

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

DISSERTATION

**Hämodynamik im porcinen Azidämie-Hypoxie-Modell -  
Einfluss durch Kolloidinfusion, CVVH-Anwendung und  
Therapie mit THAM-Puffer**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Tobias Keckel

aus Forst (Lausitz)

Datum der Promotion: 25.10.2013

## **Inhaltsverzeichnis**

1. Zusammenfassung der Publikationsdissertation	2
1.1. Abstrakt (deutsch)	2
1.2. Abstract (englisch)	3
1.3. Einleitung und Zielsetzung	4
1.4. Methodik	5
1.5. Ergebnisse	8
1.6. Diskussion	14
1.7. Literaturverzeichnis	20
2. Eidesstattliche Versicherung	22
3. Anteilserklärung	23
4. Publikationen eingereicht zur Dissertation	25
5. Lebenslauf	57
6. Vollständige Publikationsliste	58
7. Danksagung	59

# 1. Zusammenfassung

## 1.1. Abstrakt

Hintergrund: Vorherige in vitro und Tiermodell-Studien zeigten, dass die Biokompatibilitätsreaktionen bei Anwendung einer kontinuierlichen venovenösen Hämofiltration (CVVH) durch Kolloide beeinflusst wird. Im Schweinemodell war die Begleitinfusion mit 6% HES 130 kDa/0,4 (HES130) im Vergleich zu 4% Gelatine (GEL) mit einer besseren Hämodynamik assoziiert. Da viele Patienten, die ein Nierenunterstützungsverfahren benötigen, eine Azidose aufweisen, untersuchten wir, ob sich diese Beobachtung zur Hämodynamik unter Azidämie wiederholt und das Kolloid als dominanter Faktor identifiziert werden kann. Zudem sollte untersucht werden, ob durch Kombination der THAM-Puffer-Infusion und CVVH eine suffiziente Therapie einer gemischten Azidämie möglich ist. Aufbauend auf dem eingesetzten Versuchsmodell sollte die Fragestellung auf hypoxämische Zustände erweitert und dafür zunächst ein kombiniertes Hypoxämie-Azidämie-Tiermodell für weitere Studien entwickelt werden.

Methodik: In anästhesierten Schweinen wurde durch Infusion von Milch-/Salzsäurelösung und reduzierter Ventilation eine stabile Azidämie induziert. Parallel erfolgte die Infusion von HES130 bzw. GEL. Zudem erfolgte der Betrieb einer kontinuierlichen CVVH im Rezirkulationsmodus. Zur Therapie wurde THAM u.a. prädilutorisch infundiert und die CVVH im Standard-Therapiemodus betrieben. Zur Hypoxieinduktion erfolgte die Reduktion der Atemfrequenz (Ziel:  $\text{PaO}_2 < 70 \text{ mmHg}$ ;  $\text{SvO}_2 < 65\%$ ).

Ergebnisse: Azidämie führte zu signifikanter Verschlechterung der Hämodynamik insbesondere bei Anwendung einer CVVH. Bei HES130-Infusion zeigte sich unter CVVH-Anwendung eine stabilere Hämodynamik verglichen mit GEL-Infusion. Durch die prädilutorische Gabe von THAM konnte innerhalb einer Stunde die Azidämie korrigiert werden, ohne dass Nebenwirkungen von hochdosiertem THAM auftraten. Für das neue Hypoxie-Azidämie-Modell konnte eine 3h Belastungs-Exposition mit und ohne CVVH etabliert werden.

Schlussfolgerung: Azidämie und CVVH führten unabhängig vom infundierten Kolloid zu signifikanten Hämodynamikverschlechterungen. HES130 scheint auch unter Azidämie einen positiven Effekt auf die Hämodynamik bei Verwendung einer CVVH zu haben. Die Ergebnisse der prädilutorischen THAM-Applikation mit CVVH deuten auf eine vielversprechende Therapiemöglichkeit zur ventilationsunabhängigen,

schnellen Korrektur einer gemischten Azidose hin und diese sollte in weiteren Studien bzgl. der klinischen Anwendung untersucht werden. Es konnte ein Hypoxie-Modell entwickelt werden, welches den Betrieb einer CVVH erlaubt.

## **1.2. Abstract**

Background: Previous in vitro and animal studies showed that biocompatibility reactions during continuous venovenous haemofiltration (CVVH) differ in dependence of the administered colloidal infusion. In a porcine model the infusion of 6% HES 130 kDa/0.4 (HES130) was associated with superior haemodynamics compared to 4% gelatine (GEL). Since many patients in need of renal replacement therapies suffer from acidosis, we investigated if this haemodynamic behaviour also occurs under acidaemia. Additionally, we investigated if the combination of a THAM-buffer-infusion and CVVH enables a sufficient correction of acidaemia that is independent of ventilatory modifications. Based on the first results of the applied experimental model for acidaemia, we developed a further porcine model for investigations on hypoxia.

Methods: In anesthetized pigs a stable mixed acidaemia was induced by low tidal volume ventilation and infusion of lactic and hydrochloric acid. Simultaneously, HES130 and GEL were infused. To accelerate biocompatibility reactions, the CVVH was operated in the recirculation-mode. For acidaemia-therapy THAM was infused either pre- or postdilutional and CVVH was operated in the standard-therapy-mode. Hypoxia was induced by reduction of respiratory rate (target:  $\text{PaO}_2 < 70\text{mmHg}$ ;  $\text{SvO}_2 < 65\%$ ).

Results: Acidaemia led to significant deterioration of haemodynamics especially in combination with CVVH. As already found for normal acid base homeostasis, more favourable results for haemodynamics were seen in the HES130-CVVH group compared to the GEL-CVVH group. Based on predilutional THAM-infusion during CVVH the acidaemia could be corrected within one hour without appearance of high-dose THAM-related adverse side effects. For the new porcine model with hypoxaemic acidaemia we established a period of 3hrs for the exposition suitable to tolerate further challenges such as the CVVH-operation.

Conclusion: Acidaemia and CVVH independently led to significant deterioration of haemodynamics. Under acidaemic conditions HES130 also seems to support the circulatory system when biocompatibility reactions on a CVVH are challenging the

organism in addition to acidaemia. Predilutional application of THAM in combination with CVVH seems to be a promising possibility for a fast correction of acidaemia and should be investigated in further studies concerning clinical utilization. It was possible to develop a porcine model of hypoxaemia which allows research on extracorporeal treatments such as CVVH.

### **1.3. Einleitung und Zielsetzung**

Die Frage nach der richtigen Volumentherapie bei kritisch Kranken ist Gegenstand vieler Studien (1). Bislang unberücksichtigt blieb in klinischen Studien die potentielle Wirkungsspezifität eines Volumenersatzmittels bei dessen Interaktion mit parallel begleitenden Therapiemodulen, wie einem extrakorporalen Organunterstützungssystem.

In einer vorherigen Studie zeigte die Arbeitsgruppe im Akutversuch am Schweinmodell, dass die Biokompatibilitätsreaktionen auf eine kontinuierlich venovenöse Hämofiltration (CVVH) durch Hydroxyethylstärke (HES130kD/0.4) positiv hinsichtlich der Hämodynamik, Nieren- und Lungenfunktion moduliert wurde (2). Im Vergleich dazu konnte die alternative Gelatineinfusion keine vergleichbar guten Ergebnisse für die Stabilisierung von Hämodynamik und Nierenfunktion erzielen (2). Da bei kritisch Kranken sowohl endogen als auch iatrogen eine Azidose auftreten kann, welche die Hämodynamik und Gerinnung beeinträchtigt (3), stellt auch dies eine mögliche Ursache für variierende Biokompatibilitätsreaktion dar.

Die bei beatmeten Patienten unter lungenprotektiver Ventilation entstehende respiratorische Azidose kann mit Bikarbonat nur geringfügig bis gar nicht korrigiert werden. In diesem Kontext kommt der mittels glomerulärer Filtration eliminierbare Puffer Tris-hydroxymethylaminomethan (THAM) klinisch zum Einsatz (4). Entsprechend seiner Eigenschaften ist THAM-Puffer auch über Filtermembranen von Nierenersatzverfahren (NEV) eliminierbar.

Zusätzlich zur permissiven Hyperkapnie kommt es bei Intensivpatienten aufgrund unterschiedlicher Pathophysiologien häufig zu Hypoxie und metabolischer Azidose. Bislang stehen für die Forschung keine geeigneten Großtiermodelle für die hypoxämische Azidose zur Verfügung.

Basierend auf diesen Erkenntnissen wurden die 3 folgenden Frage- und Zielstellungen im Schweinmodell bearbeitet:

Einfluss von Kolloiden auf CVVH unter Azidämie P1: Einfluss von HES130 und GEL auf Hämodynamik unter CVVH Anwendung bei gestörten Säure-Basen-Haushalt.

Therapie einer Azidämie mittels THAM und CVVH P2: Vergleich von zentralvenöser, prä- und postdilutorischer THAM Gabe zur Korrektur einer Azidämie.

Etablierung eines Hypoxie-Modells P3: Etablierung und Standardisierung einer kombinierten Hypoxämie und Azidämie mit den Zielwerten  $\text{PaO}_2 < 70\text{mmHg}$ ,  $\text{SvO}_2 < 65\%$  und einem pH-Wert von 7,2 in 40kg schweren Schweinen. Trotz Hypoxie/Azidämie-Exposition sollte es möglich sein, unter kritisch aber stabilen Kreislaufwerten die Anwendung einer nicht therapeutischen sondern ausschließlich biokompatibilitätsbelastenden CVVH für mindestens 3 Stunden durchzuführen.

#### **1.4. Methodik**

Die Berliner Tierschutzbehörde genehmigte das Tierversuchsprojekt unter der Versuchsnummer G 0380/05 (19.12.2005). Es wurde den Richtlinien der Deutschen und Europäischen Gesellschaft für Versuchstierkunde (GV-SOLAS) und der Tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz (TVT) entsprochen. Alle Versuche fanden in den Einrichtungen für Experimentelle Medizin (FEM) der Charité – Universitätsmedizin Berlin statt.

