

**Aus den Forschungseinrichtungen für Experimentelle Medizin
der Universitätsmedizin Berlin-Charité**

eingereicht über das

**Institut für Veterinär-Physiologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Aussagekraft von Versuchen zur
Hämokompatibilitätsforschung von Hämofiltern:
in-vitro versus in-vivo**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
(Dr. med. vet.)**

**an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Lisa Babette Eger
Tierärztin aus Ludwigshafen am Rhein**

**Berlin 2010
Journal-Nr.: 3383**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Helmut Hartmann
Zweiter Gutachter: PD Dr. Juliane Unger
Dritter Gutachter: Prof. Dr. Rafael Nickel

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

extracorporeal circulation, filtration, in vitro, in vivo, animal models, pigs,
coagulation, membranes

Tag der Promotion: 09.07.2010

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-819-7

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2010

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2010

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	V
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT.....	2
2.1 Geschichte der Hämofiltration.....	2
2.2 Physikalische Grundlagen.....	2
2.3 Komponenten eines extrakorporalen Kreislaufs.....	4
2.3.1 Filter... ..	4
2.3.2 Membranen.....	4
2.3.3 Sonstige Materialien.....	5
2.4 Volumensubstitution.....	6
2.4.1 Volumengabe im Rahmen der Hämofiltration	6
2.4.2 Volumengabe im Rahmen der Intensivmedizin	7
2.4.3 Albumin.....	8
2.4.4 Gelatine-Präparationen.....	8
2.4.5 Hydroxyethylstärke	9
2.4.6 Isotone Kochsalzlösung.....	9
2.5 Antikoagulation	9
2.5.1 Unfraktioniertes Heparin.....	10
2.5.2 Regionale Antikoagulation mit Citrat	10
2.6 Biokompatibilität	11
2.6.1 Aktivierung der Gerinnung durch Fremdoberflächen.....	12
2.6.2 Verlegung eines Hämofilters aufgrund der Bildung von Blutgerinnseln, einer Sekundärmembran oder Blutzellaggregaten	13
2.6.2.1 Clotting: Verlegung eines Hämofilters durch Blutgerinnsel.....	13
2.6.2.2 Membranfouling: Bildung einer Sekundärmembran	14
2.6.2.3 Clogging: Verlegung eines Hämofilters durch Blutzellaggregate	14
2.6.2.4 Auswirkungen der Verlegung eines Filters auf die Druckverhältnisse und die Blutzusammensetzung.....	15
2.7 Grundlagen für das Inverkehrbringen von Medizinprodukten	16
2.8 In-vitro-Forschung zur Biokompatibilität.....	16
2.8.1 In-vitro-Hämofiltration.....	17

2.8.2	Organisationsstufen von in-vitro-Hämofiltrationsmodellen zur Biokompatibilitätsforschung	19
2.8.2.1	Inkubationsmodell.....	19
2.8.2.2	Nicht zirkulierendes Flusssystem.....	19
2.8.2.3	Rezirkulierendes Flusssystem.....	19
2.8.3	Datenerhebung in einem in-vitro-Modell zur Biokompatibilitätsforschung	20
2.9	In-vivo-Forschung zur Biokompatibilität	20
2.9.1	In-vivo-Hämofiltration, experimentell durchgeführt am Tiermodell.....	20
2.9.2	In-vivo-Hämofiltration, durchgeführt in einer Klinikstudie.....	21
2.10	Klinische Anwendung der Hämofiltration und Anforderungsprofil der Klinik	22
2.10.1	Indikationen zur Hämofiltration.....	22
2.10.2	Ansprüche an einen Hämofilter während einer klinischen Anwendung.....	22
2.10.3	Ansprüche der Kliniker an sonstiges Material	23
2.10.4	Antikoagulation während der Hämofiltration	23
2.10.5	Flüssigkeitsmanagement während der Hämofiltration.....	23
2.11	Beurteilung der Messergebnisse eines Modells zur Hämofiltration.....	24
2.11.1	Druckverhältnisse.....	24
2.11.2	Gerinnung.....	24
2.11.3	Blutzellen.....	24
3	MATERIAL UND METHODE	26
3.1	In-vitro-Modell	26
3.1.1	Hämofiltration	27
3.1.2	Versuchsgruppen.....	28
3.1.3	Untersuchte Parameter	29
3.1.4	Laboranalysen	29
3.1.5	Versuchsprotokoll	30
3.2	In-vivo-Modell.....	30
3.2.1	Kontinuierliche venovenöse Hämofiltration	31
3.2.2	Versuchstiere und Versuchsgruppen.....	32
3.2.3	Anästhesie	32
3.2.4	Instrumentalisierung und chirurgische Techniken	33
3.2.5	Flüssigkeitsmanagement	33
3.2.6	Untersuchte Parameter	34
3.2.7	Laboranalysen	35

3.2.8	Versuchsprotokoll	35
3.3	Modellgegenüberstellung / Versuchsaufbau.....	36
3.3.1	Blut und Antikoagulation	39
3.3.2	Soll- und Grenzwertsetzung im Protokoll	42
3.4	Statistische Auswertung.....	42
4	ERGEBNISSE	43
4.1	Druckverhältnisse	43
4.1.1	Transmembranärer Druck.....	43
4.1.2	Druck im Filtratkompartiment.....	44
4.1.3	Druckabfall über das Filterkompartiment	45
4.2	Hämokompatibilität: Gerinnung / Plasmatische Faktoren.....	47
4.2.1	Aktivierte Prothrombinzeit.....	47
4.2.2	Quickwert	48
4.2.3	Fibrinogenkonzentration	49
4.2.4	D-Dimere.....	50
4.2.5	Antithrombin III	51
4.2.6	Thrombin-Antithrombin-Komplex.....	52
4.2.7	Heparinverbrauch in-vivo.....	52
4.3	Hämokompatibilität: Blutzellen.....	53
4.3.1	Hämatokrit.....	53
4.3.2	Freies Hämoglobin	54
4.3.3	Thrombozyten	55
4.3.4	Leukozyten	57
4.4	Ranking für Einzelparameter in-vitro und in-vivo	58
5	DISKUSSION	61
5.1	Bewertung der Messergebnisse	62
5.1.1	Flussraten und Druckverhältnisse	62
5.1.1.1	Transmembranärer Druck und Filtratdruck	62
5.1.1.2	Druckabfall über das Filterkompartiment	63
5.1.2	Hämokompatibilität: Gerinnung / Plasmatische Faktoren	63
5.1.2.1	Aktivierte Prothrombinzeit und Quickwert.....	64
5.1.2.2	Fibrinogenkonzentration und D-Dimere	65
5.1.2.3	Antithrombin III und Thrombin-Antithrombinzeit	66
5.1.2.4	Heparinbedarf.....	66

5.1.3	Hämokompatibilität: Blutzellen	67
5.1.3.1	Hämatokrit und freies Hämoglobin.....	67
5.1.3.2	Thrombozyten und Leukozyten	68
5.2	Bewertungsdiskussion zur Übertragung von in-vitro-Einzelergebnissen auf die in-vivo-Situation.....	70
5.2.1	Was ist von unseren in-vitro-Ergebnissen auf in-vivo und auf die klinische Situation übertragbar?	70
5.2.1.1	Druckverhältnisse.....	70
5.2.1.2	Hämokompatibilität	70
5.2.2	Was ist von unseren in-vitro-Ergebnissen nicht auf in-vivo und damit nicht auf die klinische Situation übertragbar?	71
5.2.2.1	Druckverhältnisse.....	71
5.2.2.2	Hämokompatibilität	71
5.2.3	Aussagekraft des in-vitro-Modells zur in-vivo-Interaktion von Begleitinfusionen mit der Anwendung der kontinuierlichen venösen Hämofiltration	72
5.3	Fazit und Ausblick.....	75
6	ZUSAMMENFASSUNG	77
7	SUMMARY.....	79
8	ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS.....	81
8.1	Abbildungsverzeichnis.....	81
8.2	Tabellenverzeichnis	83
9	ANHANG	86
10	LITERATURVERZEICHNIS	96
11	DANKSAGUNG	114
	SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	115
12	PUBLIKATIONEN.....	116

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACT	activated clotting time
ALB	Albumin
ANV	Akutes Nierenversagen
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ATIII	Antithrombin III
BSnat	Native Baseline
BSsys	System Baseline
CAVH	Continuous arteriovenous hemofiltration
CVVH	Continuous venovenous hemofiltration
GEL	Gelatine
Hct	Hämatokrit
HES	Hydroxyethylstarch
HWZ	Halbwertszeit
kDa	Kilodalton
MG	Molekulargewicht
mv	missing value
NaCl	Natriumchlorid
P_a	hydrostatischer arterieller Druck
P_a-P_v	hydrostatisches Druckgefälle in der Filterkapillare
P_f	hydrostatischer Filtratdruck
Plts	platelets; Thrombozyten
P_v	hydrostatischer venöser Druck
PVC	Polyvinylchlorid
Q_b	Blutflussrate
Q_f	Filtratflussrate
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
TAT	thrombin antithrombin time
TMP	transmembrane pressure
VE	Versuchsende
ZBS	Zwischen Baseline
ZM	Zwischenmessung

1 EINLEITUNG

Seit mehr als 50 Jahren stellt die Biokompatibilität von Membranen die Forscher vor ein bedeutendes Problem bei der Entwicklung von Filtersystemen für die Nierenersatztherapie. Mit der Entwicklung vollsynthetischer Polymere Membranen um 1970 konnte die Biokompatibilität im Vergleich zu den ersten zellulosebasierten Membranen deutlich verbessert werden. Die Exposition des Blutes mit diesen künstlichen Oberflächen führt jedoch nach wie vor zur Aktivierung des Gerinnungssystems, des Komplementsystems und zur Freisetzung von Entzündungsmediatoren. Dies stellt immer noch ein schwer einschätzbares Risiko bei der Therapie multimorbider Patienten dar, bei denen gleichzeitig mehrere behandlungswürdige Krankheiten vorliegen.

Heutzutage existiert eine Vielzahl verschiedener in-vitro-Modelle zur Biokompatibilitätsforschung von Materialien, die im Rahmen der Nierenersatztherapie angewendet werden. Diese in-vitro-Modelle werden aufgrund ihrer hohen Reproduzierbarkeit und ihrer günstigen Kosten hauptsächlich zur Testung von Filterclearance oder indikationsfremden Anwendungsverfahren wie der Mediatorenelimination verwendet. Aber auch Studien zum Antikoagulationsregime und zu Hämokompatibilitätsreaktionen erfolgen in solchen in-vitro-Modellen. Es gibt jedoch bislang kein evaluiertes in-vitro-Modell, welches verlässliche Prognosen bezüglich der zu erwartenden Biokompatibilitätsreaktionen ermöglicht. Bis heute bleibt nur die klinische Studie selbst die einzig verlässliche Aussage zur Biokompatibilität von Materialien beim Einsatz in der Klinik. Während für die Dialyse als Nierenersatzverfahren beim chronischen Nierenversagen einige klinische Daten zur Biokompatibilität zur Verfügung stehen, gibt es bisher nur sehr wenige Klinikstudien zur Biokompatibilitätsthematik beim akuten Nierenversagen im Intensivpatienten. Es besteht daher die Notwendigkeit, mehr über die prognostische Aussagekraft von in-vitro-Studien für die klinische Situation v.a. auch in der Intensivmedizin herauszufinden.

Diese Arbeit befasst sich mit der systematischen Gegenüberstellung von in-vitro- versus in-vivo-Ergebnissen beim Einfluss verschiedener Infusionslösungen auf die Hämokompatibilität und Filterleistung einer kontinuierlichen venovenösen Hämofiltration, wie sie beim akuten Nierenversagen zum Einsatz kommt. Beispielhaft wird dargestellt und diskutiert, welche Prognose zur Biokompatibilitätsreaktion aus dem gewählten in-vitro-Modell sich im in-vivo-Experiment bestätigt. Im Ausblick wird diskutiert, inwieweit eine prognostische Aussagefähigkeit aus der in-vitro-Studie für die Kliniksituation am Patienten besteht.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Geschichte der Hämofiltration

Das Prinzip der Ultrafiltration zur Elimination harnpflichtiger Substanzen und zum Flüssigkeitsentzug in-vivo wurde bereits 1928 beschrieben (Brull, 1928). Die erste Hämofiltration wurde etwa 30 Jahre später an mit Barbiturat vergifteten Kaninchen durchgeführt (Alwall *et al.*, 1952). Zu diesem Zeitpunkt verwendete man noch Cellophanspulen. Nach ausführlicher Erforschung der klinischen Anwendung und des physikalischen Prinzips der Hämofiltration wurde 1974 mit der klinischen Anwendung begonnen (Henderson, 1982; Quellhorst *et al.*, 1978). Erstmals wurde 1977 die arterio-venöse Hämofiltration als kontinuierliche Methode zum Flüssigkeitsentzug bei diuretikaresistenten Patienten mit akutem Nierenversagen durchgeführt. Versehentlich wurde dabei die Arteria femoralis anstatt der Vena femoralis punktiert. Dadurch konnte zufällig gezeigt werden, dass der arterielle Blutdruck genügt, um eine ausreichende Filtrationsleistung ohne zwischengeschaltete Pumpe zu erreichen (Kramer, P. *et al.*, 1977).

Heute werden fast ausschließlich pumpengesteuerte venovenöse Verfahren durchgeführt. Erkrankungen mit folgenden pathologischen Veränderungen stellen seitdem eine Indikation für Nierenersatzverfahren dar (Grootendorst und Van Bommel, 1993; Kramer, L., 1998; Samtleben und Blumenstein, 1999): Akutes Nierenversagen (ANV) mit Oligurie, Anurie oder Anstieg der harnpflichtigen Substanzen, Intoxikationen, Hypervolämie, Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS), Sepsis oder Multiorganversagen.

2.2 Physikalische Grundlagen

Bei der Hämofiltration wird dem Blut durch einen im extrakorporalen Kreislauf zwischengeschalteten Filter infolge eines Druckgefälles ein Ultrafiltrat entzogen und durch eine Substitutionslösung ersetzt. Die Bildung des Ultrafiltrats erfolgt nach dem Gesetz der Konvektion:

$$J = C_p \cdot S \cdot Q_F \quad (1)$$

Der Stofftransport J [mol/min] durch eine Membran ist abhängig von der Konzentration der zu eliminierenden Substanz im Plasma C_p , dem Siebkoeffizienten S und der Ultrafiltrationsrate Q_F (Samtleben und Blumenstein, 1999). Die Ultrafiltrationsrate wird maßgeblich beeinflusst vom Blutfluss, den Membraneigenschaften des Filters, der Blutzusammensetzung und dem Transmembrandruck. Dieser errechnet sich aus der Differenz der hydrostatischen Drücke, die auf die Membran wirken:

$$TMP = (P_a + P_v) / 2 - P_f \quad (2)$$

Der Druck auf der Innenseite der Membran ist abhängig von dem arteriellen Druck P_a und dem venösen Druck P_v , der Druck auf der Außenseite der Membran wird durch den Filtratdruck P_f bestimmt.

Abhängig von den Membraneigenschaften des Filters, wie der Porengeometrie und der Porengröße der Membran, werden kleine Substanzen mit 25 bis 50 kDa dem Wassertransport folgend durch Konvektion transportiert. Dies sind im Besonderen die nieder- und mittelmolekularen Stoffe (Elektrolyte, H^+ ...) und die Marker Urea, Kreatinin mit einem Molekulargewicht von 150 Da. Auch mittelgroße Moleküle, z.B. Peptide oder kleine Proteine, können in geringem Maße ins Filtrat gelangen (s. Abb. 1). Als Clearance ist das Volumen

definiert, welches pro Zeiteinheit von einer bestimmten Substanz theoretisch vollständig gereinigt wird. Es wird im Allgemeinen in Milliliter pro Minute angegeben.

$$Cl_x = V_U \cdot c(x)_U / c(x)_{\text{plasma}} \quad (3)$$

Dabei ist Cl_x die Clearance in [ml/min], V_U das Harnzeitvolumen [ml/min], $c(x)_U$ die Konzentration der Substanz x im Urin [mg/l] bzw. im Plasma $c(x)_{\text{plasma}}$ [mg/l].

Um die glomeruläre Filtrationsrate der Niere zu bestimmen, werden Substanzen wie Inulin oder das körpereigene Kreatinin gemessen, die in den Glomerula, den Nierenkörperchen, frei filtriert und tubulär weder resorbiert noch sezerniert werden (s. Abb. 1). Die Clearance ist nicht mit der glomerulären Filtrationsrate gleichzusetzen, da sie von den einzelnen Substanzen abhängt. Die Clearancemessung wird jedoch häufig zur Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate herangezogen, da sie für die angegebenen Substanzen eng korreliert.

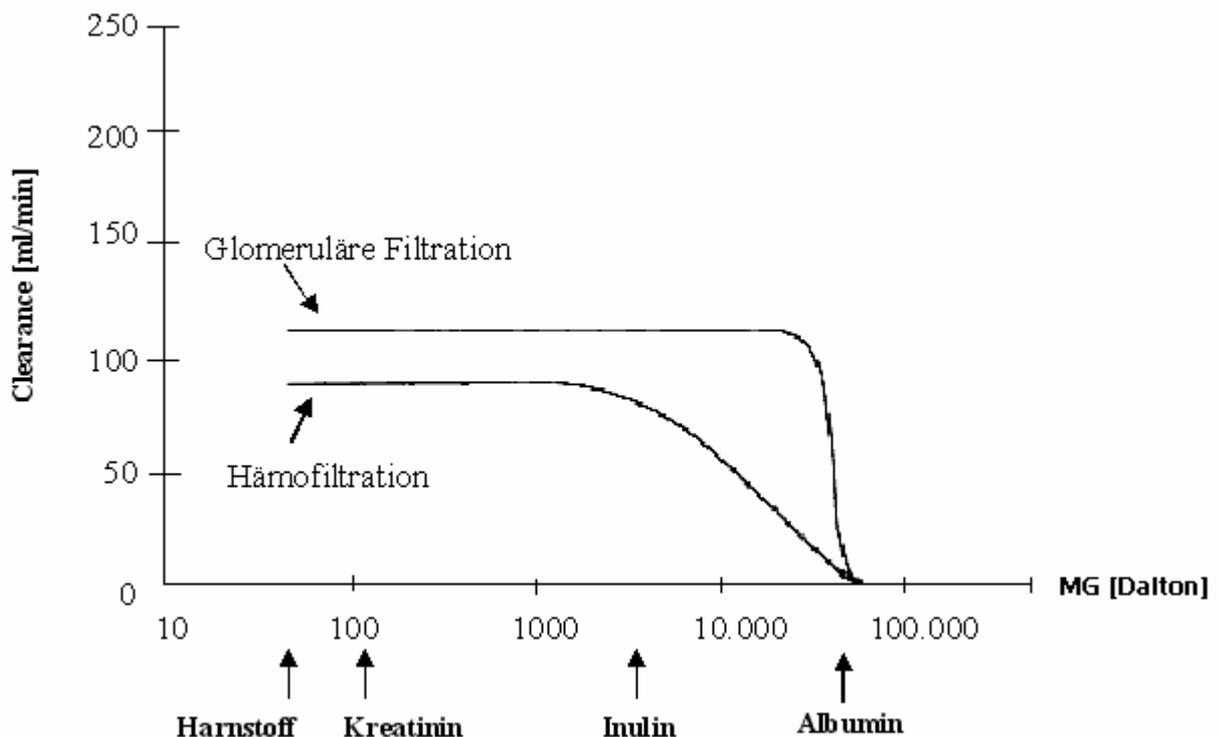


Abb. 1: Vergleichende Darstellung der molekulargewichtsbezogenen Clearancekurven bei einer Hämofiltration sowie bei der Filtration des Blutes mit Bildung von Primärharn im Glomerulum einer gesunden Niere, hier zitiert und modifiziert nach (Samtleben und Blumenstein, 1999)

Hochmolekulare Proteine, wie Albumin oder die Gerinnungsfaktoren sowie Erythrozyten und Leukozyten, werden nicht filtriert und verbleiben im Kreislauf.

Die Eliminierbarkeit eines Stoffes wird durch den Siebkoeffizienten S bestimmt, der das Verhältnis der Konzentration des Stoffes im Filtrat C_F zur Konzentration des Stoffes im Blut C_B beschreibt.

$$S = C_F/C_B \quad (4)$$

Ist der Siebkoeffizient gleich 0, so bedeutet dies, dass der Stoff die Membran nicht durchdringen kann. Hat der Siebkoeffizient den Wert 1, so kann der Stoff die Membran ungehindert passieren und wird zu 100 % gefiltert (Beck, 1999).

