

4. Patienten und Methoden

4.1 Patientendaten

Sechzehn Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz wurden in die Studie eingeschlossen. Alle Patienten waren in einem katecholaminrefraktären low-cardiac-output Syndrom. Bei acht Patienten wurde das System Micromed DeBakey VAD implantiert und bei acht weiteren Patienten das System Novacor N100. Es wurde keine Randomisierung der Patienten vorgenommen, die Patienten in beiden Gruppen wurden im gleichen Zeitraum operiert.

4.2 Entscheidung zur VAD-Implantation

Alle Patienten hatten eine terminale Herzinsuffizienz NYHA Klasse IV. Unter maximaler medikamentöser Therapie mit ACE-Hemmern und β -Blockern konnte keine Rekompensation erreicht werden, sodaß alle Patienten eine Katecholamintherapie in steigender Dosierung erhielten. Alle Patienten wurden auch als Herztransplantationskandidaten bei Eurotransplant angemeldet. Unsere Indikation für Implantation eines mechanischen Kreislaufunterstützungssystems sind zur Zeit:

- 1) Herzinsuffizienz NYHA Klasse IV mit Vorgeschichte von Dekompensationen
- 2) Cardiac Index von weniger als 2 L/min /m² unter maximaler medikamentöser Therapie
- 3) Ausgeschöpfte andere chirurgische Möglichkeiten (Revaskularisation der Koronararterien, Korrektur der Klappenerkrankungen oder angeborener Herzfehler)

4.3 Aufklärung und Vorbereitung der Patienten für eine Implantation eines mechanischen Unterstützungssystems

Die Vorbereitungen zur LVAD-Implantation entsprechen den Vorbereitungen der Patienten für einen herzchirurgischen Eingriff mit einer Herz-Lungen Maschine. Der Operateur hat in jedem einzelnen Fall den Patienten oder die Angehörigen über andere mögliche therapeutische Möglichkeiten, Prognose, Komplikationen und Risiken der Implantation eines mechanischen Kreislaufunterstützungssystems und der eventuell nachfolgenden Herztransplantation aufgeklärt. Weiterhin wurde auf die Notwendigkeit einer

Blutverdünnungstherapie während der Gesamtdauer der Behandlung hingewiesen. Die klinische Anwendung des Micromed DeBakey VAD Systems wurde durch das zuständige Ethikkomitee als ein Heilversuch genehmigt. Der Patient wurde darüber aufgeklärt und es wurde eine Versicherung zugunsten des Patienten abgeschlossen.

4.4 Anästhesie und Herz-Lungen Maschine während der LVAD-Implantation

Eine Anästhesie wurde unter Verwendung von Propofol, Sufentanyl und Pancuronium als Muskelrelaxanz in beiden Gruppen durchgeführt. Mannitol (100 ml der 20% Lösung) wurde in beiden Gruppen in der ersten Stunden der Operation gegeben.

Eine nicht pulsatile Herz-Lungen Maschine (HLM) mit unbeschichteten Schläuchen, Rollerpumpe und Membranoxygenator (Metronic, Parker, CO) sowie einem 40 µm arteriellen Filter (Pall, Dreieich, Deutschland) wurde bei allen Patienten verwendet. Die HLM wurde mit 1,6 Liter der kristalloiden Lösung gefüllt und dann mit einem 0.2 µm Filter (Pall, Dreieich, Deutschland) für 10 Minuten mit einem Fluß von 4 l/min präfiltriert. Die extrakorporale Zirkulation wurde bei allen Patienten bei milder Hypothermie von 32°C und systemischen Fluß von 3-3,5 L/min/m² durchgeführt.

Während der HLM erfolgte in beiden Gruppen die Antikoagulation durch Gabe von unfraktioniertem Heparin (Liquemin, Roche, Deutschland). Die Antikoagulation wurde mittels des Hepcon HMS (Medtronic, Parker,CO) überwacht. Postoperativ wurde die Wirkung vom Heparin mit der Gabe von Protamin antagonisiert.

Bei allen Patienten wurde während der HLM Aprotinin als i.v. Bolus von 2x10⁶ kIU, 2x10⁶ kIU in die Priminglösung und dann als kontinuierliche Infusion von 0,5x10⁶ kIU pro Stunde während und bis zu 4-6 Stunden nach Beenden der HLM infundiert. Während der Operation wurde ein Cellsaver C.A.T.S. (Fresenius GmbH, Bad Homburg, Deutschland) verwendet, um den Blutverlust zu minimieren und Fremdbluttransfusionen zu vermeiden. Während der HLM kam eine Kardiotomiesaugung in beiden Gruppen zum Einsatz.