Tiermodell: Es wurden ca. 4 Monate alte Hausschweine (~40kg) zur Induktion einer Azidämie (+Hypoxie) unter CVVH-Betrieb verwendet.

Versuchsablauf: Nach Prämedikation mit 0,03 mg/kg Atropin, 3 mg/kg Azaperon, 25mg/kg Ketamin und 3,5 mg/kg Xylazinhydrochlorid i.m., anschließender Narkoseeinleitung (5-10 mg/kg Propofol i.v.) und Kanülierung wurde die Azidämie induziert und aufrechterhalten (arterieller Ziel-pH 7,19-7,24,  $\text{PaCO}_2$  80-85 mmHg) (P3: zusätzlich Hypoxie:  $\text{PaO}_2 < 70\text{mmHg}$ ;  $\text{SvO}_2 < 65\%$ ). Zudem wurde in den entsprechenden Gruppen eine CVVH im Rezirkulationsmodus zur forcierten Biokompatibilitätsreaktion betrieben. Es schloss sich eine ca. eineinhalbstündige Therapiephase mit THAM-Infusion und CVVH-Standard-Therapie-Modus zur Azidämie-Korrektur an (P2). Gruppen P1: HES130/CVVH; GEL/CVVH; HES130/Kontrolle; GEL/Kontrolle; CVVH-Referenz (keine Azidämie). Gruppen P2: THAM-Prädilution; THAM-Postdilution; THAM-i.v.; CVVH-Referenz (keine Azidämie). Gruppen P3: Hypoxie/CVVH; Hypoxie/Kontrolle. Für jede Gruppe wurden n=6 Versuche durchgeführt.

Volumentherapie: Es wurden niedrigmolekulare sechsprozentige Hydroxyethylstärke (HES130; 6% HES 130kDa/0,4, Voluven®, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) und vierprozentige Gelatine (GEL; Gelafundin 4%®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) untersucht. Parallel zur Induktion der Azidämie wurden Boli des jeweiligen Kolloides mit 15mL/kg in 90min und anschließend kontinuierlich mit 2,5mL/kg/h infundiert. Damit wurde gleichermaßen eine Kreislaufunterstützung in der Induktionsphase gewährleistet, wie eine rheologisch relevante Dosis erzielt (2). Bei den Hypoxie-, THAM- und Referenzgruppen erfolgte die HES130-Infusion.

Äzidämieprotokoll: Eine metabolisch-respiratorische Azidämie wurde durch Infusion einer Säurelösung (je 0,2 M Milchsäure und 0,2 M Salzsäure in 0,9% NaCl; Dosis ~2mmol/kg/h) und Beatmung mit reduzierten Tidalvolumen (LTVV) und  $FiO_2=1,0$  erzeugt (P1-P3). Bei 12 Tieren erfolgte die Reduktion der Atemfrequenz sowie des  $FiO_2$  auf 0,3 zur Hypoxie-Induktion (P3:  $PaO_2 < 70\text{mmHg}$ ;  $SvO_2 < 65\%$ ). Nach dreistündiger Aufrechterhaltung der Azidämie (pH 7,19 – 7,24) wurden die HES-Kontrolltiere mit zentralvenöser THAM-Infusion in Anlehnung an klinische Anwendungen (4) gepuffert (2 mmol/kg/h) (P2). Bei HES-CVVH Tieren erfolgte jeweils eine prä- oder postdilutorische THAM-Infusion (vor bzw. hinter dem CVVH-Filter) mit wirkungsassoziierter Dosierung (P2). Die arterielle pH-Kontrolle erfolgte nach 15 Minuten mit entsprechender Dosisanpassung.

Anästhesie: Die totale intravenöse Anästhesie mit ~21 mg/kg/h Thiopental und ~ 6,5 µg/kg/h Fentanyl ermöglichte unter hämodynamischer Stabilität eine ausreichende Narkosetiefe, um chirurgische Toleranz zu erzielen und trotz Hyperkapnie eine Spontanatmung zu unterdrücken und damit die standardisierte Beatmung zu gewähren. Ein peripheres Muskelrelaxanz musste nicht appliziert werden. Alle Tiere wurden initial normoventiliert ( $etCO_2$  35-40 mmHg,  $SpO_2 > 95\%$ ). (P1-P3).

Instrumentierung: Es erfolgte die operative Freilegung der Gefäße und eine Kanülierung mittels Seldinger Technik (Details s. P3 Abb. 2).

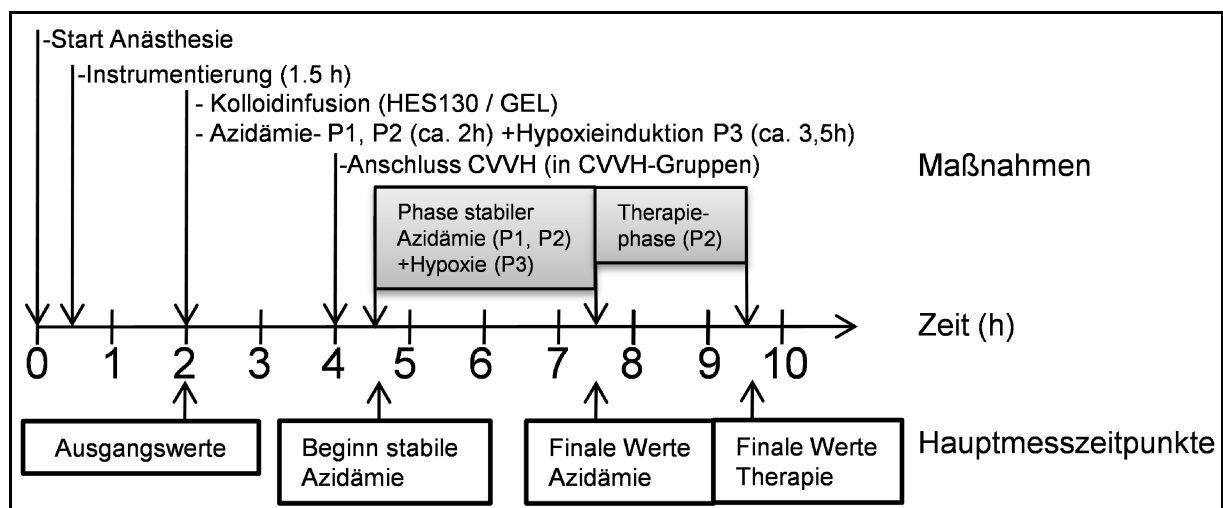
CVVH: Nach Induktion der Azidämie (+ggf. Hypoxie) und Heparinisierung wurde in den CVVH-Gruppen die Hämofiltration an den 13 F Doppellumenkatheter angeschlossen. Um Biokompatibilitätsreaktionen zu forcieren, wurde für 3 Stunden ein Rezirkulationsmodus (Reinfusion des Filtrats in den venösen Schenkel der CVVH) betrieben (P1-3). Anschließend folgten 1,5 Stunden Standard-

Therapieverfahren mit Verwerfen des Filtrats und postdilutorischer Infusion einer Azetat-gepufferten Kristalloidlösung (Austausch insgesamt 7L in 1,5 Stunden) (P2).

Messdaten: Die Hämodynamik (mittlerer arterieller Blutdruck (MAP), mittlerer pulmonalarterieller Druck (MPAP) und zentralvenöser Druck (ZVD)) wurde halbstündlich bzw. stündlich (Herzminutenvolumen (HZV)-Messung durch Thermodilution, pulmonal-arterieller Verschlussdruck (PCWP), periphere und pulmonale Gefäßwiderstände (SVR bzw. PVR)) protokolliert. Es erfolgte die halbstündliche Entnahme von arteriellen Blutgasanalysen (BGA), die stündliche Entnahme von zentral- und gemischtvenösen BGAs sowie für klinische Chemie und Blutbild zu den Hauptmesszeitpunkten (s. Abb 2).

Histologie: Um die Entwicklung eines potentiellen Lungenödems zu evaluieren wurden postmortal Lungengewebeproben entnommen - jeweils ventilierte und atelektatische Areale des linken und des rechten Lungenflügels. Die Proben wurden fixiert, in Paraffin eingebettet und zur Hämatoxylin/Eosin Färbung geschnitten. Anschließend erfolgte die Gruppen-geblindete, mikroskopische Bewertung nach Ausmaß der Ödembildung anhand eines Scores (Details s. P2).

Statistik: Mittels SigmaStat 3.1s (Systat Software GmbH, Erkrath, Deutschland) erfolgte die Datenanalyse aufgrund nicht-normalverteilter Daten mittels nicht-parametrischer Tests. Signifikanz wurde für p-Werte kleiner 0,05 angenommen. (Details s. P1-3).



**Abbildung 1:** Versuchsablauf von P1-3 entsprechend der zur Dissertation eingereichten Artikel.



## 1.5. Ergebnisse

Kolloid-Einfluss unter Azidämie und CVVH auf die Hämodynamik P1:

Azidämie-Einfluss: Im Verlauf kam es in allen Gruppen zu signifikant absinkenden MAP-Werten und entsprechend des SVR (nicht signifikant in HES-Kontrollgruppe) unabhängig von Azidämie oder CVVH-Anwendung (s. Tab. I). Die MPAP-Werte stiegen hingegen signifikant in den azidämischen Gruppen an. Ebenso wurde ein Anstieg des PVR beobachtet. Unter der Azidämie kam es zu einem signifikanten Abfall des HZV in beiden Kontrollgruppen (s. Tab. I).