2.3 Komponenten eines extrakorporalen Kreislaufs

Zu einem extrakorporalen Kreislauf gehören mindestens ein Filter, eine oder mehrere Pumpen und die Schläuche. Alle Oberflächen, die in einem extrakorporalen Kreislauf mit Blut oder Blutbestandteilen in Kontakt kommen, sollten möglichst biokompatibel sein, also möglichst keine Wechselwirkungen zwischen der Fremdoberfläche und dem Blut hervorrufen (s. Kap. 2.6.1).

2.3.1 Filter

Ein Hämofilter ist zusammengesetzt aus einer Vielzahl von Hohlfasern, die mit dem zu filternden Blut oder Blutbestandteil durchspült werden. Die Filterdimension ergibt sich aus der effektiven Länge und dem Durchmesser dieser Fasern. Ausschlaggebend für die Effizienz der Filtration sind die effektive Membranfläche und die Porengröße, welche die Permeabilität der Hohlfasermembran bestimmt (Reimann und Mason, 1990).

2.3.2 Membranen

Bei Membranen unterscheidet man zwischen biologischen Membranen auf Zellulosebasis und den neueren synthetisch hergestellten Membranen. Bis ca. 1950 bestanden alle erhältlichen Materialien aus regenerierter Zellulose (Lysaght, 1995). Das natürlich vorkommende Polysaccharid muss für den Einsatz als semipermeable Membran in verschiedenen Schritten vorbereitet werden: in einem ersten Reinigungsvorgang wird die Rohfaser von Schmutzpartikeln befreit, anschließend wird ihre Struktur in einem chemischen Ionenbad aufgelöst. Durch Neuformung als Platte bzw. Faser entsteht die semipermeable Membranstruktur. In einem letzten Schritt wird die Zellulose in der neuen Form durch Präzipitation fixiert. Neben verschiedenen Modellen wie der Trommel-, Platten- oder auch Spulenniere setzte sich die Kapillarmembran durch, die aus tausenden feinsten Membranröhrchen besteht, welche vom Blut durchflossen werden und eine außerordentlich große und effektive Austauschfläche zwischen Blut und Membran ergeben. Die Membrandicke konnte mit der Zeit bis auf 8 μm reduziert werden. Da sich die Permeabilität umgekehrt proportional zur Dicke der Membran verhält, wurde damit eine deutliche Erhöhung der Clearance-Rate erreicht (Lysaght, 1995). Die Membranen auf Zellulosebasis eliminieren abhängig vom Massentransfer nur niedermolekulare Substanzen. Die einheitliche Fibrillenultrastruktur der Zellulose verleiht ihr einerseits eine solche Stabilität, dass daraus äußerst dünne Wanddicken hergestellt werden können. Andererseits führen die polaren Hydroxylgruppen der Zellulose zu einer starken Interaktion mit Wasser, so dass aufgrund des hydrophilen Charakters ein Hydrogel-ähnliches Material entsteht, welches eine hohe Diffusionsrate für niedermolekulare Substanzen ermöglicht.

Die vermehrte Aktivierung des Komplementsystems stellte lange Zeit ein Problem beim Gebrauch der biologischen Membranen dar. Wie man herausfand, interagieren dabei labile Hydroxylgruppen der Zellulose mit dem C3a-Komplementmolekül, was über eine Kaskade

zur systemischen Aktivierung des Komplementsystems führt (Bowry, 2002; Lysaght, 1995). Daraufhin wurden die Celluloseacetatmembranen entwickelt, bei denen zwei der drei Hydroxylgruppen mit Acetylgruppen verestert werden, wodurch ein Zellulose-Diacetat entsteht. Einige Jahre später veresterte man alle Hydroxylgruppen, woraus sich das Zellulose-Triacetat ergab (Lysaght, 1995). Durch diese Neuentwicklungen kam es zu einer deutlichen Verbesserung der Biokompatibilität dieser Membranen.

1969 wurde die erste vollsynthetische AN-69 Membran entwickelt. Diese besteht aus einem Copolymer und setzt sich aus Acrylnitril und Acrylsulfonat zusammen. Später wurden neben der reinen Polynitrilmembran die Polysulfon- und Polyamidmembranen hergestellt, die ab 1980 im Bereich der Hämofiltration eine weite Verbreitung erlangten (Lysaght, 1995). Fresenius brachte 1983 die Fresenius Polysulfone[®] auf den Markt. Diese Membran besteht aus dem synthetischen Polymer Polysulfon und Polyvinylpyrrolidon und zeichnet sich durch eine weit geringere Aktivierung des Komplementsystems aus als alle vorherigen Membranen. Die heutzutage vielfach verwendeten vollsynthetischen Membranen aus Polysulfon, Polyamid oder Polyacrylnitril sind petrochemisch abgeleitete Thermoplasten, die im Kern einen hydrophoben und lipophilen Charakter haben. Die Polymere werden in einem ersten Schritt verflüssigt - entweder auf thermischem oder auf chemischem Weg - und danach in eine sehr dünne Röhre geleitet, die das Polymer in die Form einer Faser umwandelt. Zum Aushärten des Polymers wird entweder eine zweite Flüssigkeit oder ein Gas durch die neu entstandene Hohlfaser geleitet. Im zweiten Schritt wird in einem Koagulationsbad durch Präzipitation Form und Morphologie der Hohlfaser festgelegt und konserviert.

Bei der Auswahl einer Membran spielen das Material, die Wanddicke, die maximale Porengröße, der innere Faserdurchmesser und die Sterilisationsart die wichtigste Rolle (Bowry, 2002).

Bis heute gehören die meisten der Zellulosemembranen den Low-flux-Membranen an, die für kleine, niedrigmolekulare Stoffe durchlässig sind. Die Mehrzahl der synthetischen Membranen hingegen zählt zu den High-flux-Membranen, welche auch für größere hochmolekulare Stoffe durchlässig sind (Laufenburg, 2002; Rogiers, 1998). Kriterien, die heutzutage eine moderne Membran auszeichnen, sind eine hohe Biokompatibilität, ein großer Einsatzbereich für therapeutische Verfahren (Low- und High-flux-Hämodialyse, -Hämodiafiltration, -Hämofiltration), eine hohe Endotoxinelimination und eine möglichst hohe Unempfindlichkeit gegenüber Dampfsterilisation.

2.3.3 Sonstige Materialien

Ebenso wie der Filter haben alle Materialien, die mit dem Blut- oder den Blutbestandteilen in Berührung kommen, einen Einfluss auf die Hämokompatibilität und somit auch auf die Filterfunktion. Zu den sonstigen Materialien zählen in-vitro das Behältnis, in welchem das Blut oder die Blutbestandteile aufbewahrt werden, die Schlauchsysteme, mindestens eine Pumpe, sofern es sich um ein rezirkulierendes System handelt, mindestens eine Luftblasenfalle, evtl. ein Sieb für Gerinnsel und Verbindungsstücke zwischen dem Schlauchsystem und dem Behälter (s. Tab. 1).

Tab. 1: Beispiele für weitere Materialien in einem in-vitro-Hämofiltrationskreislauf

Blutreservoir	<ul style="list-style-type: none"> • Flexibler Beutel • Glasbehälter
Schlauchsysteme	<ul style="list-style-type: none"> • PVC • Silikon • Polyethylen • Polypropylen (Daxbeck, 2007)
Katheter	<ul style="list-style-type: none"> • Doppellumen-Katheter • Dreifachlumen-Katheter • High-Flow-Katheter
Pumpe	<ul style="list-style-type: none"> • Rollerpumpe • Rotationspumpe • Membranpumpe (Vogel, 2002)
Antikoagulantien	<ul style="list-style-type: none"> • Un-/fraktioniertes Heparin • Hirudin • Prostacyclin

2.4 Volumensubstitution

2.4.1 Volumengabe im Rahmen der Hämofiltration

Je nach Grunderkrankung kann die Hämofiltration eine Therapieform darstellen, um den Anteil an Wasser, Elektrolyten etc. im Blut des Patienten zu erhöhen bzw. zu reduzieren. Das Ausmaß der Filtration wird dabei durch eine kontrollierte Flüssigkeitsbilanzierung und die Sollwerteneinstellungen bestimmt.

Auch die Eigenschaften der Substitutionslösung müssen auf die notwendige Therapie abgestimmt sein. So kann zum Beispiel bei einem ANV das Flüssigkeitsvolumen des Patienten durch die Therapie reduziert werden. Gleichzeitig muss mit Hilfe der Filtration auch der kolloidosmotische Druck korrigiert werden, der bei einem ANV durch die übermäßigen Flüssigkeitsanteile zu niedrig geworden ist (Hämatokrit und Proteinkonzentration fallen ab). Die Verabreichung der Substitutionslösung kann in Form einer Prädilution oder in Form einer Postdilution erfolgen (s. Abb. 2). Die Prädilution, also eine Substitution, die vor dem Filter dem Kreislauf zugeführt wird, ermöglicht einen höheren Filtratfluss, wodurch die Clearance kleinmolekularer Substanzen erhöht und das Fließverhalten des Blutes im Filter verbessert wird. Allerdings ist durch die Verdünnung des Blutes auch die Konzentration der zu eliminierenden Substanz niedriger und der Verbrauch der Substitutionsflüssigkeit deutlich höher. Bei der Postdilution, also der Substitution nach dem Hämofilter, wird die Ultrafiltration in erster Linie vom Blutfluss bestimmt und damit der größtmögliche Effekt erzielt: harnpflichtige Stoffe kommen im Ultrafiltrat in derselben Konzentration wie im Blut vor. Beim Durchströmen des Hämofilters steigt die Viskosität des Blutes an, wodurch mehr Kapillaren pro Zeiteinheit verstopfen (Pedrini *et al.*, 2000). Dadurch wird die Standzeit des Filters verkürzt. Ein Vorteil der Postdilution ist, dass der Verbrauch der Substitutionslösung bedeutend geringer ist als bei der Prädilution.

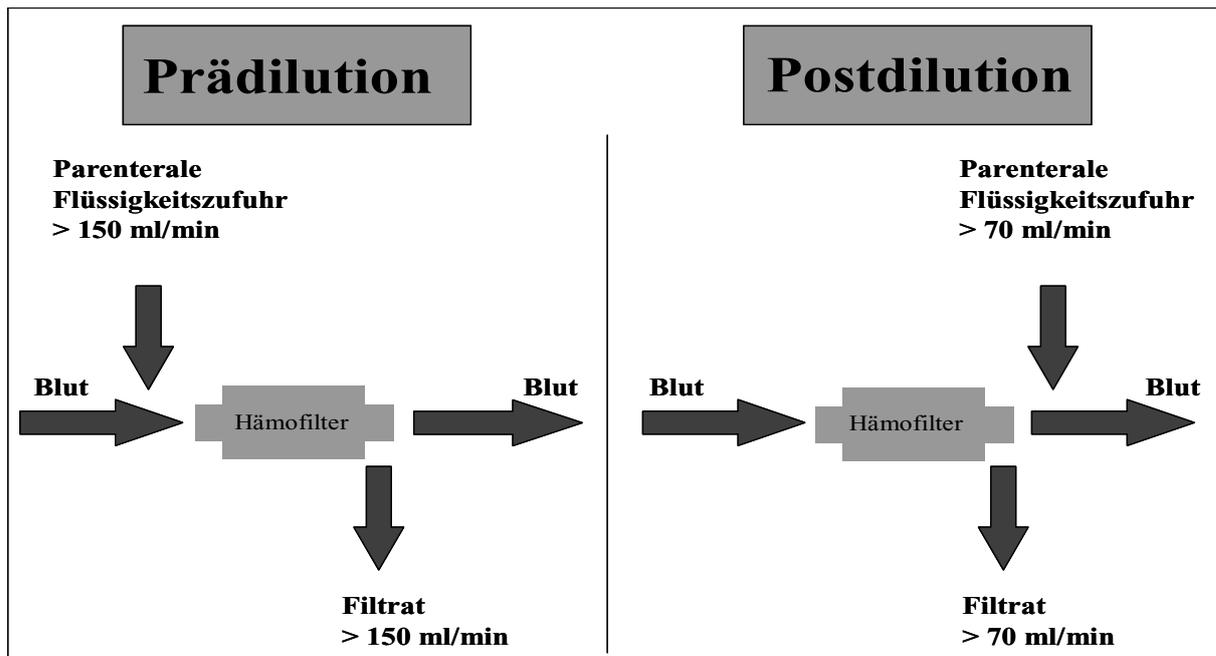


Abb. 2: Prädilution contra Postdilution (Bachmann, 2004)

2.4.2 Volumengabe im Rahmen der Intensivmedizin

Die Flüssigkeitssubstitution, welche in der Intensivmedizin zum Volumenausgleich verwendet wird, muss isovolumentrisch und sollte isoton zum Blut des Patienten sein. Der kolloidosmotische Druck sollte während des Austausches möglichst konstant gehalten werden.

Zu den Eigenschaften eines idealen Plasmaersatzmittels zählen (Boldt und Suttner, 2005):

- Blutisotonie (dem osmotischen Druck des Blutes entsprechend)
- geringe Viskosität
- lange intravasale Verweildauer
- Halbwertszeit sollte sechs bis zwölf Stunden betragen
- metabolisierbar bzw. harnfähig
- pharmakologisch inert, weder antigen, allergen oder pyrogen
- keine Beeinträchtigung der Hämostase oder der Koagulation
- kein Limit für das zu infundierende Volumen
- temperaturunempfindlich
- gut lagerbar
- kosteneffizient

Es stehen je nach Grunderkrankung verschiedene Volumenersatzmittel zur Verfügung. Kristalloide Lösungen, wie Kochsalzlösung, Ringer-Laktat oder Vollelektrolytlösung, enthalten keine Makromoleküle und werden aus diesem Grund nicht onkotisch in den Blutgefäßen fixiert. Daher verteilen sie sich innerhalb weniger Minuten gleichmäßig auf den Intravasalraum und das Interstitium. Da das Plasmavolumen zum Volumen des Interstitiums in einem Verhältnis von 1:4 steht, bedarf es der vierfachen Menge an Kristalloiden, um einen den Kolloiden analogen Volumeneffekt zu erzielen (Adams *et al.*, 1998; Boldt und Suttner, 2005).

Zu den kolloiden Plasmaersatzmitteln gehören die Lösungen, die den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Plasmaproteinlösung weitgehend entsprechen und vom Organismus sowohl verstoffwechselt wie auch ausgeschieden werden können. Die Kolloide

verweilen für mehrere Stunden im Gefäßsystem. Aufgrund ihres hohen Molekulargewichtes und des damit verbundenen Gibbs-Donan-Effekts (Klinke und Silbernagel, 2001) bauen sie einen kolloidosmotischen Druck auf, der durch Bindung von Wasser in der Zirkulation zu einer Stabilisierung der Makro- und Mikrozirkulation beiträgt.

Der Einsatz von Plasmaersatzmitteln bringt jedoch auch folgende negative Aspekte mit sich:

- Coating-Effekt: Kolloide können sich an die Oberfläche von Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren binden und damit die Reaktion des Gerinnungssystems hemmen
- Bei einer Azidose wird der Verlust der körpereigenen Bikarbonatreserven durch die Infusion mit Kolloiden nicht ersetzt, so dass die Kapazität dieses Puffers weiterhin eingeschränkt ist. Der optimale pH-Wert für die Gerinnungsabläufe ist damit nicht gewährleistet, so dass Veränderungen der Homöostase und der plasmatischen Gerinnung auftreten können. (El-Hilali, 2006). Es gibt sowohl körpereigene, physiologische wie auch synthetische Kolloide auf der Basis von Gelatine, Dextran und Hydroxyethylstärke. Zu den nicht synthetisch hergestellten Kolloiden zählt insbesondere Humanalbuminlösung mit einem 96 %igen Gehalt an Albumin (Boldt und Suttner, 2005).

2.4.3 Albumin

Humanalbumin wird bislang aus Blutspenden separiert, kann jedoch mittlerweile auch gentechnisch hergestellt werden. Humanalbuminlösungen bestehen zu etwa 95 % aus Albumin. Sie sind in den Konzentrationen von 5 % (isoonkotisch), 20 % und 25 % (hyperonkotisch) mit einem Molekulargewicht von ca. 66 kDa erhältlich (Adams *et al.*, 1993). Niedrigkonzentrierte Lösungen werden mittlerweile durch synthetische Kolloide ersetzt, da Humanalbumin sehr teuer ist (Boldt und Suttner, 2005). Die hochkonzentrierten Humanalbuminlösungen werden noch bei Patienten mit niedrigem Gesamteiweiß- oder Albumin-Plasmaspiegel bzw. niedrigem kolloidosmotischem Druck eingesetzt. Auch bei Patienten mit Leberversagen, Verbrennungen oder großen sezernierenden Wundflächen, die kontinuierlich Albumin verlieren und dieses nicht entsprechend ersetzen können, werden diese Lösungen angewendet (Adams *et al.*, 1993; Adams *et al.*, 1998). Humanalbumin-Elektrolytlösung enthält außer Proteinen und den Elektrolyten Natrium, Kalium, Kalzium, Magnesium und Chlorid keine weiteren Bestandteile (Immunglobuline und Gerinnungsfaktoren).

2.4.4 Gelatine-Präparationen

Gelatine ist ein Polypeptid. Es wird aus bovinem Kollagen und aufgrund der bovinen spongiformen Enzephalopathie-Krise (BSE-Krise) seit neuester Zeit auch aus Kollagen vom Schwein von Schlachthoftieren gewonnen (Boldt und Suttner, 2005). Das Molekulargewicht kann zwischen 5 und 50 kDa variieren. Meistens ist die Gelatinelösung niedermolekular und wird deshalb relativ rasch über die Nieren ausgeschieden. Aus diesem Grund und weil die Molekülgröße und die Konzentration (3-3,5 %) herstellungsbedingt begrenzt sind, ist auch der Volumeneffekt dieser Lösungen zeitlich auf ca. zwei Stunden und auf einen maximal isovolämischen Effekt begrenzt (Carl *et al.*, 2008).

Trotzdem werden Gelatinelösungen aufgrund ihrer weitgehend neutralen Effekte auf die Hämostase und ihrer fehlenden Nephrotoxizität angewendet. Vor allem bei Patienten mit angeborener Koagulopathie, mit drohender oder manifester Gerinnungsstörung oder Einschränkung der Nierenfunktion werden Gelatinelösungen verwendet, nachdem die Maximaldosis von HES ausgeschöpft ist (Adams *et al.*, 1998).

2.4.5 Hydroxyethylstärke

Hydroxyethylstärke ist ein Polysaccharid, das aus Kartoffel- oder Wachsmaisstärke hergestellt wird. Es besteht aus Amylopectin, dem Hydroxylreste an den Glucosegruppen eingefügt werden, um das Molekül vor einem raschen Abbau durch die α -Amylase des Plasmas zu schützen. Die Präparate werden nach ihrem mittleren Molekulargewicht (von 10 bis über 100 000 kDa), ihrer Konzentration, dem Substitutionsgrad (0,5; 0,62; 0,7) und dem Anteil und der Position der mit Glukose besetzten Hydroxylgruppe unterschieden (Carl *et al.*, 2008). HES-Moleküle mit einem Molekulargewicht <50 kDa werden renal relativ schnell eliminiert. Größere Moleküle werden zunächst in kleinere Moleküle hydrolysiert.

Die beiden in Deutschland am häufigsten eingesetzten HES-Lösungen, die auch in dieser Arbeit Verwendung fanden, sind 6 %iges HES 130/0,4 und 6 %iges HES 200/0,5. HES 130 weist dabei eine maximale Volumenwirkung von 120 %, eine Volumenwirkdauer von ca. vier Stunden und eine Halbwertszeit der Volumenwirkung von nahezu sieben Stunden auf. HES 200 weist eine maximale Volumenwirkung von 100 %, eine Volumenwirkung von vier Stunden und eine Halbwertszeit der Volumenwirkung von ca. acht Stunden auf (Carl *et al.*, 2008).