Perioperativ erfolgte eine prophylaktische Gabe von Cefazolin (4x3g i.v.).

4.5 LVAD-Implantation

In beiden Gruppen wurde VAD-Implantation unter Anwendung der HLM ohne Kardioplegie am schlagenden bzw. induziert flimmernden Herzen durchgeführt. In beiden Gruppen erfolgte

zuerst die Anlage einer Anastomose der Einflußkanüle mit der Spitze des linken Ventrikels. Bei dem Novacor LVAD ist die Kanüle aus einem Kunststoff gefertigt (Dacron, C.R. Bard, Haverhill, PA) und bei dem Micromed DeBakey VAD aus Titan. Sodann erfolgte die Anastomose der Ausflußkanüle mit der Aorta ascendens, wobei diese bei beiden Systemen aus Kunststoff bestehen (Dacron, C.R. Bard, Haverhill, PA). Anschließend erfolgte die sorgfältige Entlüftung der Systeme.

Nach einigen Probeschlägen bzw. Umdrehungen übernahm das LVAD die Funktion des linken Ventrikels und ein Abgang von der HLM wurde möglich, zumeist unter Insuflation von NO in der Dosierung bis zu 40 ppm zur Senkung des pulmonalen Gefäßwiderstandes und unter moderaten i.v. Adrenalin dosierung.

4.6 Antikoagulationsprotokoll

In beiden Gruppen wurde ein gleiches Protokoll der Antikoagulation eingesetzt. Präoperativ wurden die Patienten mit unfraktioniertem Heparin behandelt, um eine partielle Thromboplastinzeit (aPTT) von 40-60 Sekunden zu erreichen.

Die postoperative Antikoagulation in beiden Gruppen wurde nach dem gleichen Protokoll durchgeführt. 12 Stunden nach der Operation erfolgte eine Antikoagulation mit unfraktioniertem Heparin mit einer Ziel-PTT von 60 Sekunden. Nach Entfernen aller Drainagen und zentraler Venenkatheter wurde die Antikoagulation überlappend auf Marcumar umgestellt. Eine Therapie mit Thrombozytenaggregationshemmern wurde nach Ergebnissen des Thrombozytenaggregationstests durchgeführt.

4.7 Untersuchungen

4.7.1 TCD-Messungen

Die transkranielle Dopplersonographie (TCD) wurde mit dem MULTI-DOP X4 Gerät (DWL Elektronische System GmbH, Deutschland) mit zwei 2-MHz Proben (links und rechts) mit einem Durchmesser von 1,7 cm durchgeführt. Die Proben wurden rund um den Kopf des Patienten mit einem speziellen elastischen Band fixiert. In einer halbsitzenden Position des Patienten wurde die Blutflußgeschwindigkeit in der Arteria cerebri media (ACM) gemessen

und die Flußform aufgezeichnet. Die Messungen erfolgten regelmäßig während der ersten zwei Wochen nach der Implantation des DeBakey VAD Systems. Darüber hinaus wurden die Messungen über die ganze Periode der Unterstützung mit dem Micromed DeBakey VAD fortgesetzt. Insgesamt wurden bei 5 Patienten 75 Messungen durchgeführt. Bei jeder Messung wurden die maximale und minimale Blutflußgeschwindigkeit (V_{\min} , V_{\max}) gemessen und die mittlere Blutflußgeschwindigkeit mittels der Software des Gerätes ausgerechnet und dokumentiert. Der Gosling Pulsationsindex ($PI=(V_{\max}-V_{\min})/V_{\text{mittel}}$) wurde bei jeder Messung mittels der Software für beiden ACM ausgerechnet und dokumentiert.

4.7.2 Blutdruckmessungen

Die präoperative und unmittelbar postoperative arterielle Blutdruckmessung erfolgte in beiden Gruppen mittels intraarteriell liegenden (Arteria radialis oder femoralis) flüssigkeitsgefüllten Kathetern. Die arterielle Blutdruckkurve wurde mit Hilfe eines Druckabnehmers (Truwave PX-600F, Baxter GmbH, Deutschland) an die Überwachungseinheit Solar 7000 (Marquette, Deutschland) übertragen. Nach der Stabilisierung der hämodynamischen Situation, in der Regel nach vier bis sechs Tagen, wurde die invasive Blutdrucküberwachung beendet.