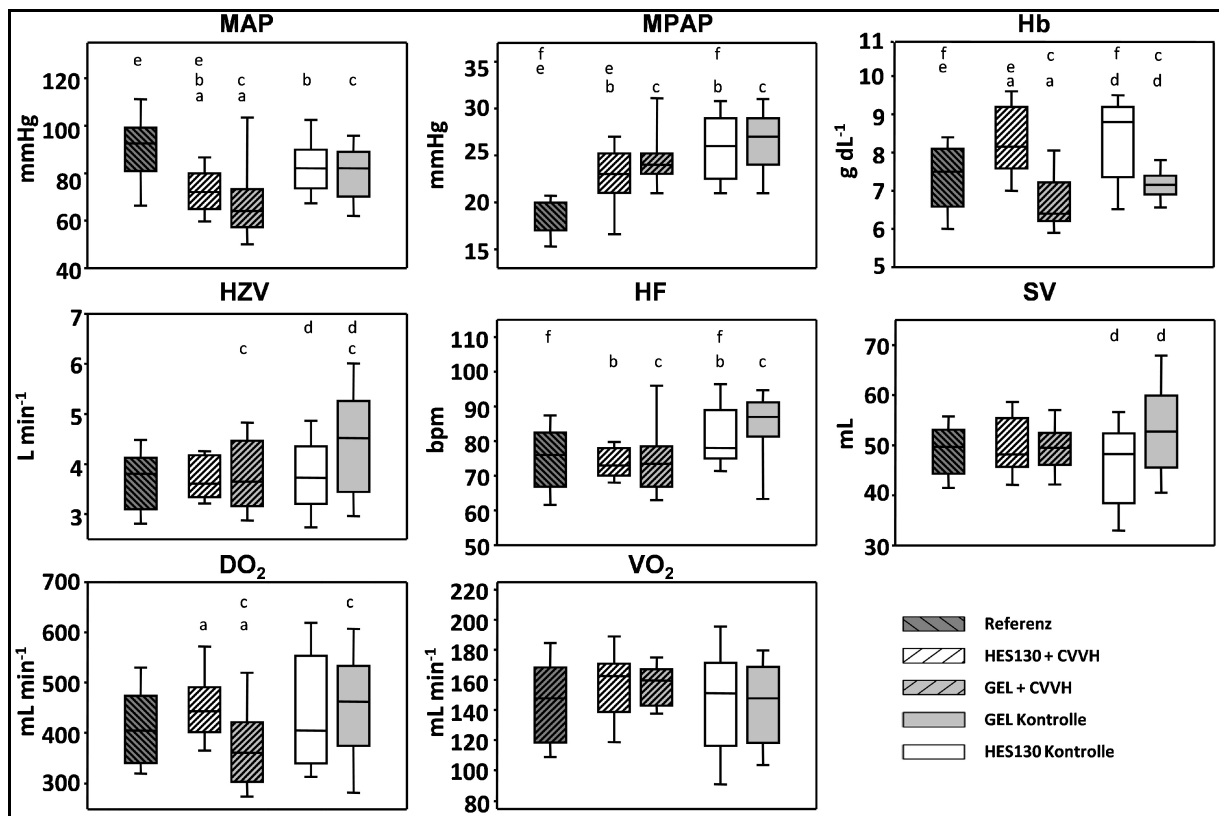
**Tabelle I: Zeitverlauf Kreislaufparameter und Hb**

		CVVH-Referenz	HES130 CVVH	GEL CVVH	HES130 Kontrolle	GEL Kontrolle
<b>MAP</b>	T1	110/96/115*	97/92/106*	91/88/93*	103/96/103*	104/87/113*
	T2	94/93/106	80/75/85	62/59/74	91/71/95	88/86/96
	T3	90/66/99*	66/64/69*	63/54/68*	72/66/77*	70/67/72*
<b>MPAP</b>	T1	18/17/18	18/13/21*	17/15/18**	20/18/21**	20/19/21**
	T2	21.5/17.0/26	20/16/22	25/22/32#	24/23/28#	28/25/28#
	T3	18.5/18.0/20.0	25/23/28*	25/24/26*	28/26/29*	29/25/31*
<b>SVR</b>	T1	1880/1679/2218	1912/1712/2293*	1639/1394/1741*	1589/1316/1860	1685/1486/2207#
	T2	1650/1517/1924	1626/1138/1695	1388/1068/1653	1266/1228/1324	1185/1129/1328#
	T3	1626/1493/1707	1282/1198/1295*	1017/1002/1247*	1351/1182/1726	1299/1076/1439
<b>PVR</b>	T1	153/130/172	224/166/278*	187/162/196	174/99/191*	223/186/324*
	T2	135/107/268	208/169/264	293/209/413	210/205/234	260/182/319§
	T3	251/164/265	350/257/417*	293/249/349	299/233/449*	427/320/458*§
<b>DO<sub>2</sub></b>	T1	550/441/634*	525/473/561	525/506/573**	593/485/659*	530/496/644*
	T2	446/407/502	467/444/496	354/325/455#	513/344/605	555/471/622
	T3	370/332/452*	422/407/464	369/303/413*	396/337/524*	395/333/452*
<b>VO<sub>2</sub></b>	T1	164/153/174	140/111/154*	154/140/162	134/107/157	137/125/159
	T2	168/161/168	152/137/176	151/138/165	130/103/158	151/111/164
	T3	141/114/169	167/155/174*	165/156/173	164/154/228	131/111/172
<b>HZV</b>	T1	4,2/3,8/4,7	3,8/3,4/4,6	4,0/3,9/4,2	4,7/4,4/4,8*	4,3/3,4/4,8
	T2	4,3/3,9/4,5§	4,1/3,8/4,2	3,8/3,6/4,5	4,6/3,7/4,7	5,9/4,6/6,1§
	T3	3,4/3,0/4,1§	3,5/3,23/4,1	3,5/3,2/4,3	3,5/2,8/4,2*	3,9/3,1/4,3§
<b>SV</b>	T1	52/46/58	54/41/60	48/47/50	52/42/60	50/44/55
	T2	52/45/57	54/47/59	49/47/51	53/48/57	63/48/68§
	T3	49/47/54	47/46/51	48/46/53	46/33/50	46/44/52§
<b>Hb</b>	T1	9,1/7,0/9,3#	9,1/8,6/10,0#	9,0/8,5/9,4#	9,6/8,2/9,8#	9,1/8,1/10,0**
	T2	7,8/6,6/8,1#	8,0/7,4/8,7#	6,4/5,9/6,6#	8,3/7,2/8,4#§	6,9/6,9/7,0#
	T3	8,0/6,9/8,3	8,4/8,0/9,5	6,8/6,4/7,6	9,2/7,7/9,6§	7,1/6,7/7,4*

Werte als Median (fett), 25. und 75. Perzentile. Grauer Hintergrund zeigt signifikante Unterschiede ( $p < 0.05$ ), \* Ausgangswerte vs. Beginn stabile Azidämie; # Ausgangswerte vs. Finale Werte Azidämie; § Beginn stabile Azidämie vs. Finale Werte Azidämie) T1 = Ausgangswerte, T2 = Beginn stabile Azidämie, T3 = Finale Werte Azidämie. (MAP = mittlerer arterieller Druck (mmHg), MPAP = mittlerer pulmonal-arterieller Druck (mmHg), SVR = systemischer Gefäßwiderstand ( $\text{dyn} \times \text{sec} \times \text{cm}^{-5}$ ), PVR = pulmonaler Gefäßwiderstand ( $\text{dyn} \times \text{sec} \times \text{cm}^{-5}$ ),  $\text{DO}_2$  = Sauerstoffangebot ( $\text{ml} \times \text{min}^{-1}$ ),  $\text{VO}_2$  = Sauerstoffaufnahme ( $\text{ml} \times \text{min}^{-1}$ ), HZV = Herzminutenvolumen ( $\text{L} \times \text{min}^{-1}$ ), SV = Schlagvolumen (mL), Hb = Hämoglobinkonzentration ( $\text{g} \times \text{dL}^{-1}$ )) Nach Keckel et al. In a porcine model of mixed acidemia HES 130/0.4 may support more stable hemodynamics during CVVH when compared to gelatine. Int J Artif Organs. 2012 Mar;35(3):180-90.

HES versus GEL: In beiden azidämischen CVVH-Gruppen waren die MAP- und MPAP-Werte während der 3 stündigen Azidämie signifikant niedriger als in ihren Kontrollgruppen ohne CVVH (Abb. 2), begleitet von einem signifikant niedrigerem SVR nach 3 Stunden CVVH (Tab. I). Schlagvolumen (SV) und HZV waren unter