Der Einfluss der verschiedenen HES-Substitutionen auf das Gerinnungssystem ist ein aktuelles Forschungsthema. Von Störungen der plasmatischen und zellulären Gerinnung bei der Anwendung von HES-Lösungen in Klinikstudien wird berichtet, jedoch meist nur bei Präparaten mit einem mittleren bis hohen Molekulargewicht von über 200 kDa (Adams *et al.*, 1998; Boldt *et al.*, 2007; De Jonge und Levi, 2001; Pressmar, 2003; Rieckhoff, 2003; Treib *et al.*, 1997; Unger *et al.*, 2002). HES 130/0,4, welches bei unseren Versuchen verwendet wurde, ist ein neuer Kolloidtyp. Über dessen Auswirkung auf die Koagulation oder die Nierenfunktion ist noch relativ wenig bekannt (Boldt *et al.*, 2007; Carl *et al.*, 2008; Kobela *et al.*, 2005; Treib *et al.*, 1997; Wendel und Ziemer, 1999).

2.4.6 Isotone Kochsalzlösung

Im angelsächsischen Raum ist der Volumenersatz mit kristalloiden Lösungen immer noch weit verbreitet (Adams *et al.*, 1998). Dies ist wahrscheinlich auf die preiswerte Anwendung zurückzuführen und auf die Annahme geringer Nebenwirkungen, wie zum Beispiel des Einflusses auf die Koagulation (Prien *et al.*, 1990). Letzteres wird jedoch schon seit langem in zahlreichen Studien widerlegt (Monkhouse, 1959; Ng *et al.*, 2002; Ruttman *et al.*, 1996; Ruttman *et al.*, 2002; Schuerholz *et al.*, 2004; Tocantins *et al.*, 1951).

Da diese isotonischen Lösungen keine Makromoleküle enthalten, werden sie nicht onkotisch in den Blutgefäßen fixiert und verteilen sich gleichmäßig auf den Extrazellularraum. Dadurch werden weit größere Mengen an kristalloiden Lösungen als an kolloiden Lösungen benötigt, um denselben intravasalen Volumeneffekt zu erzielen. Die damit einhergehenden interstitiellen Ödeme sind der bedeutendste Nachteil der kristalloiden Lösungen zur Volumensubstitution (Prien *et al.*, 1990).

2.5 Antikoagulation

Eine ausreichende Antikoagulation, also eine Hemmung der Blutgerinnung, ist für eine extrakorporale Zirkulation unabdingbar, um das Risiko einer Thrombose, Lungenembolie oder eine Verstopfung der im extrakorporalen Kreislauf verwendeten Geräte durch Blutgerinnsel zu vermeiden. Jede Antikoagulation birgt jedoch das Risiko von Blutungskomplikationen (Schmaldienst *et al.*, 2000).

Man unterscheidet bei der Antikoagulation zwischen der systemischen Antikoagulation, bei der die Antikoagulantien dem Blutkreislauf des Patienten zugeführt werden, und der regionalen Antikoagulation, die ausschließlich im extrakorporalen Kreislauf stattfindet und

dadurch die Blutungsneigung im Patienten reduziert. Zur genauen Steuerung der Antikoagulation sollten während der Hämofiltration regelmäßig Gerinnungskontrollen durchgeführt werden.

Die am häufigsten eingesetzten Antikoagulantien sind unfraktioniertes Heparin und Citrat. Weitere Antikoagulantien sind Hirudin, Prostacyclin oder fraktioniertes Heparin mit unterschiedlichen Ansätzen zur Gerinnungshemmung und unterschiedlichen Nebenwirkungen (s. Tab. 2).

2.5.1 Unfraktioniertes Heparin

Heparin ist ein körpereigener Gerinnungshemmer, der von Zellen gebildet wird, die in der Leber, Lunge und in der Dünndarmschleimhaut vorkommen. Heparin wird nicht aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert und muss deshalb parenteral appliziert werden.

Die Wirkung von Heparin basiert darauf, dass es das im Blut zirkulierende Antithrombin III bindet, welches als körpereigenes Enzym aktivierte Gerinnungsfaktoren (Thrombin, Faktor Xa, Faktor IXa) hemmt (Lindhout, 1994). Der Komplex hemmt Thrombin, was zur Inaktivierung des Faktors Xa führt (Voß, 2007).

Die Dosierung richtet sich im Allgemeinen nach dem Ergebnis der ermittelten aktivierten Gerinnungszeit oder nach der partiellen Thromboplastinzeit (Lubin, 2001). Als Nebenwirkungen der Heparin-gabe kann es zu Blutungsneigungen (Palsson und Niles, 1999), hohen Plasma-Kaliumwerten, erhöhten Leberenzymen im Blut und zu Heparin-induzierten Thrombozytopenien (HIT) kommen. Den Rückgang der Thrombozytenzahl bezeichnet man als Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ I und eine lebensbedrohliche antikörpervermittelte Reaktion mit der Ausbildung venöser und arterieller Thromben als Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II (Warkentin und Barkin, 1999).

2.5.2 Regionale Antikoagulation mit Citrat

Citrat bildet mit dem im Blut enthaltenen Kalzium Chelatkomplexe und reduziert dadurch die Konzentration des ionisierten Kalziums im Blut. Da Kalzium ein Kofaktor für viele Gerinnungsfaktoren ist, wird dadurch die Gerinnung gehemmt (Voß, 2007). Citrat kann zur Verstärkung einer Azidose führen, muss genau dosiert werden und wird bei Leberfunktionsstörungen nicht immer ausreichend verstoffwechselt (Naka *et al.*, 2005). Diese Eigenschaften von Citrat können zu Komplikationen bei Intensivpatienten führen. Trotzdem wird es weiterhin klinisch angewandt und auf seine Eignung in der Klinik erprobt (Elhanan *et al.*, 2004; Naka *et al.*, 2005; Palsson und Niles, 1999). Der Vorteil der Antikoagulation mit Citrat ist, dass es sich dabei um eine lokale Gerinnungshemmung handelt. Die Antikoagulation findet also nur im extrakorporalen Kreislauf statt. Das Citrat würde auch systemisch wirken, der Effekt wird jedoch durch die Zugabe von Kalzium und folgender Komplexbildung deutlich reduziert. Um einer resultierenden Hypokalzämie vorzubeugen, sollte am Ende des extrakorporalen Kreislaufs Kalzium appliziert werden. Citrat wird in der Leber und in anderen Zellen des Körpers schnell zu Bikarbonat metabolisiert (s. Tab. 2). Solch eine Metabolisierung kann jedoch zu einer metabolischen Alkalose führen (Voß, 2007). Citrat ist vor allem für Patienten geeignet, die kein Heparin vertragen oder an einer Sepsis erkrankt sind.

Tab. 2: Eigenschaften und Kosten verschiedener Antikoagulantien (Voß, 2007)

Antikoagulation	Inhibition, Wirkung	HWZ	Elimination
Unfraktioniertes Heparin	Inhibition von Faktor Xa über AT III; Thrombozyten	1-1,5 Stunden	Leber, renal
Niedermolekulares Heparin	Inhibition von Faktor Xa über AT III	3-4 Stunden	50% renal
Hirudin	Inhibition des Thrombins	1-3 Stunden	Renal
Prostacyclin	Inhibition der Thrombozytenaggregation	< 3 Minuten	Leber, renal
Citrat	Komplexbildung mit Kalzium		In der Leber zu Bikarbonat metabolisiert

2.6 Biokompatibilität

Die Biokompatibilität ist definiert als das biologisch inerte Verhalten eines Fremdmaterials in einem extrakorporalen Kreislauf oder nach einer Implantation (Wetzels *et al.*, 1986). Dabei spielen die Wechselwirkungen zwischen Fremdoberfläche und Blut bzw. dessen Bestandteilen die wichtigste Rolle (Pineda, 1986). Die Klassifizierung eines Materials als „uneingeschränkt bioverträglich“ ist somit nur möglich, wenn dieses keinerlei Reaktionen auslöst, sog. „No-Definition“ (Bruck, 1973; Klinkmann *et al.*, 1984).

Tab. 3: "No-Definition" der Biokompatibilität (Bruck, 1973; Klinkmann *et al.*, 1984)

1.	Keine Thrombenbildung
2.	Keine Zerstörung von Blutzellen
3.	Keine Veränderung von Plasmaproteinen
4.	Keine Beeinflussung von Immunzellen
5.	Keine Inaktivierung oder Aktivierung von Enzymen
6.	Keine Beeinflussung der Elektrolyte
7.	Kein schädlicher Einfluss auf das umgebende Gewebe
8.	Keine karzinogenen, mutagenen, toxischen und allergischen Reaktionen

Besonders biokompatibel sind die derzeit überwiegend verwendeten synthetischen Membranen (s. Kap. 2.3.2). Trotz ihrer verbesserten Bioverträglichkeit werden bei Verwendung dieser Membranmaterialien bei Filtrationsprozessen in unterschiedlichem Maße das Komplementsystem, das Immunsystem und verschiedene Blutzellen aktiviert (Ansorge *et al.*, 1993; Baurmeister *et al.*, 1991; Vienken und Baurmeister, 1987). Des Weiteren können

die zur Membranbehandlung verwendeten oberflächenaktiven Substanzen wie z.B. Polyethylenglycolglycerin oder Polyvinylpyrrolidon, welche dazu dienen, die hydrophoben Membranen benetzbar zu machen, selbst toxisch wirken oder bei Kontakt mit Blut unerwünschte Reaktionen auslösen. Sie müssen vor dem klinischen Einsatz durch intensives Spülen weitgehend entfernt werden (Lysaght, 1988).

Neben dem Material und dessen Oberflächenbehandlung sind für die Biokompatibilität von Membranen die Oberflächenstruktur, die Porengröße sowie deren Beschaffenheit von Bedeutung (Clark *et al.*, 1999; Dorson, 1984).

Bei jedem Kontakt zwischen Blut und Fremdoberflächen kommt es zu Wechselwirkungen, die zur Bildung von Thromben führen können. Die Ursache sind Adsorptionsvorgänge, die durch Erniedrigung der Oberflächenspannung ausgelöst werden. Durch den Kontakt zwischen dem Blut und der künstlichen Oberfläche bildet sich durch Adsorption von Proteinen eine Proteinschicht aus, deren Beschaffenheit von verschiedenen Faktoren abhängt (Bambauer, 1997; Birk *et al.*, 1995; Robertson und Zydney, 1987).

Tab. 4: Faktoren, welche die Adsorption von Proteinen und Zellen an einer Fremdoberfläche beeinflussen, nach Bambauer (1997)

1.	Mechanische Beschaffenheit der Oberfläche
2.	Oberflächenspannung
3.	Grad der Hydrophilie / Hydrophobie der Oberfläche
4.	Elektrische Ladung der Oberfläche
5.	Strömungsbedingungen
6.	pH-Wert des Blutes
7.	Proteinzusammensetzung / Proteinkonzentration

Die Adsorption von Proteinen an Fremdoberflächen kann durch kovalente oder durch nichtkovalente Bindungen erfolgen. Aufgrund der niedrigeren Oberflächenenergie kommt es an glatten Oberflächen zu einer geringeren Adsorption (Wetzels *et al.*, 1986). An hydrophoben Oberflächen kommt es meist zu irreversiblen Adsorptionsvorgängen, wohingegen es an hydrophilen Oberflächen vor allem zu reversiblen Bindungen kommt (Forbes, 1981).

2.6.1 Aktivierung der Gerinnung durch Fremdoberflächen

Die Bindungen zwischen Proteinen und Oberflächen gehen mit einer Aktivierung der Zellen einher. Dies bedeutet, dass die verschiedenen Kaskadensysteme (Gerinnungs- und Komplementsystem, sowie Kinin- und Fibrinolyse-system) des Blutes durch den Kontakt mit den Fremdoberflächen aktiviert werden können. Im weiteren Verlauf kommt es zur Adhäsion und Aktivierung von Blutzellen mit Freisetzung von Mediatoren und thrombogenen Substanzen (Agostoni und Gardinali, 1989; Gardinali *et al.*, 1986; Haag-Weber *et al.*, 1989; Hong *et al.*, 1999; Jahns *et al.*, 1993; Renaux *et al.*, 1999).

Vor allem die Adhäsion von Thrombozyten, die ebenfalls an hydrophoben Oberflächen ausgeprägter ist als an hydrophilen Oberflächen, ist für eine Thrombenbildung entscheidend. Sie wird durch den Kohlehydratanteil adsorbierter Proteine, aber auch durch die Anwesenheit von Fettsäuren und geladenen Gruppen verstärkt und ist vermehrt an rauen Oberflächen zu beobachten (Hunt *et al.*, 1997; Lee, J.H. und Lee, 1998; Packham, 1988; Vizcaino-Salazar, 1994; Zingg *et al.*, 1982). Zusätzlich wird die Thrombozytenadhäsion durch Luft- oder

Gasbläschen begünstigt, welche wiederum vor allem an rauen Oberflächen auftreten (Thorsen *et al.*, 1993; Zingg *et al.*, 1981). Nach der Adhäsion der Thrombozyten an die Fremdoberfläche folgt deren Aktivierung und im weiteren Verlauf die Aggregation. Im Gegensatz zur Thrombozytenadhäsion ist die Aktivierung des intrinsischen Gerinnungssystems an hydrophoben Oberflächen eher gering (Groth *et al.*, 1997; Hunt *et al.*, 1997). Außer den Thrombozyten findet jedoch auch eine Adhäsion von anderen Blutzellen an Fremdoberflächen statt. Wie bei den Thrombozyten wird auch diese Adhäsion durch Interaktionen mit den initial adsorbierten Proteinen verstärkt (Cheung *et al.*, 1991). Unter den Leukozyten zeigen Monozyten sowie neutrophile und eosinophile Granulozyten die höchste Adhäsionsneigung (Schaefer *et al.*, 1987). Durch die Adhäsion kommt es bei den Leukozyten ebenfalls zu deren Aktivierung, wodurch die Zellen degranulieren. Die dabei freigesetzten Mediatoren können wiederum das Gerinnungs- oder Komplementsystem aktivieren oder die Freisetzung weiterer Mediatoren stimulieren (Falkenhagen *et al.*, 1989; Haag-Weber *et al.*, 1989; Sundaram *et al.*, 1996). Je nach chemischer Beschaffenheit der Membran sind diese Reaktionen unterschiedlich stark ausgeprägt.

Erythrozyten können ebenfalls an Fremdoberflächen adhären. Dabei kann es durch Unebenheiten im Fremdmaterial zur Hämolyse kommen. Wird bei diesem Vorgang aus den Erythrozyten Adenosindiphosphat freigesetzt, fördert dies wiederum die Thrombozytenaggregation (Reimers *et al.*, 1984). Im Hinblick auf die Hämolysegefahr sind in besonderem Maße die Porengröße und –struktur von Bedeutung, da bei uneinheitlicher Porengröße und „scharfen“ Porenrändern die Hämolyse begünstigt wird (Ansorge *et al.*, 1993; Malchesky *et al.*, 1984). Zu hohe Scherkräfte innerhalb des Blutflusses können ebenfalls zur Dehnung mit darauf folgender Ruptur der Erythrozyten führen. Diese Scherkräfte herrschen zwischen den einzelnen Strömungsschichten des Blutes aufgrund des Impulsaustausches (Holger, 2008; Kameneva *et al.*, 2004).

Das Ausmaß der Adhäsion und Aktivierung von Proteinen und Blutzellen an Fremdoberflächen ist wesentlich für deren Biokompatibilität. Diese kann durch Veränderungen der physikalischen und chemischen Eigenschaften, z. B. der Art und Anzahl elektrischer Ladungen und dem Ausmaß der Hydrophilie oder –phobie, verändert werden (s. Tab. 4). Außerdem können Beschichtungen der Oberfläche, z. B. mit Heparin oder Antithrombin III, die Materialeigenschaften verbessern (Olsson *et al.*, 1977; Wendel und Ziemer, 1999).

Die Biokompatibilität eines Filters wird nicht ausschließlich durch die Oberflächeneigenschaften der Filtermembran, sondern auch durch eine Reihe weiterer Faktoren bestimmt. Dazu zählen die Strömungseigenschaften des Blutes oder die Verwendung zusätzlicher Materialien (Ansorge *et al.*, 1993; Baurmeister *et al.*, 1991; Vienken und Baurmeister, 1987). Um die Eigenschaften eines Filters zu optimieren, müssen alle diese Einflussgrößen in die Beurteilung der Filterleistung miteinbezogen werden.

2.6.2 Verlegung eines Hämofilters aufgrund der Bildung von Blutgerinnseln, einer Sekundärmembran oder Blutzellaggregaten

2.6.2.1 Clotting: Verlegung eines Hämofilters durch Blutgerinnsel

Von einem „Clotting“ des Filters spricht man, wenn der Hauptteil der Filterkapillaren durch Thromben, also durch Blutgerinnsel verlegt ist. In diesem Fall muss der Hämofilter bei der klinischen Anwendung sofort gewechselt werden.

Intrakapillare Thromben entstehen durch Einengung des Kapillarlumens mit nachfolgender Stase und Sedimentation von Zellen. Dadurch kommt es zur Aktivierung des Gerinnungssystems mit anschließender Ausbildung eines Pfropfes (s. Abb. 3), bestehend aus Fibrin, Thrombozyten, Leukozyten und Erythrozyten. Durch den Kontakt des Blutes mit

körperfremdem Material wird die humorale Gerinnung aktiviert. Über den Gerinnungsfaktor XII wird dabei die Gerinnungskaskade in Gang gesetzt. Das bedeutet auch, dass alle im Blut gelösten Stoffe, die für die Gerinnung eine Bedeutung haben, daran beteiligt sind. Auch durch die Aktivierung der Thrombozyten mittels körperfremder Materialien kann ein Thrombus entstehen. Im Organismus wird dieser Vorgang auch durch Kontakt mit Kollagen der extrazellulären Matrix, z. B. bei geschädigten Blutgefäßen, induziert. Die Adhäsion von Thrombozyten kann durch eine Beschichtung des Systems mit Heparin verringert werden (Olsson *et al.*, 1977). Eine Thrombozytenaktivierung wird dadurch jedoch nicht verhindert. Der Vorgang des Clottings bewirkt, dass es bei ablaufender Gerinnung mit einhergehender Bildung von Thromben zu einem Verlust von Thrombozyten, Leukozyten und wenigen Erythrozyten kommt. In einem extrakorporalen Kreislauf geschieht dies im Bereich des Filters und der arteriellen und venösen Luftblasenfallen (Holt *et al.*, 1996). Handelt es sich bei dem extrakorporalen Kreislauf um ein in-vivo-Modell, so gelangen durch Clottungsvorgänge aktivierte Substanzen wie zum Beispiel Gerinnungsfaktoren zurück ins Plasmawasser und damit auch zurück in den Organismus.

2.6.2.2 Membranfouling: Bildung einer Sekundärmembran

Bei fortwährender Entfernung von Filtrat aus einem Hämofiltrationskreislauf steigt die Zellkonzentration und damit der Hämatokrit im Blut an. Die damit einhergehende erhöhte Viskosität des Blutes hat einen negativen Einfluss auf dessen Fließeigenschaft (Holger, 2008). Durch den verlangsamten Blutfluss kommt es zunehmend zu einer Proteinadsorption (Albumin, Fibrinogen, Gerinnungsfaktoren, Globuline etc.) an den Kapillarwänden (Baumgartner-Parzer *et al.*, 1995; Brash und Ten Hove, 1993; Huang *et al.*, 1999; Parzer *et al.*, 1993). Im weiteren Verlauf werden auch Leukozyten, Thrombozyten und Erythrozyten in diesen Proteinfilm miteinbezogen (s. Abb. 3). Das Gerinnungssystem wird dabei nicht zwangsweise aktiviert. Bei gleich bleibenden hydrostatischen Druckverhältnissen über die Membran verlangsamt sich der Filtratfluss durch die zunehmende Membrandicke, der Filtratdruck P_f und damit der Nettofiltratfluss werden geringer. Gleichzeitig wird der Innendurchmesser der Kapillare durch die wachsende Sekundärmembran verkleinert, wodurch Erythrozytenaggregate schneller zu einem Verschluss der Kapillare führen können. Kommt es tatsächlich zum Verschluss einer Kapillare, steigt der Filtratdruck P_f an, wodurch es auch zu einem Anstieg des transmembranären Drucks (TMP) kommt. Sobald sich in weiteren Kapillaren Sekundärmembranen bilden, beginnt der Filtratdruck wieder zu sinken. Bei zunehmender Anzahl verstopfter Kapillaren steigt der transmembranäre Druck (TMP) jedoch an, was zu einer Verschlechterung der gesamten Filterleistung führt.

Da in den Prozess des Membranfouling vor allem Leukozyten und Thrombozyten einbezogen sind, kommt es zu einer veränderten Blutzusammensetzung mit einem relativen Anstieg der Erythrozyten.