Im weiteren Verlauf erfolgte in der Novacor Gruppe die Blutdruckmessung nach Riva-Rocci. In der DeBakey Gruppe wurde die Blutdruckmessung mittels einer handelsüblichen Blutdruckmanschette und mangels Pulsatilität eines portablen Dopplergerätes durchgeführt. Zuerst wurde mit dem Dopplergerät die Arteria radialis aufgefunden und ggf. ihre Position mit einem Stift markiert. Die Blutdruckmanschette wurde, wie bei der Methode üblich, am Oberarm angebracht und aufgepumpt. Anschliessend wurde der Druck in der Manschette langsam gesenkt. Der Luftdruck in der Manschette entsprach beim Ertönen eines kontinuierlichen Dopplersignals dem arteriellen Mitteldruck.

In die Auswertung wurden in der Novacor Gruppe die Werte der invasiven und der nicht invasiven Blutdruckmessungen eingeschlossen. In der DeBakey Gruppe sind aufgrund einer nicht validierten Datenlage nur die Werte der invasiven Blutdruckmessung in die Analyse eingegangen .

4.7.3 Echokardiographische Untersuchungen

Transösophageale echokardiographische Untersuchungen wurden regelmäßig präoperativ und postoperativ im Verlauf durchgeführt. Die linkenventrikuläre Auswurfsfraktion (LVEF), die rechtsventrikuläre Auswurfsfraktion (RVEF) und der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVEDD) wurden dokumentiert.

4.7.4 Blutentnahmen

Bei allen Patienten wurden einen Tag vor der Operation und dann täglich im Verlauf der Studie Blutproben für Routineuntersuchungen entnommen. Die nach den Routineuntersuchungen übriggebliebenen Reste wurden bei -70°C eingefroren und gelagert. Später erfolgte die Bestimmung von verschiedenen Parametern, die nicht in der Laborroutine beinhaltet waren (Inflammatorische Marker, Hirnmarker, Gerinnungsmarker).

4.7.5 Neurologische Untersuchungen

Bei allen Patienten erfolgten neurologische Untersuchungen am Tag vor der Operation und am 3. und 14. postoperativen Tag. Die Untersuchung wurde von einem zuständigen Stationsarzt durchgeführt. Bei der Untersuchung wurde der Wachheitszustand des Patienten, seine Orientierung zu Person, Zeit und Ort, sowie Pupillenmotorik und periphere Reflexe überprüft. Bei auffälligen oder unklaren Befunden erfolgte eine konsiliarische Untersuchung von einem Facharzt für Neurologie. Bei einem Patienten mit Verdacht auf eine intrakranielle Blutung erfolgte eine computertomographische Untersuchung des Kopfes.

4.7.6 Marker einer Hirnschädigung: Protein S100B und Neuronspezifische Enolase

Für die Bestimmung von Protein S100B (S100B) und Neuronspezifischer Enolase (NSE) wurden die bei -70°C gelagerten Reste aus den routinemäßig durchgeführten Blutentnahmen (Serum, zentrifugiert bei 3000 rpm für 10 Minuten) verwendet. Die Parameter wurden aus den am Tag vor der Operation und 4 Stunden nach Beenden der extrakorporalen Zirkulation,

am ersten, dritten, siebten und vierzehnten postoperativen Tag eingefrorenen Blutproben gemessen.

S100B wurde mit dem monoklonalen immunoluminometrischen Assay LIA-mat Sangtec R100 (Byk-Sangtec Diagnostica, Dietzenbach, Deutschland) gemessen. Das Assay benutzt drei monoklonale Antikörper, SMST12, SMSK25 und SMSK28, die spezifisch für S100B sind. Die untere Nachweisgrenze dieser Methode lag bei 0.02 µg/l, der Meßbereich bis 20 µg/l. Der intra-Assay-Variationskoeffizient (VK) war 0.055 für niedrige Konzentrationen (0.28 µg/l), 0.055 für mittlere Konzentrationen (1.83 µg/l), und 0.041 für hohe Konzentrationen (4.17 µg/l). Der Referenzwert lag bei >0.12 µg/l.

Die NSE wurde mit einem monoklonalen zweiseitigen immunoluminometrischen Assay LIA-mat NSE Prolifigen (Byk-Sangtec Diagnostica, Dietzenbach, Deutschland) bestimmt. Das Assay erfordert eine einmalige Inkubation. Die monoklonalen Antikörper binden sich an die γ -Subeinheit des Enzyms und der beiden $\gamma\gamma$ und $\alpha\gamma$ Dimers, die spezifisch für Neuronen und neuroektodermale Zellen sind.