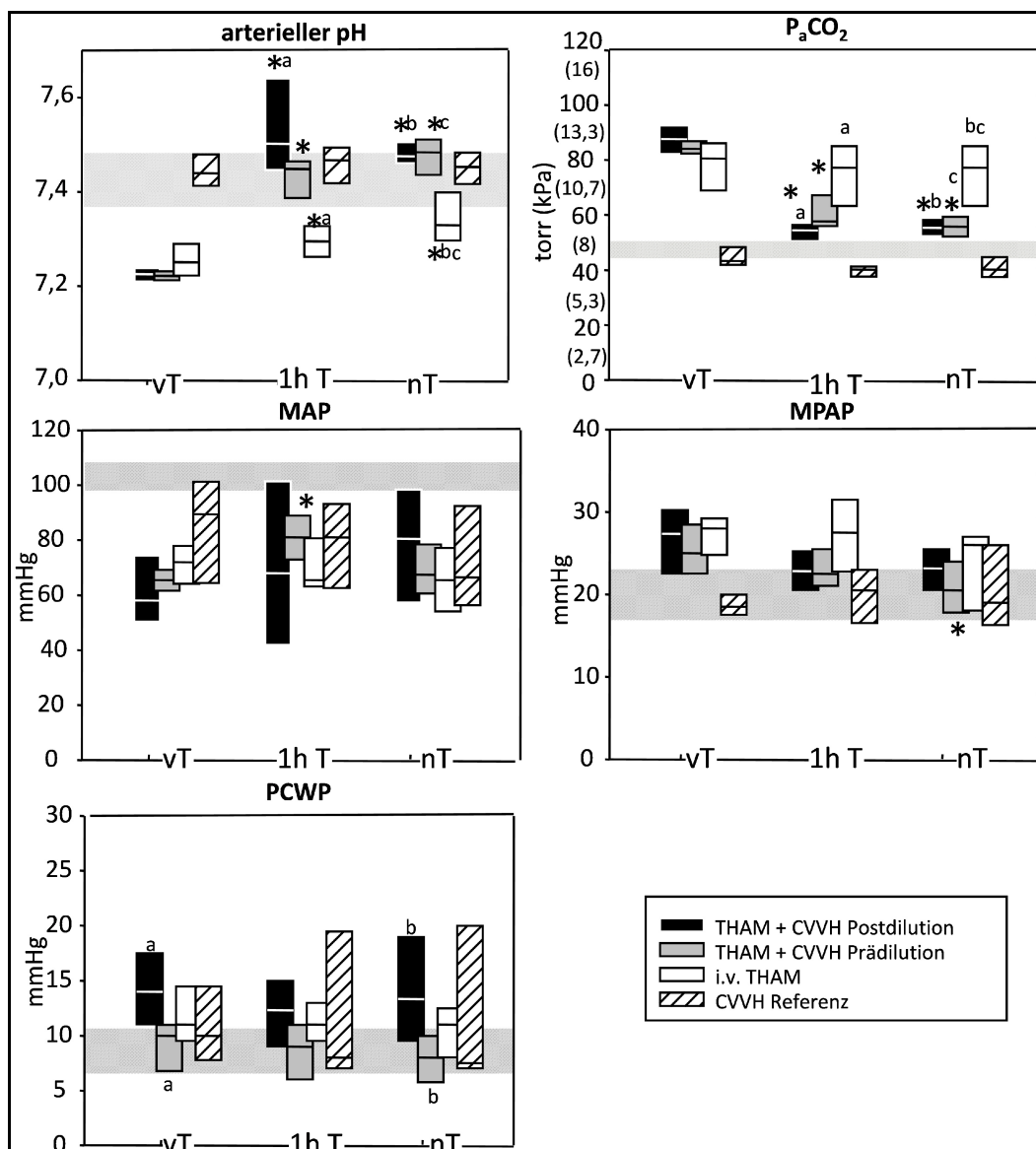
Azidämie in der GEL-Kontrollgruppe signifikant höher als in der HES-Kontrollgruppe (Abb. 2). Unter Anwendung der CVVH verschwanden die SV und HZV Unterschiede jedoch und es zeigten sich signifikant niedrigere MAP Werte bei der GEL-CVVH-Gruppe im Vergleich zur HES-CVVH-Gruppe. In den GEL Gruppen war der Hb-Abfall ausgeprägter, als in den HES Gruppen. CVVH und Azidämie führten unabhängig vom Kolloid zu Verschlechterung der Hämodynamik. Jedoch nur in der GEL-CVVH-Gruppe war dies begleitet von signifikant niedrigerem HZV, Hb und arteriellem Sauerstoffangebot ( $DO_2$ ) verglichen mit der Kontrollgruppe (s. Abb 2.).  $DO_2$  war in der HES130-CVVH-Gruppe signifikant höher als in der GEL-CVVH-Gruppe, wobei dieses Ergebnis parallel und damit ggf. in Abhängigkeit vom Hb-Wert verlief. Die Sauerstoffaufnahme ( $VO_2$ ) stieg signifikant (HES130 CVVH) oder tendenziell (HES130-Kontrolle, GEL CVVH), jedoch nicht in der GEL-Kontroll-Gruppe (s. Tab. I).



**Abbildung 2:** Die Boxplots präsentieren jeweils alle Werte während 3-stündiger Azidämie (bzw. lediglich CVVH-Anwendung in der Referenzgruppe). Buchstabenpaare (z.B. a a) zeigen signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ). (MAP = mittlerer arterieller Druck, MPAP = mittlerer pulmonal-arterieller Druck, Hb =Hämoglobinkonzentration, HZV = Herzminutenvolumen, HF = Herzfrequenz, SV = Schlagvolumen,  $DO_2$  = Sauerstoffangebot,  $VO_2$  =Sauerstoffaufnahme) Nach Keckel et al. In a porcine model of mixed acidemia HES 130/0.4 may support more stable hemodynamics during CVVH when compared to gelatine. Int J Artif Organs. 2012 Mar;35(3):180-90.

### Azidämie-therapie durch THAM und CVVH P2:

Trotz der Beatmung mit niedrigem Minutenvolumen kam es zu einem pH Anstieg in allen THAM Gruppen während der Therapie sowie Rückkehr zu den Ausgangs-pH-Werten und signifikant verringertem PaCO<sub>2</sub> in den THAM+CVVH-Gruppen (s. Abb. 3). Das netto Ausgangsprodukt der Puffergleichung, Bikarbonat, stieg in beiden THAM+CVVH-Gruppen trotz *high volume haemofiltration* mit Elimination des Bikarbonats über den Filter signifikant an. Aufgrund der niedrigeren Dosierung konnte in der i.v. THAM-Gruppe erst nach 1,5 Stunden ein signifikanter Anstieg des Bikarbonat verzeichnet werden.



**Abbildung 3:** Blutgase und Hämodynamik. Werte sind als Median/25./75. Perzentile dargestellt. vT = Werte unter Azidämie vor Therapiebeginn; 1hT = Werte 1h Therapie, nT= Werte nach Therapieende. PaCO<sub>2</sub> = arterieller Kohlendioxid-Partialdruck, PCWP = pulmonal-kapillärer Verschlussdruck, MAP = mittlerer arterieller Druck, MPAP = mittlerer pulmonal-arterieller Druck. Die graue Fläche stellt den Interquartilsabstand während der Ausgangsmessung (s. Abb. 1) aller Gruppen dar. \* zeigt signifikante Unterschiede ( $P < 0,05$ ) verglichen mit den Werten vT an, Buchstabenpaare (z.B. a a) zeigen signifikante Unterschiede ( $P < 0,05$ ) zwischen den Gruppen an. Abbildung nach Russ et al. Experimental high-volume hemofiltration with predilutional tris-hydroxymethyl-aminomethane for correction of low tidal volume ventilation-induced acidosis. Artif Organs. 2011 Jun;35(6):E108-18.

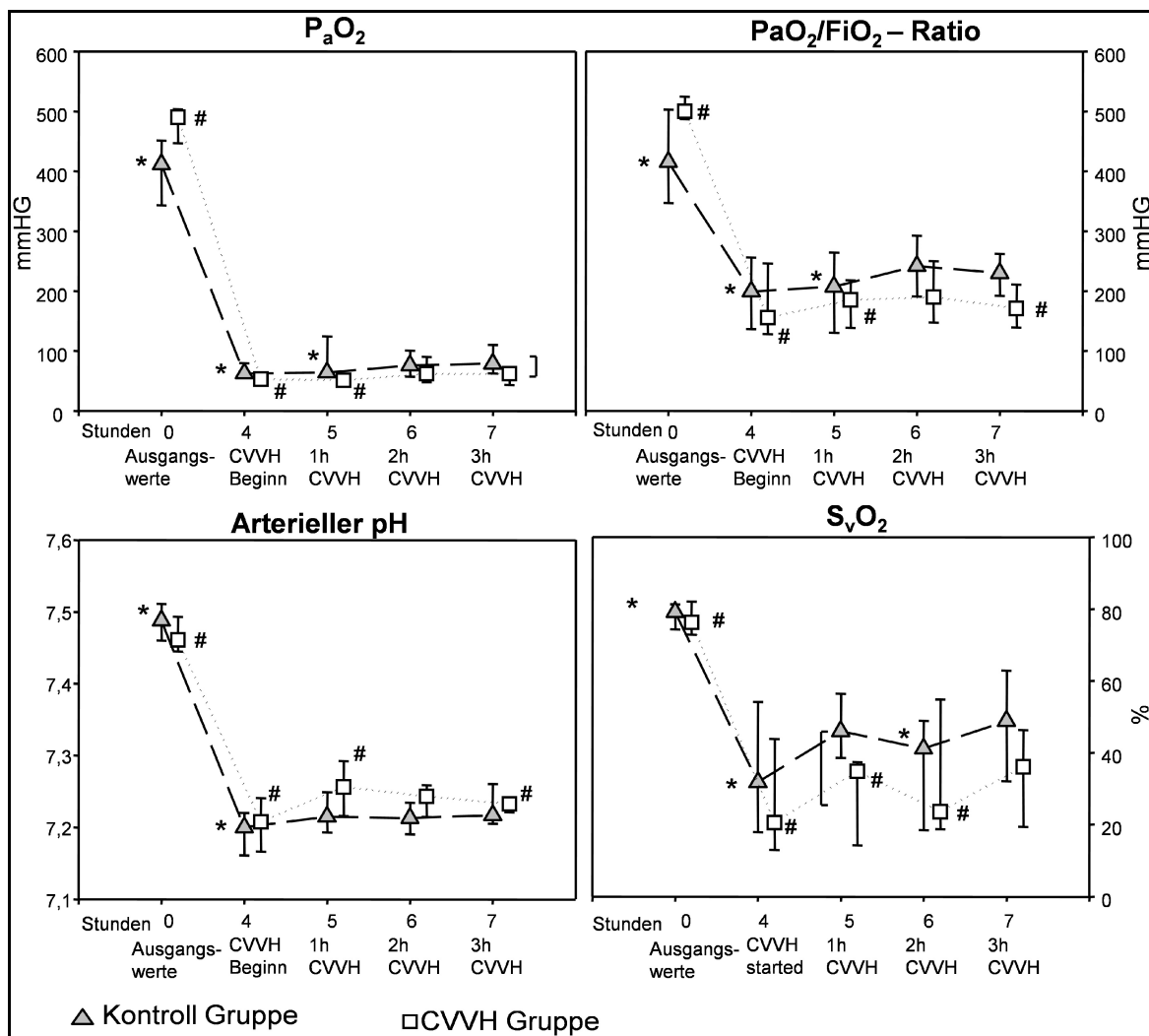
Die filtrationsbedingte Entfernung in dem gewählten CVVH-Protokoll allein führte zu einem signifikanten Verlust an Bikarbonat, Reduktion des Basenüberschusses und Abfall des Urin-pH-Werts. In der Prädilutions-THAM+CVVH-Gruppe stieg der MAP innerhalb der ersten Stunde der Therapie an und sank dann wieder zum Ende des Experiments. Keine Gruppe erreichte mit der THAM-Therapie die MAP-Werte der Ausgangsmessung (s. Abb. 3). Azidämische Tiere profitierten aber eher von der hochdosierten THAM-Gabe (tendenzieller MAP Anstieg), während sich die gesunde CVVH-Referenzgruppe während der „Therapie“/Austauschphase eher verschlechterte (tendenzieller MAP Abfall). Der MPAP sowie der PCWP kehrten nur in der Prädilutionsgruppe zu ihren Ausgangswerten zurück. Der signifikant höhere PCWP in der Postdilutionsgruppe korrelierte mit einem signifikant höheren Wert im histologisch erstellten Score-Wert für ein interstitielles Lungenödem postmortal entnommener Gewebeproben. In den finalen Hämodynamikwerten gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen der i.v. THAM-Gruppe und der CVVH-Referenzgruppe.