2.6.2.3 Clogging: Verlegung eines Hämofilters durch Blutzellaggregate

„Clogging“ ist ein weniger bekannter Begriff im Kontext mit Filterstandzeiten und Kapillarverlegung. Als Clogging eines Filters bezeichnet man den Zustand, bei dem eine zunehmende Anzahl an Filterkapillaren durch Blutzellaggregate verlegt ist. Vor allem Erythrozytenaggregate spielen bei der Verlegung von Hämofiltern eine Rolle. Es können jedoch auch weitere Blutbestandteile beteiligt sein (Unger *et al.*, 2001a). Bedingt durch niedrige Flussraten kombiniert mit großen Filterdimensionen, wie es in der klinischen Anwendung der kontinuierlichen venovenösen Hämofiltration oft der Fall ist, kommt es zu einer Stase des Blutflusses (s. Abb. 3). Bedingt durch diesen Stillstand sedimentieren die Blutzellen in der Kapillare und es bildet sich ein Zellaggregat. Zusätzlich fördernd zur Aggregatbildung wirkt eine erhöhte Konzentration hochmolekularer Plasmaproteine. Die

Wirkung dieser Plasmaproteine beruht darauf, „Brücken“ zwischen benachbarten Erythrozyten auszubilden. Ein Abfall der Albuminkonzentration begünstigt diese Wirkung der Plasmaproteine, eine physiologische Albuminkonzentration verhindert jedoch die Bildung eines Erythrozytenaggregats, was wahrscheinlich auf einem kompetitiven Effekt von Albumin zu Fibrinogen und Globulin an der Erythrozytenmembran begründet ist (Lacombe *et al.*, 1988; Unger *et al.*, 2001a). Neben dem Einfluss der bluteigenen Proteine, wie Albumin, soll auch Heparin zu einer verminderten Ausbildung von Erythrozytenaggregaten führen. Dies wurde gezeigt, indem die Innenoberflächen von extrakorporalen Kreisläufen mit Heparin beschichtet wurden (Belboul *et al.*, 2000).

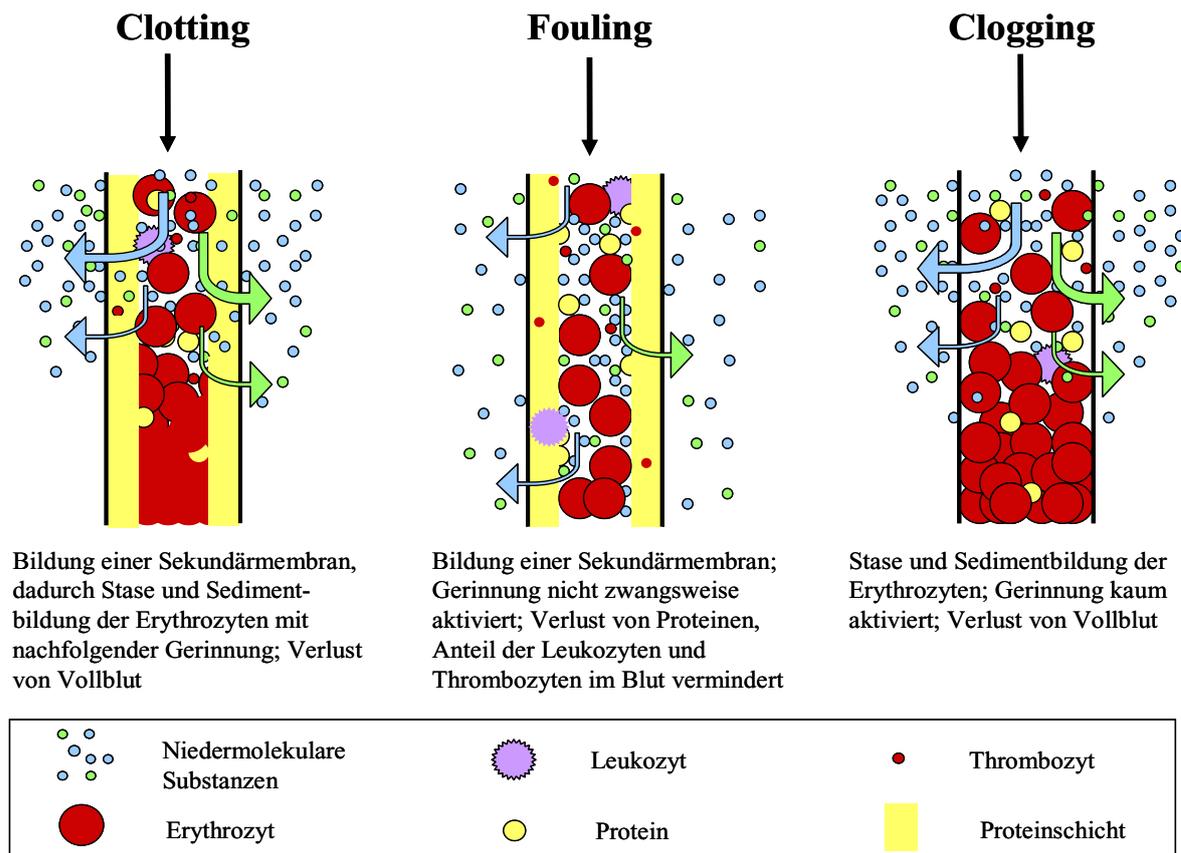


Abb. 3: Verlegung einer Filterkapillare durch Clotting, Fouling oder Clogging

2.6.2.4 Auswirkungen der Verlegung eines Filters auf die Druckverhältnisse und die Blutzusammensetzung

Beim Clotting fließt das Blut bei steigender Anzahl verlegter Kapillaren immer weniger nach. Dadurch verändern sich hauptsächlich der arterielle Druck P_a , der transmembranäre Druck (TMP) und der Filtratdruck P_f im System. Eine Veränderung des Siebkoeffizienten zeigt sich erst, wenn es durch das Clotting bedingt zu einem Verschluss vieler Filterkapillaren und in Folge dessen zu ungünstigen Strömungsbedingungen in den freien Kapillaren gekommen ist. Beim Verschluss einer Kapillare kommt der Filtratfluss P_f immer mehr zum Erliegen, da strömungsbedingt kein Blut mehr nachfließen kann. Der Siebkoeffizient bleibt dabei zunächst unverändert, da die restlichen Kapillaren weiter durchströmt werden. Da eine Clotbildung mit einem Gerinnungsvorgang einhergeht, vermindert dies auch den Protein-, Thrombozyten- und in geringem Maß auch den Erythrozytenanteil im Blut.

Beim Membranfouling kommt es durch die eingeschränkte Filtration zu einem Abfall des Siebkoeffizienten, also auch zu einem verringerten Filtratdruck P_f , der einen Parameter für den Nettofiltratfluss darstellt. Dadurch steigt der transmembranäre Druck (TMP) an, während der arterielle Druck P_a bis zu einer gewissen Grenze stabil bleiben kann. Da die Sekundärmembran hauptsächlich aus Proteinen besteht, steigt der Erythrozytenanteil des Blutes im geschlossenen in-vitro-System relativ an.

Beim Verstopfen der Filterkapillaren durch Erythrozytenaggregate (Clogging) verändern sich die Druckverhältnisse ähnlich wie beim Clotting. Der Siebkoeffizient bleibt zunächst ebenfalls unverändert. Weitere Studien der eigenen Arbeitsgruppe im in-vitro-Versuch zeigen, dass Membranclogging ein nicht zu vernachlässigender Faktor reduzierter Hämokompatibilität, Filterverstopfung und Clearanceleistung ist (Eger *et al.*, 2005; Kobela *et al.*, 2005; Unger *et al.*, 2005b). Da es sich beim Clogging um einen Verlust von Vollblut handelt, ändert dieser Vorgang nichts an der Blutzusammensetzung im extrakorporalen Kreislauf.

2.7 Grundlagen für das Inverkehrbringen von Medizinprodukten

In der Verordnung über Medizinprodukte (Medizinprodukte-Verordnung MPV) in Abschnitt 1 §2 ist festgelegt, dass „zur Bewertung der biologischen Verträglichkeit von Medizinprodukten biologische Sicherheitsprüfungen mit Tierversuchen durchzuführen sind“. Ebenso ist nach § 19 Absatz 1 des Medizinproduktegesetzes des Bundesministeriums der Justiz die „klinische Bewertung eines Medizinproduktes Pflicht, um dessen Eignung für den vorgesehenen Verwendungszweck zu belegen, soweit nicht in begründeten Ausnahmefällen andere Daten ausreichend sind“. Dabei wird bei einer Beurteilung der klinischen Bewertung auf der Basis von Literaturdaten darauf geachtet, ob die im MEDDEV-Dokument 2.7.1 „Evaluation of Clinical Data: A Guide for Manufacturers and Notified Bodies“ (European Commission, 2003) aufgeführten Kriterien erfüllt sind. Zu diesen Kriterien zählt auch, dass zu den klinischen Daten Resultate wissenschaftlicher Studien zählen, deren Äquivalenz zum untersuchten Material nachgewiesen werden kann. Genauer definiert wird diese Äquivalenz, indem festgelegt wurde, dass das zu untersuchende Material innerhalb derselben Population (inklusive Anatomie, Physiologie und Alter) unter denselben klinischen Konditionen erprobt werden muss, unter denen es in Gebrauch genommen werden soll. Im Fall der Hämofiltration würde dies bedeuten, dass jede Membran unter exakt denselben klinischen Bedingungen wie beim späteren klinischen Gebrauch getestet werden müsste. Jeder Hersteller muss also für sein Medizinprodukt ein Konformitätsbewertungsverfahren durchführen lassen, um sein Produkt mit der so genannten CE-Kennzeichnung ausstatten zu dürfen, welche für die Vermarktung unabdingbar ist.

2.8 In-vitro-Forschung zur Biokompatibilität

In-vitro-Modelle sind Experimente, die außerhalb eines lebenden Organismus stattfinden. Es handelt sich dabei um Experimente, die in einer kontrollierten künstlichen Umgebung durchgeführt werden. Das Ziel eines in-vitro-Versuchs ist es nicht, die Physiologie zu duplizieren, sondern simple Methoden für eine Vorhersage zu bieten, wie ein Material beim Kontakt mit einem Organismus reagiert (Proctor *et al.*, 2003). Hierbei wird das Verhalten des in-vitro-Modells mit Materialien verglichen, die sowohl im Modell getestet als auch bereits in-vivo etabliert sind.

In-vitro-Versuche stehen aufgrund ihres überschaubaren Versuchsaufbaus für eine hohe Reproduzierbarkeit, günstige Kosten und einen geringen Personalaufwand. Je geringer die Komplexität eines Versuchsaufbaus ist, desto spezifischer ist die Aussagekraft des Versuchs, wodurch die ätiologischen Verknüpfungen und Veränderungen einzelner Parameter oder Strukturen deutlicher werden. Eine Versuchsreihe mit steigender Komplexität im

Versuchsaufbau kann daher die Aussagekraft von in-vitro-Untersuchungen maximieren und ermöglicht im Vergleich zu in-vivo-Ergebnissen spezifischere Ergebnisse, da Einflüsse durch das Modell leichter standardisiert oder aber entfernt werden können. So können für die erste Evaluation zur Hämokompatibilität, wie z.B. zur Hämolyserate einer Pumpe, in-vitro-Ergebnisse wertvolle Hinweise liefern, welche sich mit hoher Wahrscheinlichkeit in-vivo wieder finden lassen. Auch auf molekularer Ebene eignen sich in-vitro-Studien zum Beispiel für die Aufklärung immunologischer Reaktionskaskaden (Schmidt, 1994). Da es sich bei der Biokompatibilitätsforschung jedoch nicht um Grundlagenforschung handelt, sondern darum, das inerte Verhalten eines Materials in einem Organismus zu überprüfen, können durch in-vitro-Methoden potentielle Komplikationen in einer Kliniksituation ansatzweise aufgezeigt werden. In-vitro-Modelle eignen sich daher für ein „Screening“ von Materialien bezüglich ihrer Biokompatibilität und dienen als Vorauswahl für weitere in-vivo-Studien.

Zusätzlich zum Einfluss eines Materials auf die Biokompatibilitätssituation kommt in der Klinik der Einfluss verschiedener Therapiebausteine, wie zum Beispiel die mechanische Beatmung oder das Volumenmanagement hinzu.

Für die in-vitro-Biokompatibilitätsforschung während der Hämofiltration existiert eine Vielzahl von Modellen, deren Komponenten beliebig variiert werden können. Einige Beispiele verschieden aufgebauter in-vitro-Modelle sind im Anhang 9 in Tab. 20 zu sehen.

2.8.1 In-vitro-Hämofiltration

Bei der in-vitro-Hämofiltration wird mit Hilfe einer Pumpe Blut aus einem Reservoir über einen „arteriellen“ Schenkel durch eine semipermeable Membran geleitet. Mit Hilfe der entstehenden Differenz des hydrostatischen Drucks zwischen Blut- und Filtratseite wird ein Filtrat abgepresst. Im Blut gelöste, nieder- und mittelmolekulare Substanzen können die Membran nach dem Gesetz der Konvektion (5) mit dem Wasser passieren und werden somit aus dem Blut gefiltert. Höhermolekulare Substanzen, wie Proteine können die Membran nicht passieren und verbleiben im Kreislauf.

$$M_c = Q_f \cdot S \cdot C_p \quad (5)$$

Hierbei ist M_c der Massentransport, Q_f die Filtratflussrate, S der Siebkoeffizient und C_p die Konzentration der gelösten Substanzen im Plasma.

Die bestimmende „Größe“ bei diesem Filtrationsvorgang sind die Porengröße, -form, Wandstärke und -ladung der Membran. Bis zu einer bestimmten Größe werden alle Partikel unabhängig von ihrer Molekülgröße annähernd gleich gut eliminiert (Cut-off der Membran) und die Substanz kommt in gleicher Konzentration im Blut und im Filtrat vor. Nähert sich jedoch die Größe der Partikel der Porengröße der Membran an, sinkt der Siebkoeffizient und der transmembranäre Transport dieser Substanz nimmt ab.

Es gibt zwei verschiedene Modelltypen: das „single way“ Modell (s. Kap. 2.8.2.2) und das rezirkulierende Modell (s. Kap. 2.8.2.3). Beim „single way“ Modell wird das Blut nach der Passage des Filters verworfen. Beim rezirkulierenden Modell werden dem Blut direkt im Reservoir Testsubstanzen oder Infusionen hinzu gegeben und das Blut wie auch das Filtrat werden in den Kreislauf zurückgeführt.

Um eine möglichst kliniknahe Situation nachzustellen, wird das zu filternde Substrat meist in einem PVC-Beutel in einem Wasserbad auf Körpertemperatur erwärmt. Bei dem Substrat kann es sich je nach Studie um Blut oder Blutbestandteile handeln. Bei der Hämofiltration muss das Blut mit geeigneten Antikoagulantien (s. Kap. 2.5) versetzt werden. Gleichzeitig wird während des Versuchsdurchlaufs das Blut im Reservoir in Bewegung gehalten, um einer Sedimentation der Blutzellen vorzubeugen. Um eine Gerinnung zu verhindern, die durch einen Blut-Luft-Kontakt hervorgerufen werden kann, werden die Systeme vor der ersten

Befüllung mit Blut meistens mit einer mit Antikoagulanzen versetzten Substitutionslösung durchspült. Durch diese Oberflächenbeschichtung kann die Thrombogenizität gesenkt werden. Die dafür eingeführte Methode der industriell durchgeführten kovalenten Heparinbindung führt zu einer offenbar idealen Anordnung der sogenannten Spacermoleküle (Cetylaminhydrochlorid), so dass auch ohne systemische Heparinisierung des Blutes eine Bildung von Thromben auf den heparinisierten Oberflächen verhindert wird (Falkenhagen *et al.*, 1986).

Bei den Pumpen handelt es sich entweder um Rollerpumpen, Rotationspumpen oder pneumatisch betriebene Membranpumpen. Die Rollerpumpen führen durch peristaltische Bewegungen die Flüssigkeit tangential in einem starren Gehäuse durch den Förderschlauch. Mit Drehzahlen bis zu 250 U/min können sie eine Flussrate von bis zu 10 l/min erreichen. Die Pumpen können einfach oder als Doppelpumpen aufgebaut sein oder auch intermittierend arbeiten, wodurch eine pulsierende Strömung erzeugt wird. Um der mechanischen Blutschädigung entgegenzuwirken, wurden teilokkludierende Rollerumpen entwickelt, die den Förderschlauch während des Verdrängungsmechanismus nicht vollständig komprimieren und so einer Schädigung des Blutes durch Quetschung entgegenwirken. Der Nachteil dieser teilokkludierenden Pumpen ist die schädigende Wirkung auf Blutzellen durch das Auftreten von Scherkräften im Rückstromgebiet. Bei den Rotations- bzw. Kreiselpumpen strömt das Blut axial zu und tangential ab, wodurch sie bei Drehzahlen bis 4500 U/min ein Volumen bis zu 10 l/min fördern können. Auch diese Pumpen können stationär oder pulsierend betrieben werden. Als dritte Möglichkeit können Membranpumpen verwendet werden, welche pneumatisch betrieben werden. Diese enthalten in einem Gehäuse Verdrängungsmembranen und Textil-Anschlussstutzen, in denen Klappenprothesen eingehängt werden (Vogel, 2002).

Bei in-vitro-Filtrationsmodellen können Gerinnungsparameter (aPTT, Quickwert, ATIII, TAT, Fibrinogenkonzentration, D-Dimere, Heparinverbrauch), Blutzellkompatibilität (Hämatokrit, freies Hämoglobin, Thrombozyten, Leukozyten), Filterleistungen (transmembranärer Druck, Filtratdruck) und -eigenschaften (Siebkoeffizient, Filtrationsrate, Clotting oder Clogging) und Pumpenleistung (Flussrate) ermittelt werden.

Tab. 5: Modellkomponenten eines in-vitro-Modells

Modellkomponente	Möglichkeiten
Blut	<ul style="list-style-type: none"> • Vollblut verschiedener Organismen • Blutbestandteile (z.B. Plasma) • Blutzellfraktion
Reservoir	<ul style="list-style-type: none"> • Beutel • Kammer: evtl. Luftkontakt
Schlauchmaterialien	<ul style="list-style-type: none"> • Einmalige Nutzung • Wiederverwendung • Polyvinylchlorid, Silikon
Rezirkulation/ Fluss	<ul style="list-style-type: none"> • Pumpengetrieben • Passiv, von der Schwerkraft getrieben • Statisch mittels Inkubation
pH	<ul style="list-style-type: none"> • Einstellung physiologischer Größen • Einstellung pathologischer Größen
Temperatur	<ul style="list-style-type: none"> • Einstellung physiologischer Größen
Antikoagulation	<ul style="list-style-type: none"> • Systemische Antikoagulation • Regionale Antikoagulation • Kovalent beschichtete Membranen

2.8.2 Organisationsstufen von in-vitro-Hämofiltrationsmodellen zur Biokompatibilitätsforschung

2.8.2.1 Inkubationsmodell

Beim Inkubationsmodell wird das zu untersuchende Material mit Serum, Plasma oder Vollblut unter statischen, drehenden oder schüttelnden Bewegungen umspült. Die Funktion des Materials als Filter wird dabei nicht berücksichtigt, das alleinige Augenmerk liegt bei diesem Modell auf den Aktivierungsprozessen, die durch den Kontakt des körperfremden Materials mit dem Blut ausgelöst werden. Durch den großen Blut-Luft-Kontakt kann es zu einer gesteigerten Aktivierung des Gerinnungssystems kommen, weshalb Antikoagulantien eingesetzt werden müssen. Der Vorteil dieses Systems ist das geringe Blutvolumen, welches pro Versuch benötigt wird. Dadurch lässt sich eine Vielzahl von Versuchsansätzen mit dem Spenderblut einzelner Probanden durchführen (Laufenburg, 2002; Schmidt, 1994).