Die untere Nachweisgrenze dieser Methode war 1.0 µg/l, der Meßbereich lag bis 200 µg/l. Der intra-Assay VK war 0.043 für niedrige Konzentrationen (6,6 µg/l), 0.066 für mittlere Konzentrationen (36.8 µg/L) und 0.026 für hohe Konzentrationen (54.9 µg/l). Der Referenzwert lag bei >12.5 µg/l.

4.7.7 Leberfunktionsparameter

Bei allen Patienten wurden am Tag vor der Operation und dann täglich im Verlauf Blutproben für Routineuntersuchungen entnommen. Die Blutproben wurden bei 3000 rpm für 10 Minuten zentrifugiert und das Serum wurde im hauseigenen Akutlabor analysiert.

Aspartat-Aminotransferase (SGOT), Lactatdehydrogenase (LDH), γ -Glutamyl-Transferase (γ -GT), und Gesamtbilirubin wurden mit dem 917 Automatic Analyzer (Hitachi, Roche, Schweiz) bestimmt.

SGOT und LDH wurden mit der Methoden der kinetischen photometrischen Bestimmung nach der Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie analysiert. Das zu bestimmende Enzym katalysiert eine chemische Reaktion unter Bildung von NAD bzw. von NADPH. Die photometrisch gemessene Absorptionsänderung des Enzyms NADH und NADP pro Zeiteinheit dient als Maß der Reaktionsgeschwindigkeit. Die Geschwindigkeit ist proportional der vorliegenden Enzymaktivität. Die Meßwellenlänge lag bei 340 nm. Der

Referenzbereich für LDH liegt bei Männern zwischen 120 und 240 U/l, bei Frauen zwischen 120 und 240 U/l. Der Referenzbereich für SGOT bei Männern bis 18 U/l, bei Frauen bis 15 U/l.

Die γ -GT wurde nach der Methode des kinetischen Farbtests analysiert. Das zu bestimmende Enzym katalysiert eine chemische Reaktion zur Bildung eines stabilen Farbstoffes. Die Zunahme der Farbintensität pro Zeiteinheit ist der Aktivität des zu bestimmenden Enzyms proportional. Die Meßwellenlängen liegen bei 405 nm. Der Referenzbereich liegt zwischen 2 und 28 U/l.

Das Gesamtbilirubin wurde nach der DPD-Methoden für die Bestimmung des Gesamtbilirubins analysiert. Das zu bestimmende Substrat bildet mit dem Reagenz in saurem oder alkalischen Milieu einen Farbkomplex. Die Intensität der Färbung ist proportional der Konzentration des Analyten. Die Meßwellenlängen liegen bei 546 nm. Der Referenzbereich liegt bis 1.0 mg/dl.

4.7.8 Nierenfunktionsparameter

Bei allen Patienten wurde am Tag vor der Operation und dann täglich im Verlauf Blutproben für Routineuntersuchungen entnommen. Die Blutproben wurden bei 3000 rpm für 10 Minuten zentrifugiert und das Serum wurde im hauseigenen Akutlabor analysiert. Um die Nierenfunktion zu beurteilen, wurden täglich Harnstoff- und Kreatininkonzentrationen im Serum, sowie Urinproduktion analysiert.

Die Untersuchung wurde mit dem automatischen Analyzer 917 (Hitachi, Roche, Schweiz) durchgeführt. Der Harnstoff wurde mit einem enzymatischem UV-Test bestimmt. Durch Hilfsenzyme entsteht bei der Umsetzung des Substrats NAD. Die Extinktionsabnahme $\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}$ z.B. bei 366 nm wird kinetisch verfolgt. Der Referenzbereich lag zwischen 10 und 50 mg/dl.

Kreatinin im Serum wurde mit einem kinetischen Farbtest bestimmt. Das zu bestimmende Substrat bildet mit dem Reagenz in saurem oder alkalischen Milieu einen Farbkomplex. Die Intensität der Färbung ist proportional der Konzentration des Analyten. Die Meßwellenlänge lag bei 505 nm. Der Referenzbereich lag bei Männern zwischen 0,6 und 1,1 mg/dl und bei Frauen zwischen 0,5 und 0,9 mg/dl.

Die 24-Stunden Urinproduktion wurde quantitativ anhand der Daten in den Krankenakten analysiert.

4.7.9 Gerinnungsparameter

Für die Bestimmung der Gerinnungsparameter wurden die bei -70°C gelagerten Reste aus routinemäßig durchgeführten Blutentnahmen (Plasma, zentrifugiert bei 3000 rpm für 10 Minuten) verwendet. Die Gerinnungsparameter wurden in den am Tag vor der Operation und am ersten, dritten, fünften, siebten, zehnten und vierzehnten postoperativen Tag eingefrorenen Blutproben gemessen.

