korus für die qualifizierte Einarbeitung in histologisches Arbeiten sowie stetige unterstützende Diskussion histologischer und immunhistochemischer Fragen.

An dieser Stelle möchte ich ebenso allen stillen Helfern, die nicht namentlich erwähnt wurden, jedoch zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, danken.