2.8.2.2 Nicht zirkulierendes Flusssystem

Bei diesem System wird mit Hilfe einer Pumpe das Blut durch das zu testende Material geleitet, wodurch die Funktion des Materials als Filter zum Tragen kommt. Mit diesem Versuchsaufbau können mehrere Testeinheiten mit der gleichen oder einer anderen zu testenden Membran zeitgleich parallel untersucht werden. Das Modell kann auf zwei verschiedene Weisen eingesetzt werden. Wird es als „offline“-Modell eingesetzt, so wird das Spenderblut in einem ersten Schritt gesammelt, bevor es mit Hilfe der Pumpe durch die Membran geleitet wird. Beim so genannten „online“-Modell wird dagegen das Blut direkt vom Spender in die Blutpumpe geleitet und passiert ohne zeitliche Verzögerung einmalig die Membran. Durch diesen begrenzten Kontakt zwischen dem Blut und dem körperfremden Material kann die Dosis antikoagulatorischer Substanzen sehr niedrig gehalten werden. Die Vorteile dieses Systems liegen in dem einfachen Versuchsaufbau und in der guten Reproduzierbarkeit der Untersuchungen (Laufenburg, 2002; Schmidt, 1994).

2.8.2.3 Rezirkulierendes Flusssystem

Mit Hilfe einer Rollerpumpe wird bei diesem System von einem Reservoir aus das Blut, Plasma oder Serum kontinuierlich über einen sogenannten arteriellen Schenkel durch eine semipermeable Membran geleitet. Vor dem Filter passiert das Blut eine Luftblasenfalle um einer Luftembolie in der Kapillare vorzubeugen. Über den sogenannten venösen Schenkel fließt das Blut nach dem Filter durch eine Clotfalle, bevor es wieder zurück zum Reservoirbeutel geleitet wird. Das Filtrat wird über eine Schlauchleitung direkt vom hinteren Ende des Filters abgeleitet und hat über eine Ypsilon-Verbindung Anschluss an den „venösen“ Schenkel des Systems. Mit diesem System können kumulative Prozesse durch Blut-Membran-Interaktionen untersucht werden, da das Blut wiederholt mit der Membran in Kontakt kommt. Auch zeitlich verzögerte Prozesse können dabei ermittelt werden. Die Antikoagulation kann durch Vermeidung zu großer Blut-Luft-Kontakte und zu langer zeitlicher Verzögerungen entsprechend niedrig gehalten werden. Die Blutgerinnung sollte jedoch aufgrund der Versuchsdauer regelmäßig kontrolliert werden (Laufenburg, 2002; Schmidt, 1994).

2.8.3 Datenerhebung in einem in-vitro-Modell zur Biokompatibilitätsforschung

In einem in-vitro-Modell zur Hämofiltration können Daten zur Wechselwirkung zwischen Blut oder Blutbestandteil und den Materialien bestimmt werden (Hong *et al.*, 1999; Laufenburg, 2002; Schmidt, 1994). Dies wird durch eine Standardisierung des Versuchsaufbaus und –ablaufs sowie eine weitestgehende Standardisierung der Zelleigenschaften ermöglicht. Somit können alle Veränderungen im Blut, die während des Versuchs auftreten, gemessen werden. Dazu zählen beispielsweise veränderte Blutbestandteile oder Koagulationsparameter, also auch das Clotting (s. Kap 2.6.2.1) eines Filters (Unger *et al.*, 2005a). Des Weiteren können alle technischen Daten eines Filters, wie das Druckprofil, der Siebkoeffizient oder die Siebleistung, ermittelt werden. Die Flussrate und Filtrationsrate werden in den meisten Fällen vorgegeben, beeinflussen jedoch die anderen Parameter des Modells (Yang und Lin, 2000) und müssen somit ebenfalls angegeben werden.

2.9 In-vivo-Forschung zur Biokompatibilität

Unter in-vivo-Modellen versteht man Experimente, die am lebenden Organismus durchgeführt werden. Die Tests zur Erforschung der Biokompatibilität von Materialien sind mit hohen Kosten und hohem Personalaufwand verbunden. Gleichzeitig ist die Wiederholung aus tierschutzrechtlichen Gründen stark begrenzt. Alle in-vivo-Methoden unterliegen diesen grundlegenden experimentellen Limitationen, welche die Reproduzierbarkeit und die Aussagefähigkeit der Einzelexperimente wesentlich reduzieren. Die Reproduzierbarkeit der Expositionsbedingungen muss jedoch gegeben sein, da bereits minimale Veränderungen im experimentellen Versuchsaufbau zu Veränderungen der Ergebnisse führen können.

Viele in-vivo-Versuche sollen in der Medizin durch einen kliniknahen Versuchsaufbau die Situation am Patienten möglichst genau nachstellen. Prognosen aus niedrig organisierten in-vitro-Studien können am lebenden Tier in einer höheren, aber standardisierten Organisationsstufe überprüft werden.

Der Fokus der bisher durchgeführten Studien zu Nierenersatzverfahren lag meistens auf einzelnen Aspekten: dem Vergleich eines intermittierenden mit einem kontinuierlichen Behandlungszyklus, dem Vergleich von Dialyse mit auf Konvektion basierenden Methoden (Hirasawa *et al.*, 1991), den spezifischen Siebeigenschaften von Membranen (Lysaght, 1995; Mahiout, 2000; Pichaiwong *et al.*, 2006; Salmon *et al.*, 1997), der Entfernung bestimmter Mediatoren aus einem System (Churchwell *et al.*, 2007; Isla *et al.*, 2005; Lambrecht *et al.*, 1988) oder dem begleitenden Antikoagulationsregime (Elhanan *et al.*, 2004; Gunaydin, 2004; Janssen *et al.*, 1996; Langenecker *et al.*, 1994; Palsson und Niles, 1999; Schmaldienst *et al.*, 2000; Voß, 2007; Wu und Chen, 2002; Zusman *et al.*, 1981).

2.9.1 In-vivo-Hämofiltration, experimentell durchgeführt am Tiermodell

Bei der in-vivo-Hämofiltration wird mit Hilfe einer Pumpe (CVVH) oder unter Ausnutzung des arteriellen Blutdruckes des Patienten (CAVH) Blut über einen „arteriellen“ Schenkel durch eine semipermeable Membran geleitet und dadurch ein Filtrat abgepresst.

Nach der Passage durch den Hämofilter wird das Filtrat entweder über eine Luftblasenfalle zurück in den „venösen“ Schenkel des Systems geleitet (rezirkulierendes System), oder entsprechend einer klinischen Situation verworfen und durch eine geeignete Substitutionslösung (s. Kap. 2.4) ersetzt (offenes System). Das gefilterte Substrat wird im rezirkulierenden System über den „venösen“ Schenkel zurück zum Reservoir geführt (s. Abb. 4).

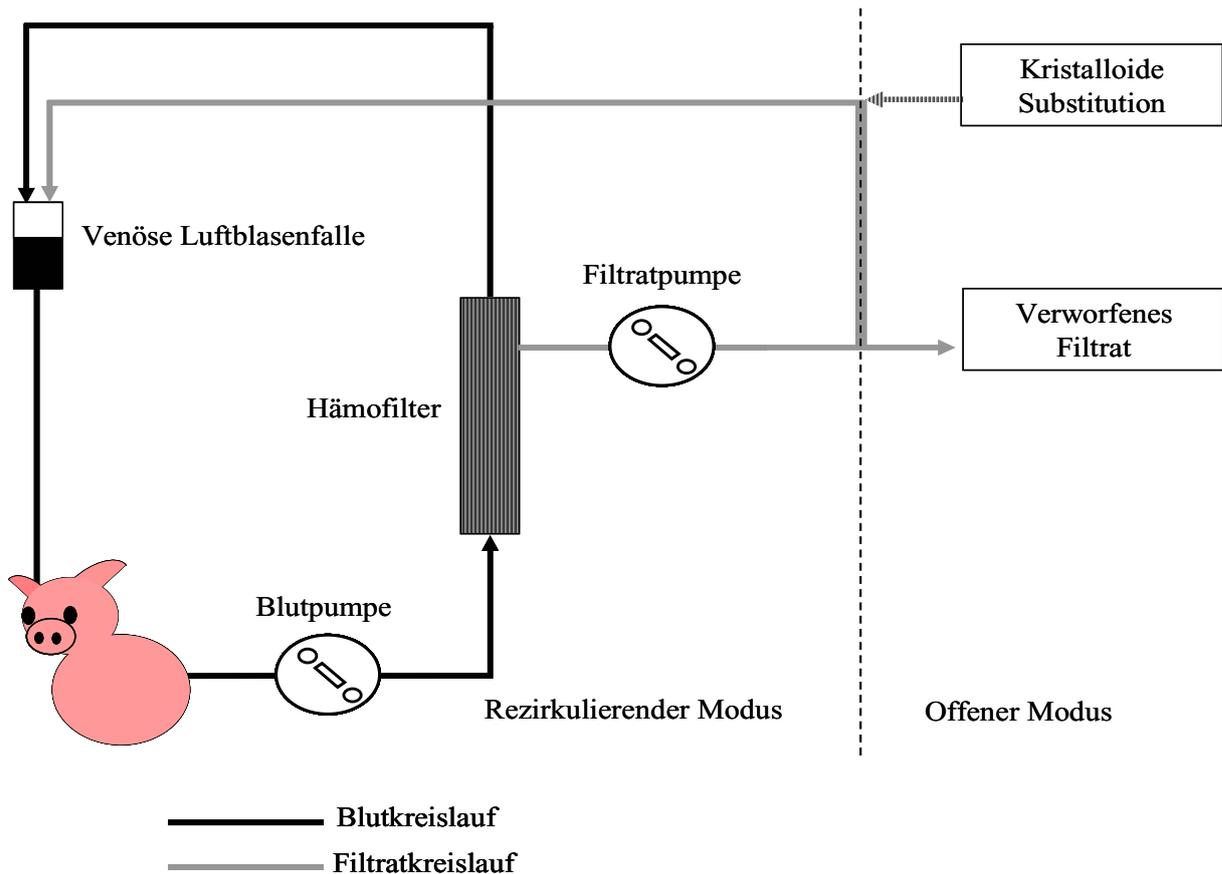


Abb. 4: Offener und rezirkulierender Hämofiltrationskreislauf

Zusätzlich müssen kontinuierlich Antikoagulantien verabreicht werden, um einem Verstopfen des Filters durch Blutgerinnsel und einer Thrombose des Patienten vorzubeugen.

Bei einem extrakorporalen Verfahren kommt es durch den Kontakt des Blutes mit fremden Oberflächen zur Aktivierung des Gerinnungssystems. Thrombozytenadhäsion, -aktivierung und -aggregation führen gemeinsam mit der Aktivierung der plasmatischen Gerinnung zur Thrombenbildung im extrakorporalen Kreislauf. Eine adäquat durchgeführte Antikoagulationstherapie kann diesen Ablauf reduzieren bis verhindern. Die Durchführung der Hämofiltration ohne Antikoagulation ist obsolet (Kozek-Langenecker *et al.*, 2002).

In einem in-vivo-Modell zur Hämofiltration können ebenso wie im in-vitro-Modell Daten zur Hämokompatibilität von Materialien sowie zur Filterleistung bestimmt werden. Bei einer CVVH werden Fluss- und Filtrationsraten durch die Pumpe vorgegeben. Zusätzlich zu diesen Parametern können alle Daten des Organismus bestimmt werden, auf welche die Hämofiltration und die Biokompatibilitätsreaktion eine Auswirkung haben können: Serumchemie, Nierenfunktion, Lungenfunktion, Hämodynamik, Organhistologie und viele mehr.

2.9.2 In-vivo-Hämofiltration, durchgeführt in einer Klinikstudie

Von den Klinikern wird vorausgesetzt, dass das zu verwendende Material für eine CVVH biokompatibel ist. Da man jedoch nur schwer Literatur zu klinischen Studien bezüglich der Biokompatibilität von Materialien für Nierenersatzverfahren findet, ist davon auszugehen, dass von Seiten der Kliniker den Ergebnissen aus in-vitro-Modellen beziehungsweise tierexperimentellen Studien hinsichtlich der klinischen Anwendbarkeit eine wissenschaftliche Akzeptanz entgegengebracht wird.

Lediglich Berichte zur Nierenersatzclearance, zur Mediatorenelimination oder zum Antikoagulationsregime an Dialysepatienten, die ohnehin einen erhöhten Mediatorenspiegel aufweisen, wurden veröffentlicht (Baumgartner-Parzer *et al.*, 1995; Churchwell *et al.*, 2007; Isla *et al.*, 2005; Kozek-Langenecker *et al.*, 2002; Liebe *et al.*, 2002; Ng *et al.*, 2002; Palsson und Niles, 1999; Wu und Chen, 2002).

2.10 Klinische Anwendung der Hämofiltration und Anforderungsprofil der Klinik

2.10.1 Indikationen zur Hämofiltration

Patienten, die einer CVVH bedürfen, leiden häufig nicht nur unter einem singulären Organausfall. Nierenersatzverfahren werden auch bei einer schweren Gesamtstörung des Organismus angewendet, die mit mehreren Vitalfunktionsstörungen einhergeht. Aus diesem Grund müssen für die Anwendung und die Beurteilung einer CVVH alle Folge- oder Begleitschäden der Therapie untersucht werden. Durch den Ausfall der exkretorischen Funktionen der Niere kommt es zur Entwicklung von Azotämie, renaler Azidose, Oligurie oder Anurie. Außerdem stellen eine hämodynamische oder respiratorische Instabilität des Patienten, eine hyperkatabole Situation oder eine lebensbedrohliche Ödembildung weitere Indikationen für kontinuierliche Therapieverfahren dar (Grootendorst und Van Bommel, 1993; Hirasawa *et al.*, 1991; Hirasawa *et al.*, 1996; Kierdorf und Seeliger, 1997; Kierdorf, 2000; Schaefer *et al.*, 2000; Van Bommel *et al.*, 1994). Zum Anforderungsprofil der Kliniker an eine Hämofiltration zählt, dass gesunde Organe davon möglichst unbeeinflusst bleiben.

2.10.2 Ansprüche an einen Hämofilter während einer klinischen Anwendung

Die Ansprüche an die Biokompatibilität eines Filters (s. Kap. 2.6) während eines klinischen Einsatzes orientieren sich an dem Zustand der Patienten. Dabei steht vor allem eine kreislaufschonende Behandlung des Patienten bei gleichzeitiger Verbesserung des Blutbildes und der Organfunktionen im Vordergrund. Dies kann durch geringe Druckverhältnisse im Filter und damit einhergehende schonende Filtration des Blutes erreicht werden. Eine schonende Filtration liegt bei einer niedrigen Hämolyserate, einer geringen Beeinträchtigung der Gerinnung und einem geringen Verstopfen des Filters vor. Dies ist verbunden mit langen Filterlaufzeiten. Die Standzeit des Filters sollte möglichst lang sein, um häufige Filterwechsel zu vermeiden. Die wiederholten Filterwechsel führen zu repetitiven klinisch relevanten Blutverlusten, erhöhen den Erstkontakt zwischen dem Blut und den Membranen und führen daher zu adversen Nebenwirkungen.

Da die Hämofiltration auf einem konvektiven Transportmechanismus basiert (s. Kap. 2.2) nimmt das anteilige Plasmavolumen im Filter immer mehr ab, was zu einer höheren Dichte der Zellen pro Volumen ebenso wie zu einer höheren Proteinkonzentration führt. Die intrinsische Aktivierung, welche durch die individuelle Blutzusammensetzung des Patienten beeinflusst wird, stellt damit einen wichtigen Faktor dar. Die pathophysiologische Zusammensetzung des Patientenblutes in einem extrakorporalen Entgiftungskreislauf trägt zusätzlich zu einer schlechten Fließeigenschaft des Blutes bei, wodurch es üblicherweise zu einer ansteigenden Zellagglomeration innerhalb des Filters kommt (Unger *et al.*, 2005b). Bedingt durch die pathophysiologische Zusammensetzung des Blutes ist es wünschenswert, dass die Hämofiltration keine weiteren Verschlechterungen auf das Blutbild wie auch auf das Immunsystem hat.

2.10.3 Ansprüche der Kliniker an sonstiges Material

Um eine verlässliche Prognose hinsichtlich des inertem Verhaltens von Materialien in der Klinik treffen zu können, sollte eine hohe Anforderung an die Biokompatibilität der Materialien gestellt werden (s. Kap. 2.6). Bei Materialien, die in einem extrakorporalen Kreislauf verwendet werden, spielen dabei die Wechselwirkungen zwischen Fremdoberflächen und dem Blut bzw. dessen Bestandteilen die Rolle der „Kontaktstelle“.

Es existieren viele Studien zur Biokompatibilität einzelner Materialien, vor allem zur Biokompatibilität von Membranen (Ansorge *et al.*, 1993; Baurmeister *et al.*, 1991; Bowry, 2002; Bruck, 1973; Cheung *et al.*, 1991; Clark *et al.*, 1999; Dorson, 1984; Falkenhagen *et al.*, 1989; Groth *et al.*, 1997). Nur äußerst selten werden jedoch die additiven Effekte aller Materialien eines extrakorporalen Kreislaufs auf die Biokompatibilität untersucht (Lucchi *et al.*, 2006). Dabei spielt genau dieser Aspekt, dass die Kombination aller Materialien im Gesamtaufbau eines Modells andere bzw. additive Effekte auf die Biokompatibilität hervorruft als die jeweiligen Einzelprodukte, eine wichtige Rolle für eine verlässliche Prognose hinsichtlich der klinischen Situation. So müsste vor der klinischen Anwendung einer CVVH zum Beispiel bedacht werden, dass das Blut den verschiedenen Materialien repetitiv exponiert wird, dass eine Rollerpumpe mechanische Hämolyse verursacht, oder dass die Strömungsdynamik in einem Filtermodul zwar als befriedigend getestet wurde, sich jedoch durch die Membranoberfläche Plasmasaumströmungen ergeben können, die nicht zu unterschätzende Einflüsse auf das Blut haben können (Unger *et al.*, 2002).

Da die Forschungsmöglichkeiten im intensivmedizinischen Bereich bisher kaum genutzt wurden oder genutzt werden konnten (s. Kap. 2.7), existieren sehr wenige Ergebnisse zum biokompatiblen Verhalten der gesamten Materialien einer CVVH.

2.10.4 Antikoagulation während der Hämofiltration

Ein negativer Aspekt der kontinuierlichen CVVH ist die ununterbrochene Zufuhr von Antikoagulantien (Kierdorf und Sieberth, 1995). Demzufolge wird ein möglichst geringer Bedarf an Antikoagulantien bei intakter, jedoch nicht übermäßig aktivierter Gerinnung angestrebt. Da in der Regel kein völlig inertes Verhalten der CVVH vorliegt, wird eher ein prokoagulatorisches als ein antikoagulatorisches Verhalten in Kauf genommen. Diese Abwägung basiert auf der Gefahr einer Gerinnungsstörung mit diffusen Blutungen beim multimorbiden Intensivpatienten. Ebenso wichtig wie ein niedriger Bedarf an Antikoagulantien ist dabei ein geringer Verlust der Gerinnungsfaktoren.

Die Forschung zur Optimierung der Filterlaufzeiten ist assoziiert mit der Forschung zu Antikoagulationsstrategien (Janssen *et al.*, 1996; Langenecker *et al.*, 1994; Palsson und Niles, 1999; Salmon *et al.*, 1997; Voß, 2007). Demzufolge wird davon ausgegangen, dass die Gerinnung das Hauptproblem für eine Filterblockade ist (Unger *et al.*, 2006b). Um in der Praxis möglichst selten einen Wechsel des Filters durchführen zu müssen, ist neben einer adäquaten Antikoagulation eine möglichst hohe Clearance erwünscht, um variabel mit der Clearancerate bleiben zu können und sie der gegebenen Situation anpassen zu können.

2.10.5 Flüssigkeitsmanagement während der Hämofiltration

Ein optimales Flüssigkeitsmanagement bei schwerkranken Patienten ist eine immer wiederkehrende Thematik in der Intensivmedizin. Bis heute mangelt es immer noch an eindeutigen Ergebnissen und Beweisen für die optimale Nutzung hinsichtlich einer bestimmten Infusionslösung (Alderson *et al.*, 2004; Boldt und Priebe, 2003; Bunn *et al.*, 2003; Egli *et al.*, 1997; Finfer *et al.*, 2004; Langeron *et al.*, 2001; Strauss *et al.*, 1985).

Sowohl klinische wie auch experimentelle Studien zum Volumenmanagement beziehen sich meist auf die Behandlung von SIRS, einer Sepsis oder von großen Blutverlusten (Adams *et*

al., 1998; Bellomo *et al.*, 2004; Boldt und Priebe, 2003; Gurland und Samtleben, 1983). Normalerweise beinhaltet und beschreibt der Versuchsaufbau klinischer Studien dabei nicht die Aspekte eines Nierenersatzverfahrens, beispielsweise zu welchem Zeitpunkt oder welcher Typ des Verfahrens gewählt wurde, außer wenn ein Ersatzverfahren benötigt wurde (Bachmann, 2004; Gurland und Samtleben, 1983; Kierdorf und Sieberth, 1995).