Modelletablierung P3: Aufbauend auf die gemischte Azidämie durch Infusion eines Milch- und Salzsäuregemisches in Kombination mit der LTVV-induzierten Hyperkapnie wurde der  $FiO_2$  soweit reduziert, dass die Gesamtmenge des über Beatmung angebotenen  $O_2$  unzureichend war ( $FiO_2=0,3$ ). Der  $PaO_2$  lag im Median während der Hypoxämie/Azidämie bei 53 mmHg in der CVVH Gruppe und 66 mmHg in der Nicht-CVVH-Kontrollgruppe. Der  $PaO_2/FiO_2$ -Quotient betrug im Median 174 mmHg unter CVVH-Anwendung und 228 mmHg in der Kontrollgruppe. Dazugehörig lag ein  $SvO_2$  von 28% in der CVVH-Gruppe vor und ein  $SvO_2$  46% in der Kontrollgruppe (s. Abb. 4). Der pH-Median lag bei 7,23 in der CVVH-Gruppe (Kontrollgruppe 7,21) und der  $PaCO_2$ -Median lag bei 90 mmHg in der CVVH-Gruppe (Kontrollgruppe 77mmHg).

THAM wurde Zielwert-orientiert korrigierend in niedrigen Dosen verabreicht, wenn der pH-Wert unter 7,19 fiel. Nach der Induktion der Hypoxämie/Azidämie kam es in der CVVH-Gruppe und in 4 von 6 Referenztieren zu MAP Anstiegen, teilweise bis 160 mmHg. Da unter den Blutdruckspitzenwerten eine Hämaturie auftrat, wurde Nitroglycerin zur Normalisierung des Azidose-induzierten, sprunghaft ansteigenden Gefäßwiderstandes und damit des Blutdruckes während der Induktion eingesetzt.

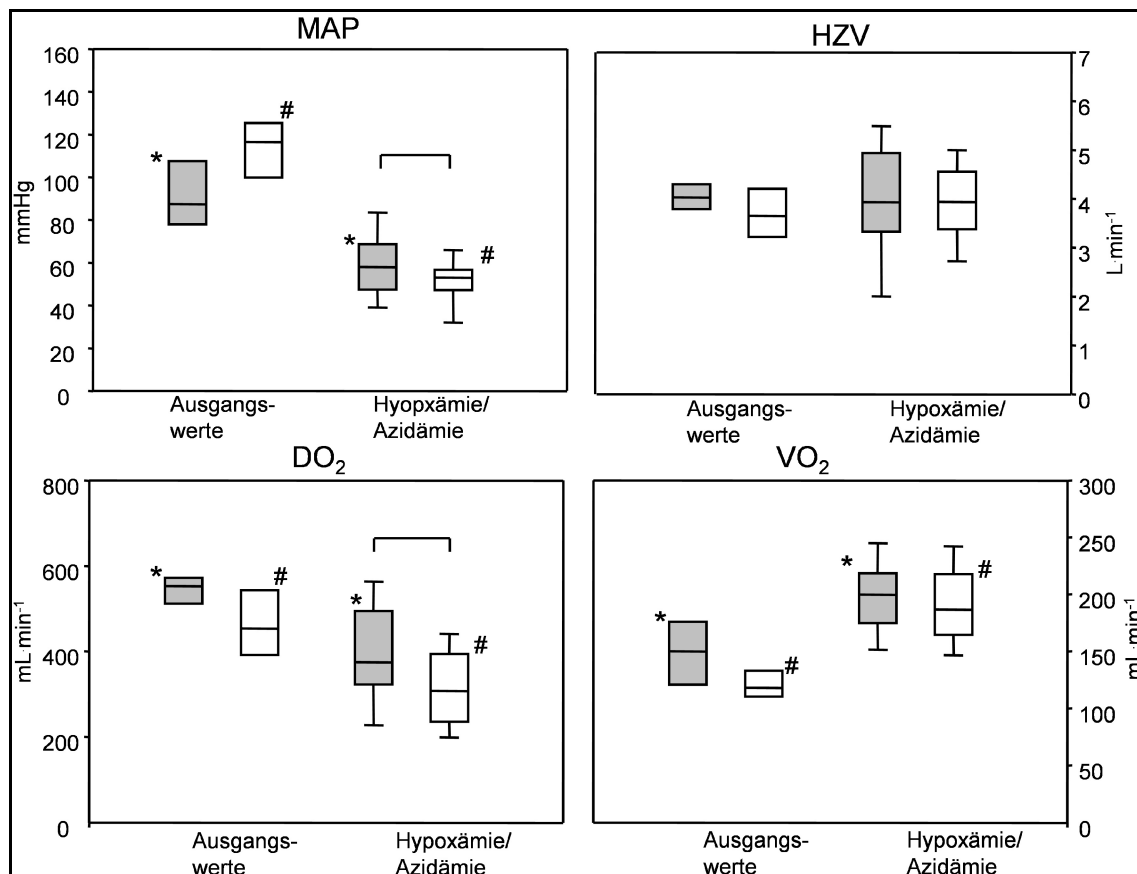
Unter MAP-Reduktion stagnierte die Hämaturie sofort, im Folgeverlauf des Versuches zeigten sich keine Verdachtsmomente für eine renale Schädigung. Die Nitroglyceringabe konnte nach 3h Stunden bei allen Tieren beendet werden. Im Verlauf kam es auch zu hypotonen Kreislaufverhältnissen im Rahmen der Hypoxämie/Azidämie (Abb. 5).

Obwohl keine signifikante Änderung im HZV festgestellt wurde, fiel das  $DO_2$  signifikant ab, während das  $VO_2$  signifikant nach der Induktion der Hypoxämie/Azidämie anstieg (Median der CVVH-Gruppe + 90mL/kg/min; Referenz-Gruppe + 50mL/kg/min) und auch im Verlauf erhöht blieb.



**Abbildung 4:** Blutgase und pH. Linie und Streudiagramm zeigen Median/25./75. Perzentile der jeweiligen Gruppe (graues Dreieck=Kontrollgruppe; weißes Quadrat=CVVH Gruppe). Signifikante Unterschiede ( $p \leq 0,05$ ) im Zeitverlauf verglichen mit den Ausgangswerten (Intragruppen-Vergleich) werden durch # in der CVVH und \* in der Kontrollgruppe angezeigt.  $P_{aO_2}$  = arterieller Sauerstoffpartialdruck,  $F_{iO_2}$  = inhalierter Sauerstoffanteil,  $S_{vO_2}$  = gemischt venöse Sauerstoffsättigung. CVVH = kontinuierliche venovenöse Hämofiltration. CVVH-Beginn = Werte nach Anschluss und Inbetriebnahme der der CVVH. 1h,2h,3h CVVH = Werte nach 1h,2h,3h CVVH-Betrieb im Rezirkulationsmodus. Nach Russ et. al. Prolonged hypoxemia and acidemia in anesthetized pigs: a model for research on extracorporeal organ support in an intensive care setting. Int J Artif Organs. 2010 Aug;33(8):544-52.

Aufgrund eines plötzlichen HZV und MAP-Abfalls bei zwei Schweinen der Kontrollgruppe, welche die niedrigsten Werte für pH (7,16 und 7,17) und PaO<sub>2</sub> (69 und 46mmHg) hatten, mussten als Notfallintervention in Bolusform Adrenalin, THAM, HES130 und erhöhte FiO<sub>2</sub> –Werte appliziert werden, um einen vorzeitigen Tod zu vermeiden. In der CVVH-Gruppe konnte der Blutfluss (Q<sub>b</sub>) und die Flussrate der Filtrationspumpe (Q<sub>f</sub>) bis auf eine Q<sub>b</sub>/Q<sub>f</sub>-Verhältnis von 300/60 (mL/min) gesteigert werden, was einer „Filtrationsrate“ von 95 mL/kg/h gleichzusetzen ist. Als Obergrenze für mögliche Flussraten in der CVVH-Einstellung war der transmembranöse Druck von maximal 180 mmHg angesetzt. Die Versuchstiere zeigten hierunter keine kardiale Dekompensation oder Katecholaminbedarf über den Belastungszeitraum von 3h Azidämie-Erhalt (im Anschluss an eine 2h Azidämie-Induktion, somit kumulativ eine 5stündige Azidämie-Exposition).



**Abbildung 5:** Die Boxplots stellen Median/25./75. Perzentile Hämodynamik der jeweiligen Gruppe dar (grau = Kontrollgruppe; weiß = CVVH-Gruppe). Ausgangswerte entsprechend Abb. 1. Hypoxämie/Azidämie = Messwerte nach 3h stabiler Hypoxie/Azidämie. Symbolpaare (z.B. # #) stellen signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) innerhalb einer Gruppe dar (Intragruppen-Vergleich), Klammern Unterschiede signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) zwischen den Gruppen (Intergruppen-Vergleich). MAP = mittlerer arterieller Druck, HZV = Herzminutenvolumen, DO<sub>2</sub> = Sauerstoffangebot, VO<sub>2</sub> = Sauerstoffaufnahme. Nach Russ et. al. Prolonged hypoxemia and acidemia in anesthetized pigs: a model for research on extracorporeal organ support in an intensive care setting. Int J Artif Organs. 2010 Aug;33(8):544-52.