Das β -Thromboglobulin wurde in CTAD Plasma mit ASSERACHROM β -TG ELISA (Boehringer, Mannheim, Deutschland) gemessen. Der Referenzbereich lag zwischen 10 und 40 IU/ml.

Faktor XIIa (FXIIa) D-Dimere, Plasmin- α 2-antiplasmin Komplex (PAP), und Thrombin-Antithrombin Complex (TAT) wurden im Zitratplasma gemessen.

Faktor FXIIa wurde mit einem FXIIa ELISA Test (PROGEN; Heidelberg, Deutschland) bestimmt. Der Interassay-VK lag zwischen 0,11 für niedrige Konzentrationen (1,6 ng/ml) und 0,052 für hohe Konzentrationen (10,4 ng/ml). Der Referenzbereich lag zwischen 18 und 25 ng/ml.

D-Dimere wurden mit einem AUTO Dimertest (Organon Technika, Eppelheim, Deutschland) bestimmt, der Referenzbereich lag zwischen 130 und 200 $\mu\text{g/l}$.

Die Bestimmung von TAT Complex wurde mit ENZYGNOST TAT micro ELISA (Dade Behring, Marburg, Deutschland) durchgeführt. Der Interassay-VK lag zwischen 0,06 für niedrige Konzentrationen und 0,09 für hohe Konzentrationen. Der Messbereich lag zwischen 2 und 60 $\mu\text{g/ml}$. Der Referenzbereich lag zwischen 1.0 und 4.1 $\mu\text{g/l}$.

Das Plasmin/ α ₂-Antiplasmin-Komplex (PAP) Komplex wurde mit ENZYGNOST PAP ELISA (Dade Behring, Marburg, Deutschland) bestimmt. Der Interassay-VK lag zwischen 0,035 für niedrige Konzentrationen und 0,11 für hohe Konzentrationen (601 ng/ml). Der Messbereich des Test lag zwischen 50 und 5000 $\mu\text{g/l}$. Der Referenzbereich lag zwischen 120 und 700 $\mu\text{g/l}$. Zusätzlich wurde die Thrombozytenzahl und Thrombozytensubstitution in beiden Gruppen analysiert.

4.7.10 Inflammatorische Parameter

Für die Bestimmung von inflammatorischen Parametern wurden die bei -70°C gelagerten Reste aus der routinemäßig durchgeführten Blutentnahmen (Serum, zentrifugiert bei 3000

rpm für 10 Minuten) verwendet. Die inflammatorischen Parameter wurden in den am Tag vor der Operation und am ersten, dritten, fünften, siebten, zehnten und vierzehnten postoperativen Tag eingefrorenen Blutproben gemessen.

Die Bestimmung von Tumor-Nekrose-Faktor α wurde mit INNOTEST hTNF α Immunoassay (Innogenetics, Zwijndrecht, Belgien) durchgeführt. Der Interassay-VK lag zwischen 0,077 für niedrige Konzentrationen (84 pg/ml) und 0,081 für hohe Konzentrationen (177 pg/ml). Die untere Nachweisgrenze lag bei 6 pg/ml. Der Referenzbereich lag bei 39 pg/ml.

Der Interleukin-6 (IL-6) wurde mit INNOTEST hIL6 (Innogenetics) ELISA gemessen. Der Interassay-VK lag zwischen 0,081 für niedrige Konzentrationen (31 pg/ml) und 0,079 für hohe Konzentrationen (601 pg/ml). Die untere Nachweisgrenze lag bei 1,2 pg/ml. Der Referenzbereich lag bei 41 pg/ml.

Die Polynukleäre Leukozytäre Elastase (PNM EL) wurde mit PNM ELASTASE (Merck, Deutschland) ELISA gemessen, die Werte $>30 \mu\text{g/l}$ wurden als pathologisch ausgewertet.

Die Bestimmung von Komplementfaktor C5a (C5a) wurde mit ENZYGNOST C5a micro ELISA (Behringwerke, Marburg, Deutschland) durchgeführt, der Referenzbereich lag zwischen 150 und 500 $\mu\text{g/ml}$.

Die Bestimmung von Komplementfaktor C3a (C3a) wurde mit Complement C3a-des-arg-ELISA (Progen, Heidelberg, Deutschland) durchgeführt, der Referenzbereich lag bei 200 $\mu\text{g/ml}$.

Zusätzlich wurde die Leukozytenzahl in beiden Gruppen analysiert.