2.11 Beurteilung der Messergebnisse eines Modells zur Hämofiltration

2.11.1 Druckverhältnisse

Von einer optimalen Drucksituation spricht man, wenn trotz niedriger Drücke im Filter eine hohe Nettofiltratleistung erzielt wird. Niedrige Druckverhältnisse bewirken, dass es während der Hämofiltration zu einem geringen Verschleiß von Blutzellen (Yang und Lin, 2000), einer geringen Anzahl verstopfter Filterkapillaren (Unger, 2008) und wenig Membranfouling (s. Kap. 2.6.2) kommt. Dadurch bleibt eine optimale Filtration gewährleistet und die Filterlaufzeiten werden länger gehalten.

2.11.2 Gerinnung

Angestrebt sind stabile Gerinnungsfunktionen möglichst ohne Abweichung vom Normalwert mit Ausnahme der zur Antikoagulation eingesetzten Hämofiltration. In-vivo ist das wichtigste Ziel, für den Patienten eine optimale Gerinnungssituation zu schaffen. In Abhängigkeit von der Ausgangssituation gehört dazu ein inertes Gerinnungsverhalten und bei Patienten mit einer Blutungsneigung eine eher aktivierende als einschränkende Gerinnungsfunktion.

Wird die Gerinnung jedoch zu stark aktiviert, ist dies ebenso unerwünscht (Kozek-Langenecker, 2002). Bis zu welchem Maß die Gerinnung aktiviert werden soll, muss im Kontext mit dem Verbrauch der Blutzellen und der Biokompatibilität des Filters betrachtet werden (Bouman *et al.*, 2006).

2.11.3 Blutzellen

Im *in vitro* Modell kommt es durch die Probenentnahmen zu einer Aufkonzentration der Blutzellen. Kommt es während der Filtration zu einem Verlust von Blutzellen, so zeigt dies, dass die Zellen im Kreislauf verblieben sind, also an Clotting-, Fouling- oder Cloggingprozessen beteiligt sind. Dies ist nicht wünschenswert.

In vivo ist ein geringer bis kein Abfall der Erythrozytenzahlen im Verlauf der Filtration erstrebenswert (Stefanidis *et al.*, 1999). Da es während einer Filtration ohnehin zu einer Konzentration der Erythrozyten am Filter kommt, könnte jedoch ein zu großer Anstieg der Erythrozytenzahlen zur Verlegung der Kapillaren und Verminderung der Filtrationsleistung führen (s. Kap. 2.6.2.3). Ebenso werden niedrige Werte für freies Hämoglobin angestrebt, welche anzeigen, dass bei der Hämofiltration wenig Hämolyse aufgetreten ist (Reinhart *et al.*, 1984).

Auch die Thrombozytenwerte sollten *in vivo* stabil bleiben, da in diesem Fall davon ausgegangen werden kann, dass zum Messzeitpunkt keine Thrombozyten an und in der Membran des Filters adsorbiert sind oder durch eine Aktivierung des Gerinnungssystems aus Reservoirs freigesetzt wurden (Hong *et al.*, 1999). Im *in-vivo*-Modell, welches am Tier in der Regel unter Narkose durchgeführt wird, lässt sich ein durch die Narkose induzierter Leukozytenanstieg nicht vermeiden (Morisaki *et al.*, 1998). Trotzdem ist eine möglichst geringe Aktivierung des Immunsystems, also ein gleich bleibender Leukozytenwert, erwünscht (Gardinali *et al.*, 1986; Haag-Weber *et al.*, 1989). Allerdings ist bei vielen im Blut gemessenen Leukozyten nicht eindeutig geklärt, ob es zu einer gleichzeitigen Infiltration in das Blut und das Gewebe oder ob es zu einer Ausschwemmung von Lymphozyten aus dem

Gewebe in das Gefäßsystem kommt. Aus diesem Grund muss parallel zur Messung der Leukozyten immer die Gewebeeinfiltration mit gleichzeitiger Organfunktion betrachtet werden.

3 MATERIAL UND METHODE

Der retrospektive Vergleich von in-vitro- versus in-vivo-Daten zu einer identischen Fragestellung erfolgt auf der Basis der im Folgenden beschriebenen Modelle und Protokolle.

3.1 In-vitro-Modell

Diese Studie wurde im Institut für Anästhesie in der Rheinisch-Westfälisch Technischen Hochschule in Aachen unter der Leitung von Frau PD Juliane Unger durchgeführt. In einem rezirkulierenden in-vitro-Kreislauf floss heparinisiertes Schweineblut durch einen Hämofilter vom Typ HF 66D der Firma GAMBRO, Hechingen, Deutschland (s. Tab. 6). Der Kreislauf wurde für zwei Stunden aufrechterhalten. Grenzen für die maximale Flussrate stellten die spontane Hämolyse und ein Filterwiderstand von >56 kPa dar.

Das Schweineblut wurde im Schlachthof von gesunden Schweinen in einem standardisierten sterilen Hohlmessersystem gesammelt und mit fünf internationalen Einheiten Heparin pro Milliliter Blut (unfraktioniertes Heparin, Heparin-Natrium, Braun, B. Braun, Melsungen, Deutschland) versetzt, um eine Koagulation zu verhindern. Der Hämatokritwert lag bei 0,35-0,40 l/l, da Schlachttiere durch den Transport und den Stress dehydriert sind. Dies entsprach jedoch weitgehend einer klinischen Situation, bei der Patienten, die einer Hämofiltration bedürfen, hohe Hämatokritwerte aufweisen.

Fünf verschiedene Volumensubstitute wurden ausgewählt und 50 µl der jeweiligen Lösung pro ml Blut dem Blut beigemischt: Kochsalzlösung (NaCl 0,9, % B. Braun Melsungen, Melsungen, Germany), Albumin (ALB, Behringwerke, Marburg, Deutschland), Gelatine (GEL, B. Braun Melsungen, Melsungen, Germany, Gelatine Polysuccinat mit einem mittlerem Molekulargewicht von 30 kDa), Hydroxyethylstärke (HES 200/0.5, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg v.d.H., Deutschland, mit einem Molekulargewicht von 200 kDa und einem Substitutionsgrad von 0,5), und eine weitere Hydroxyethylstärke (HES 130/0.4, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg v.d.H., Deutschland, mit einem mittleren Molekulargewicht von 130 kDa und einem Substitutionsgrad von 0,4).

Diese fünf Infusionslösungen wurden wegen ihrer verschiedenen Einflüsse auf die Fließeigenschaft des Blutes und ihrer Bedeutung und kontroversen Diskussion in der Intensivmedizin ausgewählt. Sie sind die meist verwendeten Infusionstypen in Europa. Der Gebrauch wird wegen negativer Effekte, wie dem Risiko auf Nierenversagen, Blutungen, Verminderung der Lungenfunktion oder allergischer Reaktionen, kontrovers diskutiert. Klinikstudien zeigen oft gegensätzliche Ergebnisse für verschiedene Parameter (Adams *et al.*, 1998; Boldt *et al.*, 2007; Brehme *et al.*, 1993; Carl *et al.*, 2008; Kobela *et al.*, 2005; Monkhouse, 1959; Prien *et al.*, 1990; Treib *et al.*, 1997; Wendel und Ziemer, 1999).

Tab. 6: Spezielle Eigenschaften des in-vitro verwendeten Filters (Unger *et al.*, 2005b)

Eigenschaften	FH 66D
Effektive Membranoberfläche	0,69 m ²
Filterdimensionen:	
Innerer Durchmesser	220 µm
Effektive Länge	140 mm
Komponenten:	
Membranmaterial	Polyamid
Einbettmaterial	Polyurethan
Gehäuse	Polycarbonat

3.1.1 Hämofiltration

Wie in Abb. 5 ersichtlich ist, flossen in einem geschlossenem in-vitro-System 2 Liter heparinisiertes Schweineblut (1,5 Liter Blut im Reservoir und ca. 0,5 Liter Blut im Filter und in den Schlauchsystemen) angetrieben von einer Blutpumpe AK10[®] (Gambro, Hechingen, Deutschland) über einen „arteriellen“ Schenkel (Schlauchsystem von Gambro, Hechingen, Deutschland) durch einen Hämofilter (HF66D, s. Tab. 6). Über einen „venösen“ Schenkel wurde das gefilterte Blut zurück zum Reservoirbeutel (2 Liter PVC-Beutel, B.Braun Schiwa GmbH & Co. KG, Glandorf, Deutschland) geleitet, während das Filtrat über eine Filtratleitung an eine venöse Clotfalle angeschlossen war. Nach deren Passage wurde auch das Filtrat zurück in den Kreislauf gepumpt. Um einer klinischen Situation möglichst zu entsprechen, wurde für den venösen Rückfluss in den Reservoirbeutel ein 12F Katheter (12 French, Länge 160 mm, tri-lumen, Arrow, USA) benutzt, um so den Strömungswiderstand eines venösen Schenkels des Doppellumenkatheters zu imitieren, welcher für die CVVH zum Einsatz kommt. (Unger *et al.*, 2001b; Unger *et al.*, 2006b). Das Blutreservoir wurde in einem Wasserbad konstant auf 37 °C gehalten. Um einer Erythrozytensedimentation vorzubeugen, wurde kontinuierlich das Wasserbad leicht umgerührt und der Reservoirbeutel vorsichtig von Hand bewegt.

Bevor das System mit Blut gefüllt wurde, durchspülte man den in-vitro-Kreislauf mit 3 Liter Natriumchloridlösung (B. Braun Schiwa GmbH & Co.KG, Glandorf, Deutschland). Um das Natriumchlorid vollständig durch das supplementierte Blut zu ersetzen, wurde das System so lange mit Blut durchspült und dieses anschließend verworfen, bis es frei von der Durchspülflüssigkeit war. Da das Reservoir 2 Liter Blut, der Filter und die Schläuche insgesamt nur ca. 300ml Blut fassten, wurde das System mehrfach durchspült. Außerdem war der Hämatokrit des Blutes vor und nach der Systembefüllung gleich, was bedeutet, dass es zu keiner relevanten Dilution des Blutes gekommen war. Danach wurde Blut vom Reservoirbeutel aus über den Filter durch das in-vitro-System gepumpt. Sobald sich zwei Liter Blut im System befanden, startete man den rezirkulierenden Modus. Transmembranärer Druck und Filtratdruck wurden kontinuierlich gemessen; der Hämatokritwert, Hämolyse (freies Plasmahämoglobin, fHB), Thrombozytenzahl und die Leukozytenzahl im Blutreservoir wurden sechsmal bei jeweils unterschiedlich eingestelltem Blutfluss zur Filtrationsrate (75/15, 100/15, 125/25, 150/25, 175/25, 200/40 ml/min) in einem Abstand von 20 Minuten ermittelt (s. Tab. 9).

Bei dem in-vitro-System wurde die Anwendung der Hämofiltration durch das Auftreten von Spontanhämolyse kontrolliert und damit auch der Flussrate und der Filtrationsrate ein Maximum gesetzt. Ein Hämolysegeschehen wurde anhand der Konzentration von freiem Hämoglobin ermittelt (Zyanidreaktion; Diagnostica Merck, 9405, Darmstadt, Deutschland; UV-Photometer Ultraspec II; Biochrom LKB, Cambridge, UK). Im Laufe des Versuchs kam es zu einem moderaten Abfall der Blutzellanzahl und der Gerinnungsfaktoren, wodurch sich das System nach einiger Zeit selbst erschöpfte (Unger *et al.*, 2005b).

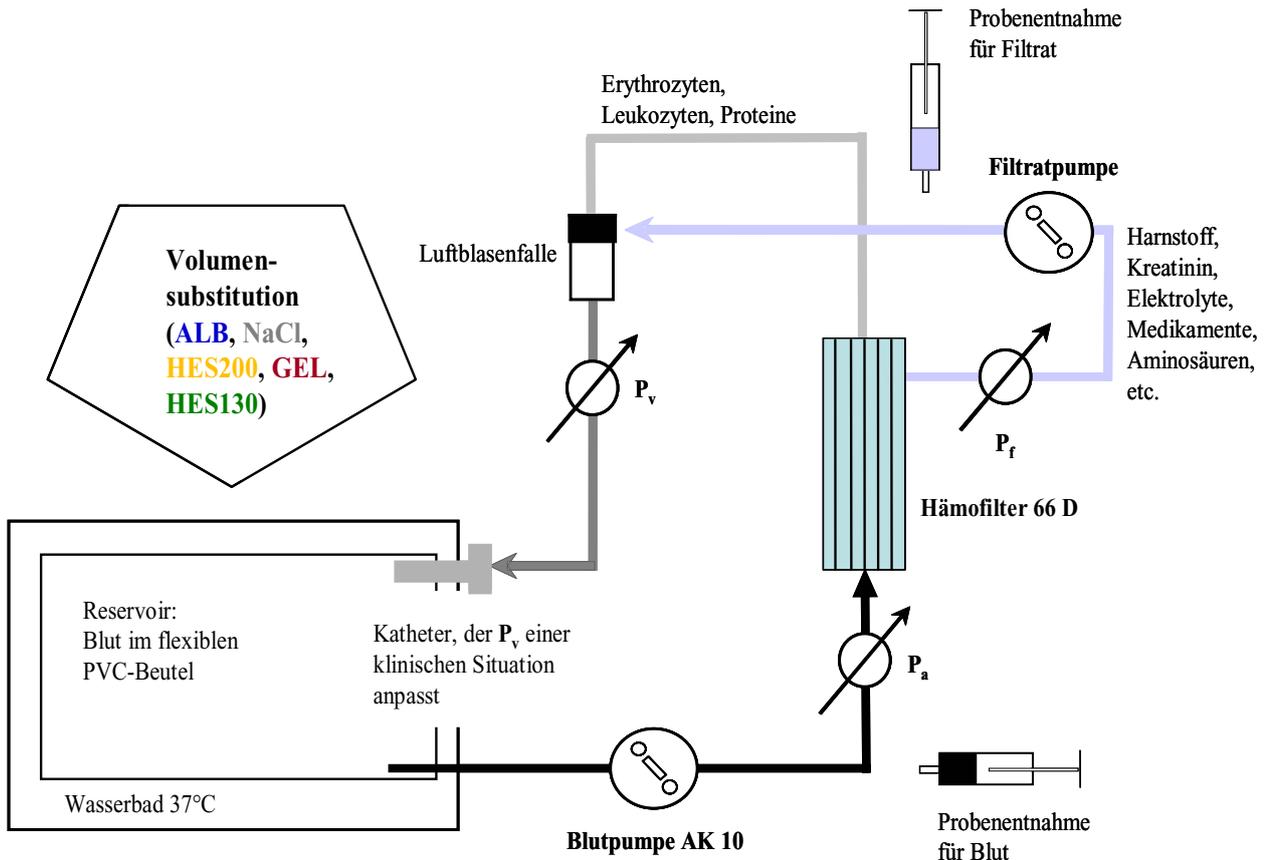


Abb. 5: Rezirkulierendes in-vitro-Flusssystem (Unger *et al.*, 2005b)

3.1.2 Versuchsgruppen

Die Hämofiltration wurde mit fünf verschiedenen Versuchsgruppen entsprechend den unterschiedlichen Volumensubstituten zu je sechs Experimenten pro Gruppe durchgeführt (s. Tab. 7). Das Schweineblut wurde im Verhältnis eins zu zwanzig supplementiert (50 μ l Lösung pro ml Blut). Albumin wurde in einer 20 %igen Lösung verwendet, um aus dem Albumin- zu Globulin-Verhältnis von 0,8 des Schweinebluts (entsprechend einer Hypoalbuminämie des Menschen) einen Wert von 1,2 (physiologisch für den Menschen) zu generieren. Die Konzentrationen von GEL (4 %) und HES 130 (6 %) waren vom Hersteller vorgegeben, für HES 200 wurde eine 10 %ige Konzentration gewählt, um einerseits eine Konzentration zwischen Gelafundin, HES 130 und Albumin zu haben und andererseits die Situationen, in denen Dosierungsgrenzen erreicht sind, möglichst kliniknah nachzustellen (Unger *et al.*, 2005b).

Tab. 7: Substitutionen der experimentellen Gruppen

Gruppe	Anzahl der Versuche	Substitution	Hersteller
1	n = 6	NaCl (NaCl 0,9 %)	B. Braun Melsungen, Melsungen, Germany
2	n = 6	ALB (Albumin 20 % [®])	Behringwerke, Marburg, Deutschland
3	n = 6	HES 200 (Haes-steril [®] 10 %)	Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg v.d.H., Deutschland
4	n = 6	HES 130 (Volu-Ven [®] 6 %)	Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg v.d.H., Deutschland
5	n = 6	GEL (GelaFundin 4 % [®])	B. Braun Melsungen, Melsungen, Germany

3.1.3 Untersuchte Parameter

Wie in Tab. 9 ersichtlich ist, wurden zu sechs verschiedenen Messzeitpunkten Werte zum Druckprofil, der Hämokompatibilität und den Blutzellen ermittelt (s. Tab. 8). Dabei wurden die Messverfahren wie in Kap. 3.1.4 beschrieben angewandt.

Tab. 8: Gemessene Parameter in-vitro

Druckprofile	<ul style="list-style-type: none"> • P_a = arterieller Druck vor dem Filter [kPa] • P_v = venöser Druck nach dem Filter [kPa] • P_f = Filtratdruck [kPa] • TMP = transmembranärer Druck [kPa] • $P_a - P_v$ = Druckabnahme über den Filter [kPa]
Hämokompatibilität	<ul style="list-style-type: none"> • aPTT [s] = aktivierte Prothrombinzeit • Quickwert [%] • Fibrinogenkonzentration [$\mu\text{mol/l}$] • ATIII = Antithrombin III [%] • D-Dimere [ng/ml] • TAT = Thrombin-Antithrombinzeit [$\mu\text{g/l}$] • Heparinbedarf
Blutzellen	<ul style="list-style-type: none"> • Hct [l/l] = Hämatokritwert • fHb [mmol/l] = Freies Hämoglobin • plts [$10^9/l$] Thrombozyten • Leukozyten [$10^9/l$]

3.1.4 Laboranalysen

Die Druckmessung im System verlief vergleichbar mit einer invasiven Blutdruckmessung, da das System aus kommunizierenden Röhren bestand. Damit handelt es sich um hydrostatische Drücke.

Die Blutproben wurden mit einem Blutzellzähler (Celltek m; Bayer Vital GmbH & Co KG, München, Deutschland) gemessen. Durch Bestimmung des freien Hämoglobinwertes, welcher photometrisch mit einer Zyanidreaktion (Diagnostika Merck, 9405, Darmstadt, Deutschland) und einem UV-Photometer (Ultraspec II, Biochrom LKB, Cambridge, UK) bestimmt wurde, konnte die Hämolyse ermittelt werden (Unger *et al.*, 2003).

Extrinsische und intrinsische Koagulationsfaktoren wurden anhand der Prothrombinzeit (Quickwert von Dade[®] Innovin reagent) und der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT von Dade[®] ActinFS reagent, beide von Dade Behring, Marburg, Deutschland) analysiert. Um die Fibrinogenkonzentration zu bestimmen, wurde die Methode nach Clauss und das Fibrinogen a[®] Reagenz von Diagnostica Stago, Boehringer, Mannheim, Deutschland, angewandt. Zu den originalen ActinFS und Innovin Reagenzien wurde Polybrene[®] (Abbott Laboratories, Dallas, TX, USA) dem Blut hinzugefügt, um die hohe Heparindosis, welche in einem extrakorporalen Kreislauf benötigt wird, zu antagonisieren (Unger *et al.*, 2003).

3.1.5 Versuchsprotokoll

Der Versuchsdurchlauf startete mit dem vom Hersteller für den Filtertyp HF 66D vorgegebenen Blutfluss Q_b von 75 ml/min und einer Filtrationsrate Q_f von 15 ml/min. Während des Experimentverlaufs wurden sowohl der Blut- wie auch der Filtrationsfluss alle 20 min standardisiert erhöht (s. Tab. 9).