## 1.6. Diskussion

Hinsichtlich der Hämodynamik ist generell wünschenswert, dass möglichst physiologische Verhältnisse der systemischen und pulmonalen Druckverhältnisse, des HZVs, des Hb-Wertes und des daraus resultierendem  $DO_2$  erhalten bleiben. Bei beatmeten Intensivpatienten ist jedoch zumeist ein Abfall des systemischen Blutdruckes, von HZV, Hb und  $DO_2$  mit gleichzeitigem Anstieg der pulmonalen arteriellen Drücke zu beobachten, was prognostisch ungünstig ist.

### Kolloideinfluss P1:

Die Kolloid-spezifischen Interaktionen von Volumenunterstützung und Hämodynamik unter CVVH in azidämischen Schweinen ist vergleichbar mit den Ergebnissen in Schweinen mit physiologischem pH-Wert (2). In einer vorhergehenden Studie unterstützte HES130-Infusion eine stabilere Hämodynamik unter CVVH verglichen mit GEL-Gabe (2). Diese Beobachtung lag jedoch nur für die CVVH-Gruppen vor. Somit scheinen die wirkungsspezifischen Interaktionen von Kolloiden und NEV unabhängig vom Säure-Basen-Status zu sein.

CVVH führte in unserer Studie zu niedrigeren MAP und MPAP Werten verglichen mit den Kontrollgruppen. Während eine verminderte Zirkulation negativ zu werten ist (Gewebeperfusion, Blutfluss für CVVH), kann der im Vergleich zur Kontrollgruppe geringere MPAP-Anstieg im Verlauf dagegen eher als ein prognostisch vorteilhafter Effekt gewertet werden, da hierbei eine rechtskardiale Nachlastsenkung vorliegt und geringere intravasale Drücke die Gefahr der Ödembildung reduzieren. Eine mögliche Erklärung für den Blutdruckabfall in der CVVH-Gruppe wäre ein Volumenmangel. Der CVVH-Kreislauf war standardmäßig mit 0,9%iger Kochsalzlösung vorbelegt. Beim Systemanschluss kommt es über die isovoläme Hämodilution aufgrund der kurzen intravasalen Volumeneffekte der NaCl-Lösung zu einem Volumendefizit innerhalb der insgesamt durch die CVVH vergrößerten Strombahn. In einem Versuch von Ullrich et. al (5) bezüglich CVVH und Endotoxin-induzierter Lungenschädigung führte die Zirkulation von Blut durch einen extrakorporalen Kreislauf nicht zu signifikanten Hämodynamikveränderungen. Wobei in jenem Versuch bei abgeklemmter Ultrafiltratleitung keine Ultrafiltration stattgefunden hat. Kellum et al (6) zeigte, dass Mediatoren nicht nur gefiltert sondern auch durch die Filtermembran absorbiert werden. Daher könnte im Versuch von Ullrich et. al der therapeutische Effekt der Mediatoren-Adsorption gegenüber der Aktivierung durch den extrakorporalen Kreislauf überwogen haben. In unserem Versuch könnten hingegen unterschiedliche

Cytokinmuster bedingt durch erhöhten Membrankontakt, welcher durch die durchgeführte Rezirkulation verstärkt wurde, zu Hämodynamikveränderungen beigetragen haben.

Die Hauptunterschiede zwischen den beiden Kolloiden während CVVH-Anwendung und Azidämie lagen im Bereich des verlangsamten MAP-Abfalls, stabileren Hb-Werten und daher höheren  $DO_2$ -Werten bei der HES130+CVVH Gruppe. Aufgrund seiner Molekülgröße (130kD) verbleibt 6% HES 130/0.4 länger im vaskulären Kompartiment als 6%iger Gelatine (40kD) (7). Trotz geringerer Volumeneffektivität waren die Hb-Werte in den GEL-Gruppen niedriger. Schweine haben ein ausgeprägtes Erythrozyten-Pooling in der Milz und einen sehr niedrigen Albumin/Globulin-Quotienten mit entsprechend gesteigerter Erythrozytenaggregabilität. Ein niedriger Albumin/Globuli-Quotient ist auch bei vielen Intensivpatienten zu finden (8). HES130 reduziert die proaggregatorische Tendenz, GEL hingegen verstärkt die Erythrozytenaggregation (9). Es wäre daher möglich, dass es in den GEL-Tieren zu vermehrten Erythrozyten-Pooling in der Milz und der mikrozirkulären Strombahn kam und in Folge zur Senkung des zentral zirkulierenden Hb-Wertes. Zudem fanden wir eine tendenziell höhere Rate an Filterverstopfung in den GEL Gruppen, was einen Verlust an Erythrozyten in den extrakorporalen Raum bedeutete und zur Hb-Senkung mit beitrug.

In der Summe der zirkulatorischen Aspekte könnte HES130 daher dazu beitragen, eine durch ein NEV belastete Situation bzgl. der Mikrozirkulation und Gewebepfusion zu verbessern.

Signifikanz und Ausmaß der Unterschiede bleiben beim auf wenigen Stunden reduzierten Experiment allerdings limitiert. Die im Vergleich zur Klinik kurze Expositionszeit kann auch nicht durch die Rezirkulation des Ultrafiltrats mit Rück-Infusion der aktivierten Mediatoren zur Beschleunigung von Biokompatibilitätsreaktionen ausgeglichen werden.

Azidämiebehandlung P2: Die Kombination aus CVVH und Prädilutionsinfusion von THAM (8 mmol/kg/h) war innerhalb einer Stunde in der Lage den pH-Wert zu normalisieren und den  $PaCO_2$  um 30mmHg zu reduzieren, obwohl die Hyperkapnie induzierende LTVV beibehalten wurde. Die prädilutorische Gabe des THAM ermöglicht eine anteilige Elimination des protonierten Puffermoleküls bereits in der ersten Filterpassage. Somit konnten die vorbeschriebenen Komplikationen einer



hochdosierten zentralvenösen THAM-Gabe vermieden werden. Eine gleichermaßen nebenwirkungsfreie, klinisch bereits angewandte i.v. Dosierung von THAM mit 2mmol/kg/h (ohne CVVH) konnte keine vergleichbare pH- und PaCO<sub>2</sub>-Korrektur erreichen. Trotz der schnellen pH-Korrektur bei der kombinierten THAM-CVVH-Therapie waren die sofortigen MAP-Anstiege nur vorübergehend. Die Azidämiebedingt angestiegenen MPAP-Werte fielen jedoch stetig bis zum Ende der korrigierenden Therapie und kehrten auf die physiologischen Ausgangswerte zurück. Die rasche Therapie der Azidose durch die prädilutorische THAM-Gabe erzielte also ansatzweise sogar bessere Kreislaufwerte (MPAP) als im Organismus ohne Azidose unter Belastung durch Narkose, Beatmung und CVVH vorlagen.

Obwohl die Behandlung einer metabolischen Azidose mit NEV eine Routineprozedur auf Intensivstationen ist, wurde die potentielle Nutzung eines NEV zur Prävention einer beatmungsassoziierten Hyperkapnie bisher nicht untersucht. Derzeit sind nur extrakorporale gaspermeable Membranmodule für CO<sub>2</sub>-Elimination (extracorporeal lung assist, ECLA) und Oxygenierung (extracorporeal membrane oxygenation, ECMO) bekannt und verbreitet, um schwere Azidose/Hyperkapnie-Zustände zu therapieren. Beide Systeme werden aufgrund des Risiko-/Nutzen- sowie Kosten-/Nutzenfaktors erst eingesetzt, wenn unmittelbar lebensbedrohliche Azidose- und Hypoxien vorliegen. Jedoch hängt die CO<sub>2</sub>-Entfernung durch ECLA stark von der hämodynamischen Funktion ab (arterio-venöse Systemführung benötigt Flussrate von 1,2-2L/min). Letztere ist unter Azidose und Hyperkapnie in der Regel beeinträchtigt. Die Eigenschaft von THAM Wasserstoffprotonen zu binden, bietet ein vielseitiges Werkzeug für pH-Wert und PaCO<sub>2</sub>-Korrektur – beide relativ unabhängig vom Blutfluss durch den venovenösen NEV-Kreislauf und/oder die Dialysatflussrate, solange THAM ausreichend gefiltert wird. Das Entfernen eines Protons unter Zurücklassung eines Bikarbonatanions bietet eine höhere Effizienz zur Regulation des Säure-Basenhaushaltes als die Korrektur über das Bikarbonat-CO<sub>2</sub>-System. Hinzu kommt, dass die betroffenen Patienten in aller Regel zusätzlich zur mechanischen Beatmung auch noch der Belastung zweier extrakorporaler Systeme (NEV und Gastransfer) und der Notwendigkeit weiterer zentraler, großkalibriger Gefäßzugänge ausgesetzt sind.

Ein weiterer Vorteil der Kombination von prädilutorischer THAM-Applikation am NEV kann darin liegen, dass die rheologischen Eigenschaften des azidämischen Blutes durch die Pufferung verbessert wurden, bevor die Filterkapillarpassage beginnt und

damit die Verlegung der Filterkapillaren reduziert wird. Letzteres verbessert damit gleichzeitig die Anwendbarkeit des oftmals ohnehin wegen eingeschränkter Nierenfunktion benötigten NEV. Im Hundemodell erfolgte eine hochdosierte, zentralvenöse Verabreichung von THAM und eine Dialyse zur Korrektur der Azidose. In diesem Versuchsaufbau wurde die Bildung eines Lungenödems beobachtet (10). In der Postdilutions-THAM Gruppe, welche die zentralvenöse Gabe darstellt, fanden wir ebenfalls die höchste Inzidenz von Lungenödemen. Neben der ausbleibenden Reduktion der Filterblockade sowie den auch in schlechteren MPAP und PCWP-Werten erkennbaren pulmonalen Nebenwirkungen unterschieden sich die post- und prädilutorische Gruppe damit in wesentlichen Aspekten. Mit unserer Studie wurde erstmals die Kombination von NEV und der prädilutorischen Gabe des alkalisierenden Substrats untersucht. Die prädilutorische Applikation bietet den Vorteil, dass ein Großteil des THAMs protoniert wieder ausgeschieden wird, bevor es überhaupt die vaskuläre Strombahn erreicht. Voraussichtlich ist dies der Schlüsselaspekt und weiterführende Untersuchungen zur Kombination der prädilutorischen Gabe mit diffusionsbasierten NEV zur Steigerung der „firstpass“-Clearance des protonierten THAMs sind wünschenswert.