Tab. 9: Messzeitpunkte im Studienprotokoll in-vitro

	Q_b	Q_f	Material/Messungen
Blutreservoir	-	-	Schweineblut, 5 I.U. Heparin/ml, Supplementation mit 100 ml der jeweiligen Substitutionslösung
BS	75	15	Druckmessung, Blutprobe, danach Erhöhung der Flussraten
1	100	15	Druckmessung, Blutprobe, danach Erhöhung der Flussraten
2	125	25	Druckmessung, Blutprobe, danach Erhöhung der Flussraten
3	150	25	Druckmessung, Blutprobe, danach Erhöhung der Flussraten
4	175	25	Druckmessung, Blutprobe, danach Erhöhung der Flussraten
VE	200	40	Druckmessung, Blutprobe

Messungen zu den Druckwerten wurden kontinuierlich alle 20 min durchgeführt und aufgezeichnet, bevor die Blutproben für die Messungen zur Hämokompatibilität entnommen wurden. Danach wurden die Flussraten für die folgenden 20 Minuten erhöht. Die Messungen zu den Druckwerten wurden von einem installierten elektronischen Membranmessfühler überwacht, welcher mit dem Monitor der Pumpe verbunden war, sowie einem multichannel recorder (Modell S66, Hewlett Packard, Bad Homburg, Deutschland). Es wurden keine Differenzen zwischen den Werten der beiden Messsysteme festgestellt. Der TMP wurde von dem installierten TMP-Gerät vorgegeben, das diesen automatisch aus den drei anderen Druckmesswerten errechnete. Der Filtrationsdruck wurde zusätzlich über den multichannel recorder überwacht (Unger *et al.*, 2005b) und gemessen, da dieser im Monitor des Hämofiltrationsgerätes keine direkte Anzeige bot.

3.2 In-vivo-Modell

Die Versuche wurden in einer prospektiven Studie in den Tierexperimentellen Einrichtungen der Charité, Campus Virchow-Klinikum, in Berlin unter der Leitung von Frau PD Juliane Unger durchgeführt. Insgesamt wurde 35 Schweinen (s. Kap. 3.2.2) nach dem Zufallsprinzip entweder Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland), 6 %iges HES 130 (Voluven; Fresenius Kabi), 6 %iges HES 200 (HAES-Steril, Fresenius Kabi), ALB (Humanalbumin 20 %, Baxter, Unterschleißheim, Deutschland) oder Gelatine Polysuccinat (GEL, Gelafundin 4 %, B. Braun, Melsungen, Deutschland) substituiert. Bei

jeweils sechs bis neun Tieren jeder Substitutionsgruppe (s. Kap. 3.2.2) wurde eine CVVH durchgeführt.

3.2.1 Kontinuierliche venovenöse Hämofiltration

Es wurden die gleichen Materialien und dieselben Geräte identisch zur in-vitro-Situation verwendet. Auch der Aufbau, die Spülung und das Priming des Kreislaufs verliefen auf dieselbe Art und Weise. Für die CVVH wurde eine AK10[®] Blutpumpe intensivmedizinischen Zwecken entsprechend mit medizinisch-technischem PVC modifiziert eingesetzt. Außerdem wurden ein Hämofilter vom Typ FH 6S (Gambro, Hechingen, Deutschland) eingesetzt (s. Tab. 10), welcher dem in vitro verwendeten Filter HF 66D bezüglich der Filtereigenschaften entsprach. Weiterhin wurde ein Doppellumenkatheter 11F (doppellumiger Shaldonkatheter, 11F, 20 mm lang, Gambro, Hechingen, Deutschland) verwendet. Alle Schlauchmaterialien bestanden aus „medical-grade“ PVC (Gambro, Hechingen, Deutschland) und passten zur Blutpumpe AK10.

Tab. 10: Spezielle Eigenschaften des in-vivo verwendeten Filters (Unger *et al.*, 2006a)

Eigenschaften	FH 6S
Effektive Membranoberfläche	0,6 m ²
Filterdimensionen:	
Innerer Durchmesser	215 µm
Effektive Länge	140 mm
Wandstärke	50 µm
Komponenten:	
Membranmaterial	Polyamid
Einbettmaterial	Polyurethan
Gehäuse	Polycarbonat

Viereinhalb Stunden lang wurde das Filtrat zu der Luftblasenfalle zurückgeleitet, also ein geschlossener Kreislauf betrieben, während der darauf folgenden zwei Stunden wurde das Filtrat verworfen und durch eine Kristalloidlösung ersetzt (Ringeracetat, Jonosteril mit Glukosezusatz, Fresenius Kabi AG, Homburg, Deutschland). Während der rezirkulierenden Phase wurden der Blutfluss Q_b und der Filtratfluss Q_f schrittweise angehoben. Der jeweilige Q_b/Q_f -Wert wurde dem Grenzwert für den transmembranären Druck unter 24 kPa angepasst. Während des offenen Modus wurde der Q_b/Q_f -Wert auf 200/60 ml/min festgesetzt. In dieser Phase wählte man als zusätzlichen Grenzwert einen Filtratdruck von weniger als -8 kPa, und Q_f wurde reduziert sobald dieser Grenzwert überschritten wurde. Als Antikoagulant wurde unfraktioniertes Heparin verwendet (Liquemin, Hoffman-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland). Am Anfang des Experiments applizierte man ein Bolus von 100 I.U./kg KG und während des Versuchs wurde die Dosierung der kontinuierlichen Heparininfusion anhand der gemessenen ACT-Werte ermittelt, die im Bereich von 200 bis 250 s liegen sollten (Unger *et al.*, 2006a). Am Versuchsende wurden die Schweine mit einer Überdosis Thiopental (1 g, Trapanal; ALTANA Pharma, Konstanz, Deutschland) und Kaliumchlorid (60 ml, 1 mol/l, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) euthanasiert.

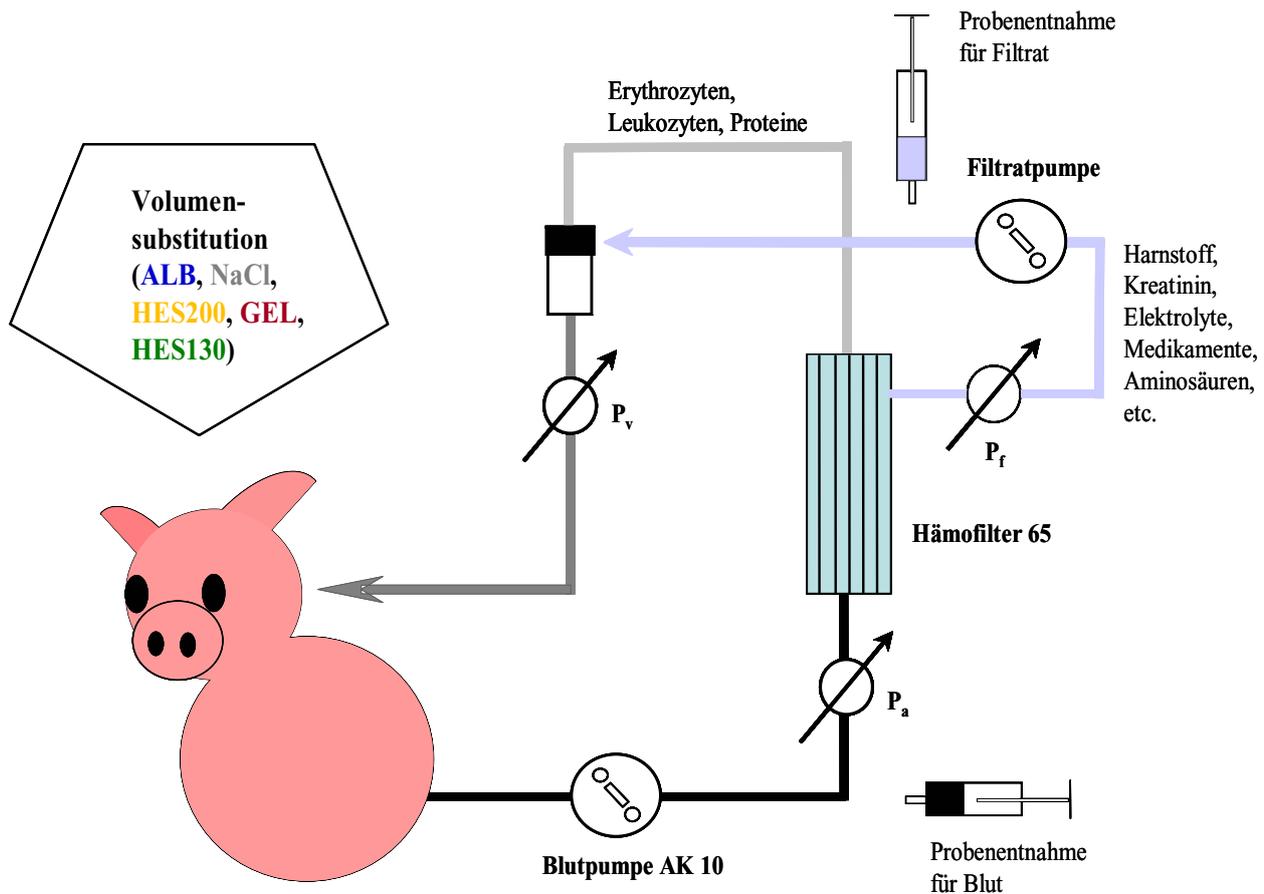


Abb. 6: Aufbau des in-vivo-Kreislaufs

3.2.2 Versuchstiere und Versuchsgruppen

Für das in-vivo-System wurden 35 gesunde weibliche Schweine der Rasse Deutsche Landrasse gekreuzt mit der Rasse Large White mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 40 ± 6 kg eingesetzt. Sie wurden im Rahmen der CVVH für 8,5 bis 10 Stunden anästhesiert. Zwölf Stunden vor Beginn der Anästhesie wurde ihnen das Futter entzogen, sie hatte jedoch bis zur Prämedikation freien Zugang zu Wasser.

Entsprechend den fünf verschiedenen Volumensubstituten wurden je 6 Tiere den experimentellen Gruppen zugeteilt, bei denen fast alle Parameter ermittelt werden konnten (s. Anh. 9, Tab. 21 - Tab. 55). Bei 5 weiteren Tieren kam es zu Fehlern im Protokoll (Laborprotokolle gingen verloren, technische Fehler bei der Durchführung oder signifikanter Blutdruckabfall des Versuchstieres), so dass die ermittelten Parameter dieser Tiere nicht in die Auswertung mit einbezogen wurden.

3.2.3 Anästhesie

Für die Prämedikation wurden intramuskulär 5 mg/kg Azaperon (Stresnil; Janssen-Cilag, Neuss, Deutschland), 0,03 mg/kg Atropinsulfat (atropine sulfate; B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) und 10 mg/kg Ketamin (Ursotamin; Serumwerk, Bernberg, Deutschland) verwendet.

Nachdem ein Zugang in die Ohrvene gelegt worden war, wurde die Anästhesie mit 5 bis 7 mg/kg Propofol (propofol 1% MCT; Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) eingeleitet und mit 17 ± 3 mg/kg pro Stunde Thiopental (Trapanal; ALTANA Pharma, Konstanz, Deutschland) und $4,6 \pm 0,9$ µg/kg pro Stunde Fentanyl (Fentanyl; Janssen-Cilag, Neuss, Deutschland) fortgesetzt. Die Tiere wurden intubiert (Hi-Lo Lanz, ID 7.0,

Mallinckrodt, Irland) und in Rückenlage positioniert. Die ausreichende Narkosetiefe wurde anhand neurologischer Reaktionen gewährleistet. Dazu wurde der Nasenscheidewand- und Zwischenzehenreflex überprüft und auf den Bulbuszustand geachtet (zentrierte Augen mit mittelweiten Pupillen waren ein gutes Zeichen). Da weder ein Muskelrelaxanz verabreicht wurde, noch die Beine der Tiere ausgebunden waren, hätten spontane Bewegungsreaktionen auf instrumentelle Stimuli hin direkt erkannt werden können. Dies ist neben dem Tierschutzaspekt relevant, da Veränderungen der Herzfrequenz und des Blutdrucks auch aus Biokompatibilitätsreaktionen resultieren und damit nicht zur sicheren Kontrolle einer adäquaten Narkosetiefe herangezogen werden konnten.

Die Tiere wurden mechanisch mit einem Ventilator 711 (Siemens, Forchheim, Deutschland) beatmet, wobei eine kontinuierlich positive Druckventilation (mit einem positiven endexpiratorischen Druck von 5 cmH₂O) aufrechterhalten wurde. Die inspiratorische Sauerstofffraktion war auf ca. 33 % und der inspiratorische zum expiratorischen Anteil auf 1:2 festgesetzt. Beatmungsfrequenz und -volumen wurden so eingestellt, dass der expiratorische CO₂-Wert zwischen 4 und 4,7 kPa, die periphere Sauerstoffsättigung SpO₂ > 95 % und der PaO₂ zwischen 13,3 und 20 kPa gehalten wurden. Für das Hämodynamik-Monitoring wurde ein Hewlett Packard Monitor (HP 66S; Hewlett Packard GmbH, Bad Homburg, Deutschland) gebraucht. Der mittlere arterielle Druck, der mittlere pulmonalarterielle Druck, der zentrale Venendruck und die Herzfrequenz wurden alle 30 min gemessen und aufgezeichnet. Der pulmonalkapilläre Verschlussdruck, das Herzzeitvolumen, der systemische Gefäßwiderstand und der pulmonale Gefäßwiderstand wurden alle 60min ermittelt. Das Herzzeitvolumen wurde per Thermodilution mit einer Injektion von 5ml Kochsalzlösung gemessen. Die innere Körpertemperatur wurde durch eine Warmluftdecke (Tyco Healthcare, Neustadt, Deutschland) auf 38 bis 39 °C gehalten.

Ebenfalls alle 30 min wurden der maximale inspiratorische Druck, der Plateaudruck, der positive endexpiratorische Druck, das Tidalvolumen (durch den Ventilator aufgezeichnet), der Endtidal CO₂-Gehalt (NGM 1000, Stephan Pfaender, Trebbin, Deutschland), die Sauerstoffsättigung (Hewlett Packard Monitor 66S) und das Atemminutenvolumen gemessen und aufgezeichnet.

3.2.4 Instrumentalisierung und chirurgische Techniken

Die Blutgefäße wurden chirurgisch dargestellt und mit der Seldinger Technik Katheter gelegt: in die Jugularvene wurde eine Schleuse für einen Pulmonalarterienkatheter (Criticath, SP5127 S-TIP TD, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland) gelegt, in die Femoralarterie ein Arterienkatheter (Combidyn, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland), in die rechte Femoralvene ein Doppellumenkatheter (11F, 20 mm lang; Gambro, Hechingen, Deutschland) und in die linke Femoralvene ein zusätzlicher zentraler Venenzugang (8F Umhüllung, Arrow, Erdingen, Deutschland) für die Flüssigkeitssubstitution. Die Katheter wurden mit Kochsalzlösung ohne jeglichen Zusatz von Antikoagulantien durchspült. Da die Genitalien der jungen Tiere noch nicht vollständig ausgewachsen waren, wurde bei allen Tieren ein Blasenkateter per Minilaparotomie gelegt. Dazu wurde mit einem 40 mm langen Schnitt durch die Linea alba zwischen den letzten beiden Gesäugekomplexen die Bauchhöhle eröffnet und ein Katheter (balloon catheter Wiruthan, CH 12; Rüscher, Kernen, Deutschland) in die Blase eingeführt. Das Abdomen wurde mit einer gebräuchlichen Nahttechnik geschlossen.

3.2.5 Flüssigkeitsmanagement

Bis die CVVH angeschlossen wurde (Zeit für Instrumentierung ca. 1,5 Stunden) wurde den Tieren Ringer Acetat (Jonosteril, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) verabreicht, um eine nächtliche Dehydratation auszugleichen, welche oft bei Versuchen mit Schweinen,

die die Nacht vor dem Versuch gefastet hatten, beobachtet wurde (Schnoor *et al.*, 2004). Nach der Instrumentierung folgte die Native-Baseline-Messung (BSnat). Anschließend wurde den Schweinen ein Bolus von 14 ml/kg Körpergewicht HES 130/0.4, HES 200/0.5, NaCl 0,9 %, Gelatine 4 % (GEL) oder Albumin 4 % (ALB) substituiert. Dieser Bolus wurde über einen 8F-Katheter infundiert. Abhängig vom gesamten Volumen, welches anhand des exakten Körpergewichts der Tiere festgesetzt wurde, dauerte diese Infusion zwischen 45 und 60 Minuten. Ebenfalls vor dem Starten des Systems wurde ein Bolus von 100 I.U. Heparin/kg KG (unfraktioniertes Heparin, Liquemin, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Whylen, Deutschland) verabreicht, woraufhin der Hämofiltrationskreislauf an die Tiere angeschlossen wurde. Nach einer 15 minütigen Äquilibration wurden die System-Baseline-Messungen (BSsys) vorgenommen. Weiterhin wurde die jeweilige Infusion (HES130, HES200, NaCl, GEL, ALB) auch während der CVVH (2,6 ml/kg/h) fortgesetzt, wie auch eine kontinuierliche Heparininfusion, deren Dosierung entsprechend den gemessenen ACT-Werte, die zwischen 200 und 250 s liegen sollten, eingestellt wurde. Die ACT-Werte wurden alle 60 min mit einem Hämochrom 400 (AD Krauth, Kardiovaskuläre Vertriebsgesellschaft, Hamburg, Deutschland) gemessen.

Zusätzlich zur Volumengabe wurde durch die intravenöse Anästhesie den Tieren anschließend an die Bolusgabe kontinuierlich 1,2 ml/kg/h kristalloide Flüssigkeit appliziert (mit SchiwaMtic 700N, Schiwa GmbH, Glandorf, Deutschland), da die Fentanylperfusor Kochsalzlösung enthielt und das Thiopental mit pyrogenfreiem Wasser verdünnt war. Auch die stündliche Katheterdurchspülung und die Herzminutenvolumenmessung mit Hilfe von Thermodilution führten zu einer weiteren Applikation kristalloider Flüssigkeit. Alle Applikationen zusammengezählt, wurden 3,9 ml/kg der spezifischen und zusätzlich 5,1 bis 5,4 ml/kg kristalloide Lösung pro Stunde appliziert.

3.2.6 Untersuchte Parameter

Wie in Abb. 7 und Tab. 11 zu erkennen ist, wurden zu fünf verschiedenen Messzeitpunkten dieselben Werte wie im in-vitro-Modell zum Druckprofil, der Hämokompatibilität und den Blutzellen ermittelt (s. Tab. 8). Dabei wurden die Messverfahren wie in Kap. 3.2.7 beschrieben angewandt.

Des Weiteren wurden Untersuchungen der Plasmaelektrolytkonzentrationen und des Säure-Basen-Haushaltes des Blutes, sowie Untersuchungen des Urins, des Filtrats, der Peritonealflüssigkeit und des kolloidosmotischen Drucks im Blut, Plasma und Filtrat vorgenommen. Auch Werte der Hämodynamik und des pulmonalen Gasaustausches, der Diurese und der glomerulären Filtration wurden ermittelt. Nach Beendigung des Experiments wurden mehrere Organe histopathologisch untersucht. Diese Ergebnisse sind jedoch nicht der Fokus dieser Arbeit. Die untersuchten Parameter wurden an den in Tab. 11 beschriebenen Zeitpunkten gemessen:

Tab. 11: Hauptmesszeitpunkte des Versuchsprotokolls in-vivo

Native Baseline (BSnat)	Nach Instrumentalisierung (~2,5 h nach erster Prämedikation)
System Baseline (BSsys)	Nach Bolusinfusion, Heparinbolusgabe und Systemanschluss
Zwischenmessung (ZM)	Mit höchst möglichen Flussraten im rezirkulierenden System nach 4 h
Zwischenbaseline (ZBS)	Mit fix eingestellter Blutfluss-/Filtrationsrate im rezirkulierenden System nach 4,5 h, direkt vor Umstellung des Systems auf den konventionellen offenen Modus mit isovolämischen Austausch von Filtrat gegen kristalloide Infusionslösung
Versuchsende (VE)	Nach 2 h offenem Modus

3.2.7 Laboranalysen

Für die Feststellung aller Parameter wurden Standardmethoden vom Institut für klinische Chemie der Universitätsmedizin Berlin-Charité der Humboldt Universität in Berlin benutzt. Der kolloidosmotische Druck wurde mit Hilfe eines Membranoncometers (BMT 921, Thomae GmbH, Biberach, Deutschland) ermittelt. Der Cut-off der Membran lag bei einem Molekulargewicht von 20 kDa. Proben wurden vom zentralen Venenkatheter gezogen. Proben für die Blutgasanalyse (venös, arteriell, gemischtvenös) wurden von venösen, pulmonalen und arteriellen Kathetern entnommen und mit Hilfe einer ABL700 und einer OSM3 (Radiometer, Copenhagen, Dänemark) aufgezeichnet. Die aktivierte Koagulationszeit (ACT) wurde stündlich mit einem Hämochrom 400 (AD Krauth, Kardiovaskuläre Vertriebsgesellschaft, Hamburg, Deutschland) ermittelt oder häufiger, falls es für die Anpassung der Heparindosis erforderlich war.