Das hier gewählte Schweinemodell hat eine Einschränkung durch die fehlende Messung der Plasmakonzentration von THAM sowie die vollständig erhaltende Nierenfunktion und somit zusätzlich renaler THAM-Elimination. Daher wird es notwendig sein, die THAM-Plasmakonzentration in zukünftigen Studien zu überwachen, um die Sicherheit des Verfahrens vor dem klinischen Einsatz an Patienten mit gestörter Nierenfunktion sicherzustellen. Allerdings bietet das Hämodiafiltrationsverfahren – welches häufig als kontinuierliches Verfahren mit kombinierter konvektiv-diffusions-basierte Filtration eingesetzt wird- die Option für eine deutlich höhere Clearancerate des protonierten THAM im prädilutorischen Verfahren.

Obwohl die höhere THAM Clearance in diffusiven NEV vor Studienbeginn bewusst war, wurde auf die Verwendung dieser Methodik verzichtet, da diese Systeme ein deutlich komplexeres Clearance-System aufweisen und auch bzgl. der Biokompatibilität und Substratsubstitution in der Therapiephase andere Aspekte hinzufügen als bei einer reinen Ultrafiltration (Konvektion). Die Verwendung eines Sepsis- oder Multiorganversagen-Modells hätte zu einem weiteren Problem, wie der Entfernung proinflammatorischer Mediatoren durch die CVVH (6) geführt, sodass

eine pH-Korrektur allein nicht für Änderung während der Therapie verantwortlich gewesen wäre. Auch potentiell auftretende Nebenwirkungen wären voraussichtlich aufgrund der komplexen Pathophysiologie einer Sepsis zum größten Teil maskiert worden. Daher nutzten wir ein Azidämiemodell (metabolisch und respiratorisch) an gesunden Tieren, um CO<sub>2</sub> und pH-Wert Korrektur unter niedrigvolumiger Beatmung zu demonstrieren. Eine Säurelösung aus Milch- und Salzsäure wurde gewählt, um die Situation aus Laktatazidose und hyperchlorämischer Infusion darzustellen, die häufig bei Intensivpatientin auftritt. Hinzu kam die Notwendigkeit, die Säureäquivalente ohne gleichzeitig allzu große Volumenlast zuzuführen. Neben der Nachahmung der Kliniksituation einer typischerweise multikausalen Azidose, war dies ebenfalls angesichts der hämolytischen Wirkung einer zu hochmolaren Säure bei der Wahl der Säurelösung zu berücksichtigen. Weitere Studien mit kontinuierlicher Hämodiafiltration, welche eine höhere Substratclearance ermöglicht (THAM, Wasserstoffionen, CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) als die CVVH, sind notwendig, um die therapeutische Breite der kombinierten THAM plus NEV-Anwendung als Alternative zum erst spät in der Pathophysiologie einsetzbaren ECLA-Systemen zu eruieren.

Hypoxie-Modelletablierung P3: Wir entwickelten ein Modell für Hypoxämie kombiniert mit gemischter Azidämie an Schweinen. Die Auswahl der Spezies Schwein basierte unter anderem darauf, dass kliniknah mit Original-Geräten gearbeitet werden kann und die Volumen-/Clearancegrößen extrakorporaler Systeme in Relation zu Körpergröße und Blutvolumen vergleichbar zur Situation im Patienten sind. Dies ist wichtig, da für Biokompatibilitätsreaktionen der transmembranöse Druck, der Filtrationsdruck, das Filter Design, der Kathetertyp und -größe, sowie die Platzierung im Gefäßsystem von Bedeutung sind (11). Die Kombination aus reduziertem Tidalvolumen und Atemfrequenz sowie leicht verminderten FiO<sub>2</sub>-Werten (0,3) im Vergleich zum Azidämie-Modell war notwendig, um eine Hypoxämie zu erreichen. Die zusätzliche Säureinfusion ergab eine rasche Azidämie-Entwicklung und eine rasche Verschlechterung der hämodynamischen Situation. Das Modell bietet dennoch die Möglichkeit einer schnellen Wiederbelebung durch Anpassung der Beatmung im Falle einer kardialen Dekompensation. Die Hämodynamik aller Schweine der CVVH-Gruppe war stabil genug, um eine 3-stündige CVVH ohne Katecholamine zu tolerieren. Basierend auf den Protokollen vorangegangener Modellschritte und Studien erfolgte auch beim neuen Hypoxie-Modell die CVVH-

Anwendung zunächst mit Rezirkulation des Filtrats in die venöse Luftfalle, anstatt des regulären Volumenaustausches von Filtrat gegen Substrat. Die Rückführung des Mediatoren-enthaltenden Ultrafiltrates soll die Biokompatibilitätsreaktionen beschleunigen (2, 11). Dies ist eine wichtige Besonderheit unseres Modells, da fast alle intensivmedizinischen Schweine-Modelle nur für einige Stunden und nicht Tage ausgelegt sind. Die Entwicklung verschiedener Biokompatibilitätsreaktion über Zell- und Mediatorenaktivierung, die in der Klinik über Tage erfolgt, muss im Akut-Tierversuch forciert werden.

Weiterhin hängt dieses Modell nicht von Lungen-Lavagierung oder Endotoxin-Gabe ab. Nur so sind die netto-Effekte des extrakorporalen Systems und der Azidose zu untersuchen. Hierbei liegt die Zielstellung darin, sowohl divergierende Ergebnisse aus anderen experimentellen und Klinikstudien erklären zu können, sowie die Nutzen-/Risiko-Abwägung für Therapiemodule faktisch zu untermauern.

Ein Hypoxiemodell von Petersen et al (12) in 25 kg schweren Schweinen mit reduzierten  $\text{FiO}_2$  von 0,15 über 4h führte zu einer arteriellen Oxyhämoglobinfraktion von 0,89 ohne Störung der systemischen Zirkulation und Azidämie. Ein Modell welches nur auf  $\text{FiO}_2$  Reduktion basiert, stellt folglich nicht die Situation von Intensivpatienten dar. Durch die Reduktion von Tidalvolumen und Atemfrequenz konnte in unserem Modell eine signifikante Verschlechterung in allen Hypoxie-anzeigenden Parametern über mehrere Stunden erreicht werden, inklusive arterieller Sauerstoffpartialdruck ( $\text{PaO}_2$ ), arterielle Sauerstoffsättigung ( $\text{SaO}_2$ ), venöser Sauerstoffsättigung ( $\text{SvO}_2$ ) und  $\text{DO}_2$ . Daneben wurde eine gemischte Azidämie aufrechterhalten, welche eine häufig auftretende Situation von Intensivpatienten widerspiegelt.

Da sehr niedrige arterielle pH-Werte von 7,1 in unserem Experiment mit kardialer Dekompensation verbunden waren, entschieden wir uns für einen klinisch in aller Regel im Konzept der lungenprotektiven Beatmung mit permissiven Hyperkapnie tolerierten pH-Bereich von 7,19-7,24. Dennoch führte die Induktion von Hypoxämie/Azidämie zur kardialen Dekompensation von zwei Schweinen. Der pH Wert und  $\text{PaO}_2$  war in diesen Schweinen kurz vor der Dekompensation sehr niedrig (s. Ergebnisse). Die Induktion der Azidämie mit einem kleineren Säure-Bolus oder der schrittweise Erhöhung der Säureinfusion könnte den Bedarf an Pufferinfusion und Reanimation in zukünftigen Experimenten, wie von Martini et al beschrieben (3), verringern. Kredel et al berichtete über einen auch in unserer Studie aufgetretenen

kurzzeitigen Anstieg des MAP nach Hypoxämieinduktion durch  $\text{FiO}_2$ -Reduktion (13) und anschließenden Abfall. In Modellen von Lungen-Lavagierung oder Endotoxingabe (14,15) kam es zu einem Abfall der MAP-Werte ohne vorherigen Anstieg. Das initiale Hämodynamikverhalten ist somit wahrscheinlich vom jeweiligen Hypoxie-Modell abhängig. In unserem Modell konnte die initiale Hypertension durch Nitroglycerin kompensiert werden und wir induzierten erfolgreich eine Hypotension von Beginn der Hypoxämie/Azidämie an.

Letztlich wurde mit der Etablierung des Azidose- und Hypoxie/Azidose-Modells deutlich, wie hoch bereits der netto-Effekt von toleriertem Azidämiegrad und NEV auf die Verschlechterung der Herzkreislauffunktion einwirkt. In der Klinik werden häufig die schlechten Hämodynamikbefunde primär der der Azidose zugrunde liegenden Pathophysiologie zugesprochen und damit keine Notwendigkeit bzw. kein Sinn in der Korrektur des Säure-Basenhaushaltes gesehen.

Schlussfolgerung: Wie bereits unter normalen Säure-Basenhaushalt, scheint HES130 auch unter Azidämie die Hämodynamik bei CVVH-Anwendung im Vergleich zu GEL zu verbessern. Eine prädilutorische THAM-Infusion war in der Lage die Azidämie rasch zu korrigieren, ohne dass typische Nebenwirkungen einer hochdosierten THAM-Gabe auftraten. Aufbauend auf dem verwendeten Azidämie-Modell konnte ein Hypoxie-Modell im Schwein entwickelt werden, welches eine ausreichend stabile Hämodynamik bietet, um zusätzliche Kreislaufbelastungen wie ein NEV zu erlauben und wissenschaftliche Fragestellungen und Therapieoptionen zu bearbeiten.

## 1.7. Literaturverzeichnis

1. Perel P, Roberts I, Pearson M Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients. Cochrane Database of Systematic Reviews 2007, Issue 4, Art. No.: CD000567, DOI: 10.1002/14651858.CD000567.pub3.
2. Unger JK, Haltern C, Kobela JB, et al.: 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): 533-545.
3. Martini WZ, Dubick MA, Pusateri AE, Park MS, Ryan KL, Holcomb JB. Does Bicarbonate Correct Coagulation Function Impaired by Acidosis in Swine? J Trauma 2006; 61: 99-106.

4. Nahas GG, Sutin KM, Fermon C, et al. Guidelines for the treatment of acidaemia with THAM. *Drugs* 1998;55:191–224.
5. Ullrich R, Roeder G, Lorber C, et al. Continuous venovenous hemofiltration improves arterial oxygenation in endotoxin-induced lung injury in pigs. *Anesthesiology*. 2001;95(2): 428-436.
6. Kellum JA, Dishart MK. Effect of hemofiltration filter adsorption on circulating IL-6 levels in septic rats. *Crit Care*. 2002; 6(5):429-433.
7. Boldt J. Fluid choice for resuscitation of the trauma patient: a review of the physiological, pharmacological, and clinical evidence. *Can J Anaesth*. 2004;51(5):500-513.
8. Unger JK, Horna NA, Kashefi A, Blumberg A, Klosterhalfen B, Rossaint R. The Influence of Hypoalbuminemia on Maximal Flow Rates and Transmembrane Pressure during Plasmapheresis – An in vitro Study. *Blood Purif*. 2001;19(4): 408-416.
9. Sümpelmann R, Günther A, Zander R. Haemoconcentration by gelatin-induced acceleration of erythrocyte sedimentation rate. *Anaesthesia*. 2000;55(3):217-220.
10. Gille JP, Saunier F, Schrijen F, et al. Metabolic CO<sub>2</sub> removal by dialysis. THAM vs. NaOH infusion. *Int J Artif Organs* 1989;12:720–7.
11. Unger JK, Pietzner K, Francis RC, et al. Dual-lumen catheters for CVVH - limits for blood delivery via femoral ven access and a potential alternative in an experimental setting in anesthetized pigs. *Crit Care* 2007;11(1):R18.
12. Petersen B, Deja M, Bartholdy R, et al. Inhalation of the ETA receptor antagonist LU-135252 selectively attenuates hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294:R601-5.
13. Kredel M, Muellenbach RM, Brock RW, et al. Liver dysfunction after lung recruitment manoeuvres during pressure-controlled ventilation in experimental acute respiratory distress. *Crit Care* 2007;11(1):R13.
14. Sommerer A, Kaiser U, Dembinski R, Bubser HP, Falke KJ, Rossaint R. Dose-dependent effects of almitrine on hemodynamics and gas exchange in an animal model of acute lung injury. *Intensive Care Med* 2000; 26: 434-41.
15. Hart DW, Chinkes DL, Gore DC. Increased Tissue Oxygen Extraction and Acidosis with Progressive Severity of Sepsis. *J Surg Res* 2003; 112: 49-58.

## 2. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Tobias Keckel, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

"Hämodynamik im porcinen Azidämie-Hypoxie-Modell - Einfluss durch Kolloidinfusion, CVVH-Anwendung und Therapie mit THAM-Puffer"

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

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

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

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

Datum

Unterschrift

### 3. Anteilserklärung

Tobias Keckel hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: **Keckel T**, Russ M, Bedarf JR, Ott S, Hiebl B, Haacke N, Wagner JJ, Unger JK. In a porcine model of mixed acidemia HES 130/0.4 may support more stable hemodynamics during CVVH when compared to gelatine. Int J Artif Organs. 2012 Mar;35(3):180-90.

Anteil des Promovenden: 75%.

Beitrag im Einzelnen: Beteiligung an der Vor- und Nachbereitung sowie der Durchführung der Experimente, insbesondere Einleitung und Aufrechterhaltung der Narkose und Azidämie, Instrumentierung, Blutentnahmen und Hämodynamikmessungen. Weiterhin Vorbereitung und Assistenz bei Betrieb der CVVH. Eigenständige Literaturrecherche bzgl. Einfluss von Azidose auf Hämodynamik, Kolloid-Eigenschaften sowie Biokompatibilitätsreaktionen von extrakorporalen Systemen. Statistische Auswertung. Selbstständiges Ausarbeiten des zu veröffentlichen Artikels inklusive Abbildungen und Tabellen sowie anschließende Veröffentlichung mit Einverständnis PD Juliane Unger.

Publikation 2: Russ M, Deja M, Ott S, Bedarf J, **Keckel T**, Hiebl B, Wagner JJ, Unger JK. Experimental high-volume hemofiltration with predilutional tris-hydroxymethylaminomethane for correction of low tidal volume ventilation-induced acidosis. Artif Organs. 2011 Jun;35(6):E108-18.

Anteil des Promovenden: 30%

Beitrag im Einzelnen: Beteiligung an der Vor- und Nachbereitung sowie der Durchführung der Experimente, insbesondere Einleitung und Aufrechterhaltung der Narkose und Azidämie, Instrumentierung, Blutentnahmen und Hämodynamikmessungen. Weiterhin Vorbereitung und Assistenz bei Betrieb der CVVH. Überführung der manuell gemessenen Werte in elektronische Form zur Vorbereitung der Statistik. Eigenständige Literaturrecherche und Diskussion der Ergebnisse innerhalb der Arbeitsgemeinschaft.



Publikation 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 Aug;33(8):544-52.

Anteil des Promovenden: 30%

Beitrag im Einzelnen: Beteiligung an der Vor- und Nachbereitung sowie der Durchführung der Experimente, insbesondere Einleitung und Aufrechterhaltung der Narkose und Azidämie+Hypoxie, Instrumentierung, Blutentnahmen und Hämodynamikmessungen. Weiterhin Vorbereitung und Assistenz bei Betrieb der CVVH. Überführung der manuell gemessenen Werte in elektronische Form zur Vorbereitung der Statistik. Eigenständige Literaturrecherche Diskussion der Ergebnisse innerhalb der Arbeitsgemeinschaft.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

### 3. Publikationen eingereicht zur Dissertation

Diese Publikationsdissertation basiert auf den hier aufgeführten Veröffentlichungen, die als P1-3 zitiert wurden.

Publikation 1: **Keckel T**, Russ M, Bedarf JR, Ott S, Hiebl B, Haacke N, Wagner JJ, Unger JK. In a porcine model of mixed acidemia HES 130/0.4 may support more stable hemodynamics during CVVH when compared to gelatine. Int J Artif Organs. 2012 Mar;35(3):180-90.

Impact Factor 2011: 1,861

Publikation 2: Russ M, Deja M, Ott S, Bedarf J, **Keckel T**, Hiebl B, Wagner JJ, Unger JK. Experimental high-volume hemofiltration with predilutional tris-hydroxymethylaminomethane for correction of low tidal volume ventilation-induced acidosis. Artif Organs. 2011 Jun;35(6):E108-18.

Impact Factor 2011: 2,0

Publikation 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 Aug;33(8):544-52.

Impact Factor 2011: 1,861

## **5. Lebenslauf**

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

## 6. Vollständige Publikationsliste

1. **Keckel T**, Russ M, Bedarf JR, Ott S, Hiebl B, Haacke N, Wagner JJ, Unger JK. In a porcine model of mixed acidemia HES 130/0.4 may support more stable hemodynamics during CVVH when compared to gelatine. *Int J Artif Organs*. 2012 Mar;35(3):180-90.
2. Russ M, Deja M, Ott S, Bedarf J, **Keckel T**, Hiebl B, Wagner JJ, Unger JK. Experimental high-volume hemofiltration with predilutional tris-hydroxymethylaminomethane for correction of low tidal volume ventilation-induced acidosis. *Artif Organs*. 2011 Jun;35(6):E108-18.
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 Aug;33(8):544-52.
4. Bedarf JR, Russ M, Ott S, **Keckel T**, Kirschfink M, Unger JK. Influence of acidemia and hypoxaemia on CVVH haemocompatibility in a porcine model. *Nephrol Dial Transplant*. 2010 Sep;25(9):2960-9.
5. Russ M, Koch V, **Keckel T**, Boemke W, Hiebl B, Unger JK. Six percent hydroxyethyl starch 130/0.4 impacts differently on blood glucose than 4% gelatine in a swine model of mixed acidemia. *Eur J Anaesthesiol*. 2009 Dec;26(12):1026-31.

## 7. Danksagung

Diese Arbeit wäre ohne die hilfreiche Zusammenarbeit mit vielen Personen nicht zustande gekommen.

Zunächst möchte ich PD Dr. med. vet. Juliane K. Unger für die jahrelange Begleitung im Rahmen dieser Arbeit danken. Sei es die herausfordernde Zeit der Versuche, als auch die sich anschließende Zeit der Auswertung und Publikation, in der sie eine ständige und äußerst hilfsbereite Ansprechpartnerin war sowie trivial erscheinende Aspekte kritisch hinterfragte und mich so an die wissenschaftliche Arbeitsweise heranführte.

Weiterhin möchte ich Dr. med. Martin Russ danken, der stets für kritische und produktive Diskussionen ein Ohr hatte.

Sascha Ott und Janis Bedarf ist zu danken, da wir ohne die gegenseitige Unterstützung im Rahmen der Versuche - und auch danach - nicht da stehen würden, wo wir jetzt sind.

Ich danke auch Dr. med. vet., Dipl. Ing Bernard Hiebl für die Kooperation und wissenschaftliche Unterstützung.

An dieser Stelle möchte ich meinen Eltern danken, welche mich immer unterstützt haben.

Und nicht zuletzt möchte ich meiner Frau und meinem Sohn danken, die es mir trotz des gefüllten Tagesprogramms einer jungen Familie ermöglichten, diese Arbeit abzuschließen.