3.2.8 Versuchsprotokoll

Nachdem die Geräte angeschlossen waren, wurden nach der Äquilibration die Messungen für die Native-Baseline (BS_{nat}) vorgenommen (s. Abb. 7) und den Tieren danach ein Bolus der jeweiligen Substitutionslösung verabreicht. Ebenso wurde ein Bolus von 100 I.U. Heparin pro Kilogramm KG zu Beginn als Antikoagulation gegeben, woraufhin fünf Minuten später das Hämofiltrationssystem angeschlossen und gestartet wurde. Danach führte man die Messungen für die System-Baseline (BS_{sys}) durch. Die CVVH lief in einem geschlossenen Kreislauf, was bedeutet, dass das Filtrat 4,5 Stunden lang nach der Filterpassage über eine venöse Luftblasenfalle wieder zum Tier zurückfloss. Nach vier Stunden rezirkulierender Hämofiltration wurden die Werte für die Zwischenmessung (ZM) bei maximaler Flussrate gemessen und ca. eine halbe Stunde später, bei festgelegter Flussrate (Q_f/Q_b 200/60), die Messungen für die Zwischen-Baseline (ZBS) vorgenommen. Den 4,5 Stunden des rezirkulierenden Systems folgte für zwei weitere Stunden das offene System, bei dem das Filtrat verworfen und isovolumentrisch durch kristalloides Volumen (Jonosteril, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) ersetzt wurde. Dieser offene Modus wurde bis zum Versuchsende mit abschließender Versuchs-Ende-Messung (VE) fortgesetzt.

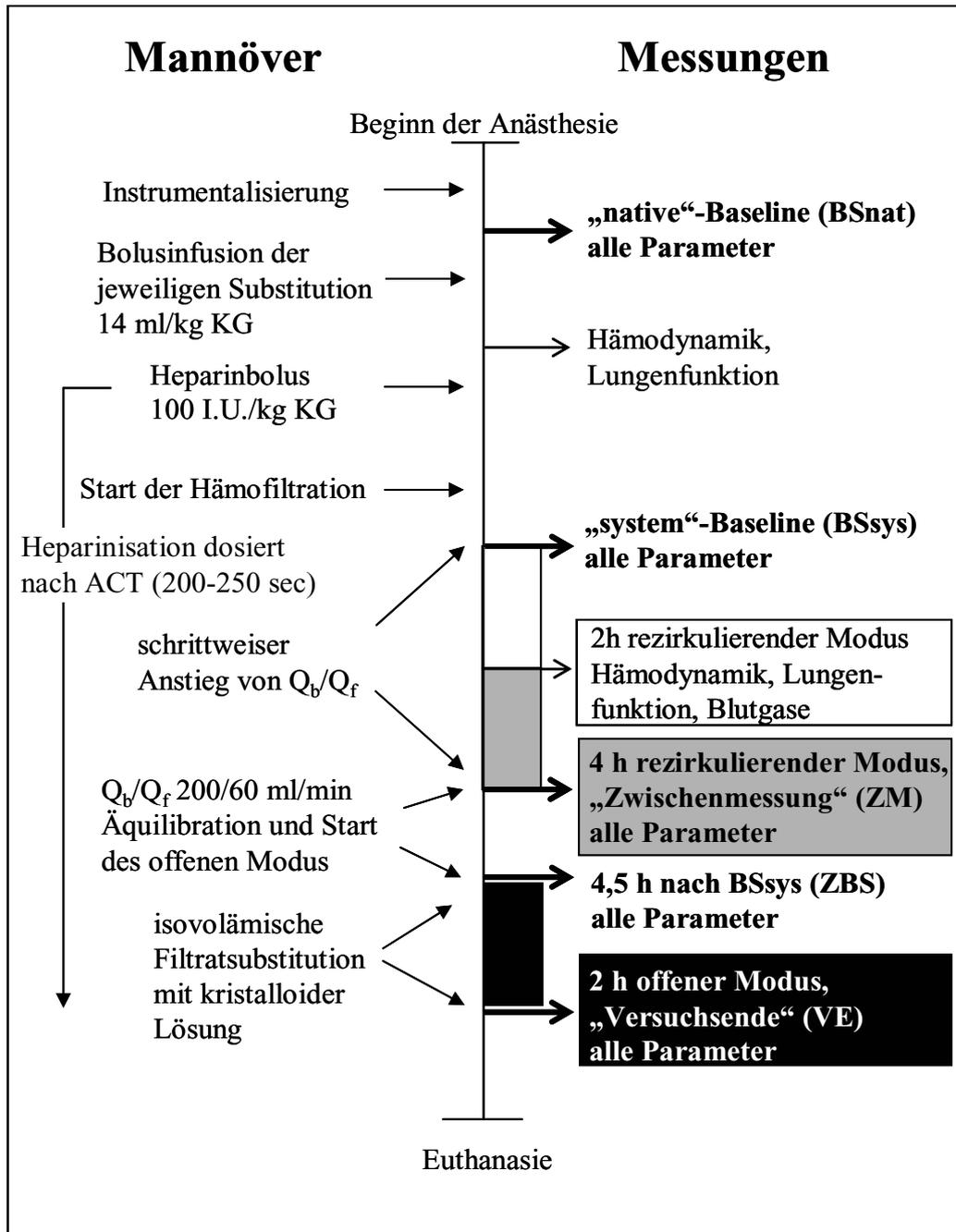


Abb. 7: Protokoll des in-vivo-Versuchs, hier zitiert und modifiziert nach (Unger *et al.*, 2006a)

3.3 Modellgegenüberstellung / Versuchsaufbau

Mit unserem in-vitro-Modellaufbau sind Messungen von Einzelparametern zur Hämatologie und zur Filterfunktion möglich (s. Tab. 8). Durch das in-vivo-Modell sind einerseits dieselben Messungen möglich, die durch den direkten Vergleich mit in-vitro einen Hinweis auf die Aussagekraft des in-vitro-Modells geben. Andererseits kann mit dem in-vivo-System anhand der Messwerte zu den Organfunktionen (s. Kap. 3.2.6) eine Aussage über die Reaktion des gesamten Organismus auf das Gesamtverfahren bzw. die Infusionstyp-CVVH-Interaktion getroffen werden.

Die jeweiligen Versuchsaufbauten wurden in Hinblick auf die verwendeten Materialien so identisch wie möglich gestaltet (gleiche Hämofilter, Pumpen, Schlauchmaterialien, Katheter). Trotzdem war ein direkter Vergleich von realen Messwerten beider Systeme aufgrund unterschiedlicher Modellkomponenten nicht möglich. Aus diesem Grund wurde der Schwerpunkt der Betrachtung auf die Entwicklung der Messwerte während der Versuchsdauer gelegt. Auch bei der Blutzusammensetzung, der Antikoagulation (s. Kap. 3.3.1) und der Volumensubstitution wurde auf eine möglichst große Übereinstimmung geachtet.

Während in-vitro über die gesamte Versuchsdauer das abgepresste Filtrat zum Kreislauf zurückgeführt wurde, schlossen sich in-vivo dem 4,5 Stunden geschlossenen Kreislauf eine zweistündige Phase mit offenem Kreislauf an. Da es sich in-vitro bei dem Reservoir um eine begrenzte Menge an Blut und in-vivo um den Gesamtorganismus des Schweins handelte, wurde die Laufzeit des in-vitro-Versuchs durch den Rückgang an Blutzellen und Gerinnungsfaktoren begrenzt, während es in-vivo zu einer Mobilisierung bzw. Bildung neuer Zellen und Gerinnungsfaktoren kommen konnte und daher kein zeitliches Limit bestand. Einen weiteren Unterschied beider Systeme stellten die Flussraten dar: während in-vivo Druckgrenzwerte eingehalten werden mussten, um den geplanten Ablauf des Versuchs ohne Hämolyseeffekte gewährleisten zu können, konnten in-vitro die gewünschten Flussraten standardisiert eingestellt werden, ohne den Ablauf zu gefährden. Eine tabellarische Gegenüberstellung findet sich im Kap. 3.3.2 in Tab. 12.

Bei dem in-vitro-Modell handelte es sich um ein selbsterschöpfendes Modell, da das Reservoir an Blut auf 2 Liter begrenzt war, und die kontinuierlich entnommenen Filtratproben zu einer stetigen Aufkonzentration der gelösten Substanzen im Kreislauf führten. Zusätzlich kam es zu weiteren Zellverlusten bei Adsorptionsvorgängen an Fremdoberflächen, bei Zerstörung einzelner Zellen durch mechanische Einflüsse des Systems oder wenn Zellen in den Kapillaren der Membran durch so genanntes Cellcoating/Membranfouling hängen blieben. Auch Gerinnungsvorgänge führten zu einem kontinuierlichen Abfall der Zellen und Gerinnungsfaktoren, was letztendlich die Versuchsdauer begrenzte, im Gegensatz zur in-vivo-Situation aber auch ein sehr sensibles System darstellte.

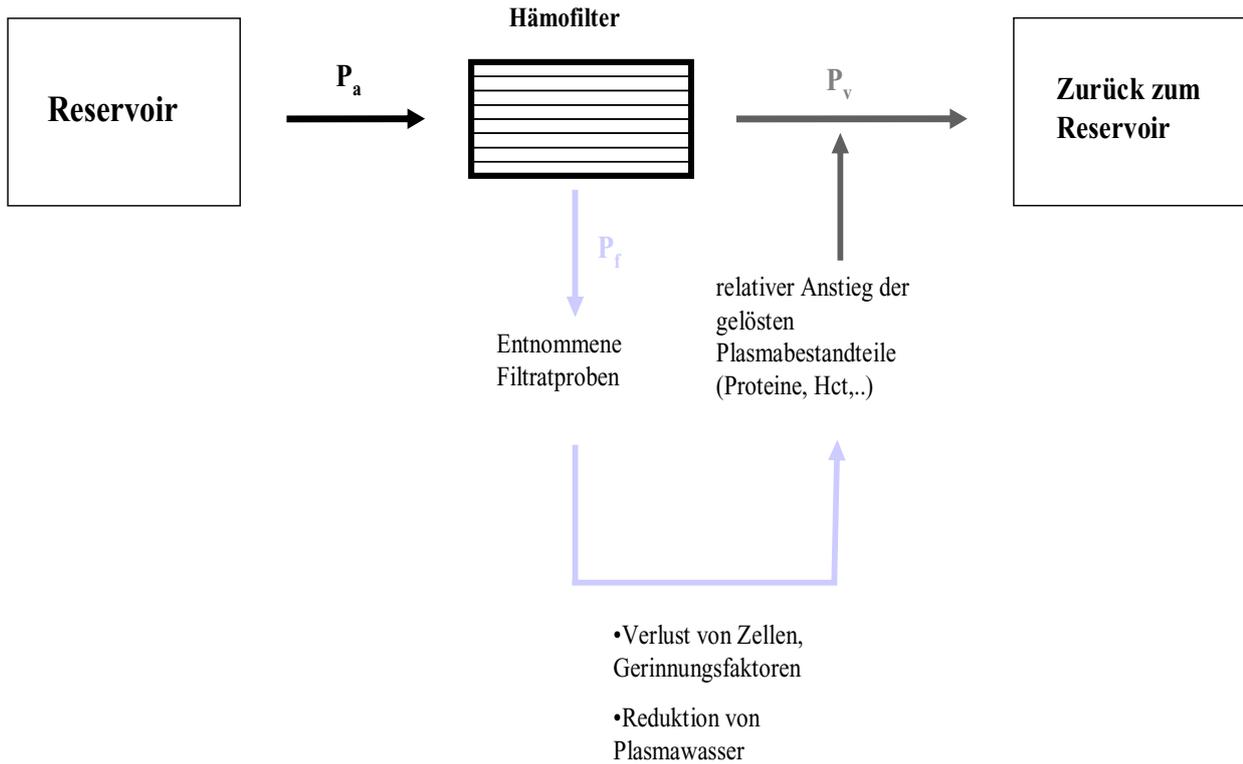


Abb. 8: In-vitro-Versuch: ein selbsterschöpfendes System

Bei dem in-vivo-Modell handelte es sich um ein regenerierendes System, da in diesem Fall das Tier das Reservoir darstellte, welches durch ständige Bildung und Mobilisation von Zellen und Gerinnungsfaktoren Verluste bis zu einem gewissen Maß ausgleichen konnte und damit auf der Ebene klinischer Standardanalysen zum Blutbild und Plasmafaktoren ein etwas trägeres Modell darstellte.

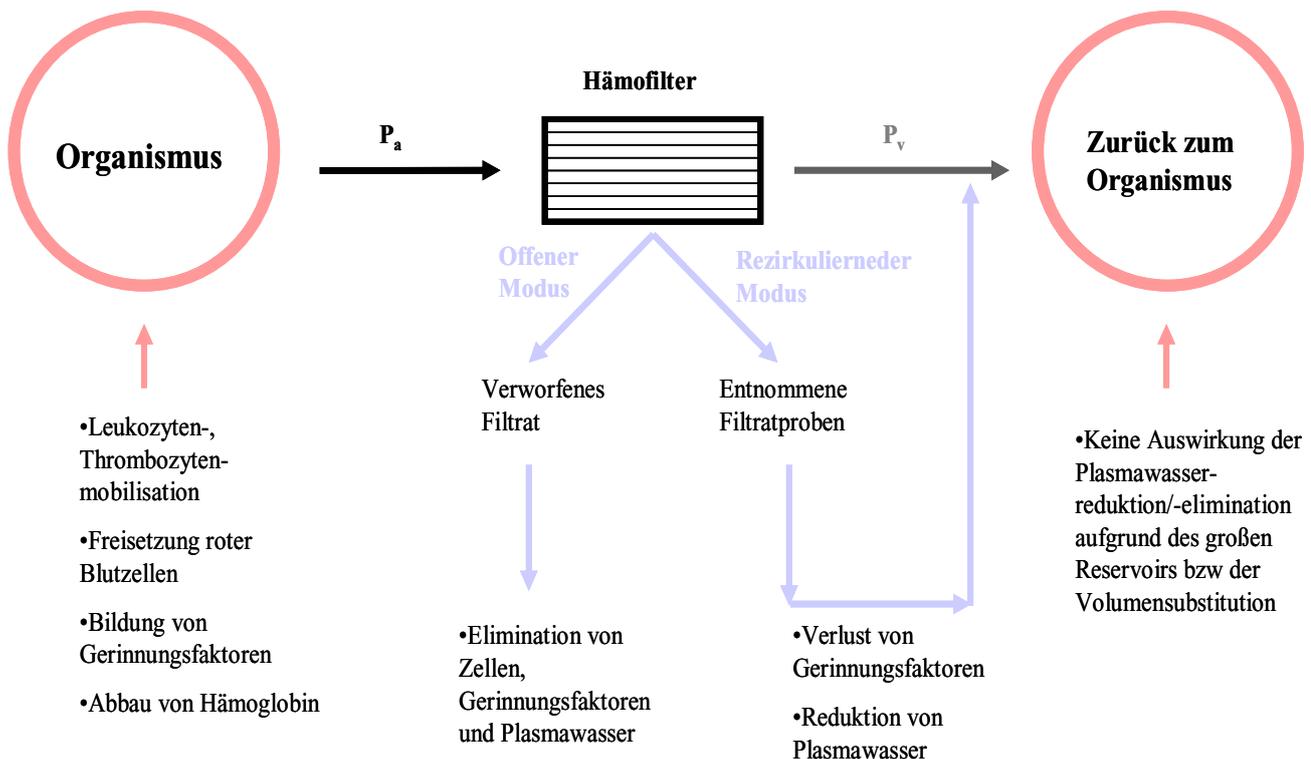


Abb. 9: In-vivo-Kreislauf: ein regenerierendes System

Während des rezirkulierenden Modus konnten im in-vivo-Modell moderate Verluste durch entnommene Proben oder ablaufende Gerinnungsprozesse vollständig ausgeglichen werden. Im offenen Modus kam es trotz der Verwerfung des Filtrates mit seiner komplexen Zusammensetzung (Ultrafiltrat) gegenüber den kristalloiden, vor allem den Elektrolyte ersetzenden Lösungen und den zum Volumenausgleich eingesetzten Infusionen, zu keinem messbaren Anstieg von Substanzen im Kreislauf. Während des gesamten Ablaufs der CVVH führten die Infusionen zu Dilutionseffekten des Blutes.

3.3.1 Blut und Antikoagulation

In-vitro wurde eine Menge von 2 Litern Schweineblut und 1 Liter Blut für das Priming gewählt, um Materialien im extrakorporalen Kreislauf verwenden zu können, von denen auch in der Klinik für eine CVVH Gebrauch gemacht wird. Um Blut in großen Mengen für ein in-vitro-Modell zu gewinnen, muss ein Tier zur Blutentnahme in Narkose gelegt oder aber es kann Blut von einem Schlachthof gewonnen werden. Der Prozess der Entblutung (Hämorrhagie) führt zu einer massiven Aktivierung der Gerinnung und endogenen Katecholaminausschüttung (Hartung *et al.*, 2002). Bei der Blutgewinnung vom Schlachthof (wie bei unserem in-vitro-Modell) kommt es zusätzlich zu Hypoxie, Hyperkapnie und Laktatidose. Aus diesem Grund wurden für die in-vitro-Hämofiltration dem Blut bereits am Schlachthof hohe Heparinmengen zugefügt, um Gerinnungsprozesse zu verhindern. Durch die hohe Heparinisierung konnte keine direkte Gerinnungsanalytik durchgeführt werden. Um dennoch den Einfluss der Infusionstypen auf die Gerinnung unter der Hämofiltration untersuchen zu können, wurde bei der Durchführung der Gerinnungstests Polybrene (Polybrene[®], Abbott Laboratories, Dallas, USA) zur Antagonisierung hinzugegeben (Unger *et al.*, 2003; Unger *et al.*, 2006b). So konnten trotz der initialen Aktivierung beim Schlachtvorgang sensitive Gerinnungsuntersuchungen durchgeführt werden. Gleichzeitig wurde durch die Verwendung von Schlachthofblut eine kliniknahe Situation bezüglich der Zusammensetzung des Blutes multimorbider Patienten erzielt (Laktatidose, Hyperkapnie und ein niedriger Albumin-Globulin-Quotient als spezifische Eigenschaft von Schweineblut). Dies führte jedoch auch zu einem Anstieg der Blutzellaggregation und zu einer schnelleren Verstopfung des Filters (Unger *et al.*, 2006a).

Des Weiteren muss bedacht werden, dass das in-vivo verwendete Heparin in der Analytik später nicht antagonisiert werden musste, da die zugeführten Mengen sich nach dem gemessenen ACT-Grenzwert 200-250 s richteten und damit im Vergleich zur in-vitro-Situation sehr gering waren.

Die Blutbestandteile, die sowohl das in-vitro-System wie auch das in-vivo-System betreffen, sind ausschließlich die Plasmaproteine, Gerinnungsfaktoren, Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten. Zur Darstellung der ablaufenden Gerinnungsprozesse wurden die aPTT-Werte (intravasale Aktivierung durch Fremdoberflächen) und die Quickwerte (extravasale Aktivierung) gemessen. Bei der Auswertung der Gerinnungsdaten musste jedoch bedacht werden, dass es sich bei dem in-vitro-System um ein selbsterschöpfendes Modell handelte, wobei es durch die entnommenen Filtratproben zu einer Konzentrierung der nicht filtrierte Substanzen während des Versuchs kam, da das entnommene Plasmawasser nicht isovolämisch ersetzt wurde. In-vivo dagegen wurde der Verlust von Gerinnungsfaktoren durch deren Verbrauch oder die entnommenen Filtratproben durch Nachbildung oder Mobilisierung im Organismus bis zu einem gewissen Grad kompensiert. Die Infusionen bewirkten allerdings auch eine Dilution des Blutes. Der Hämatokrit lag bei den in-vivo-Versuchen bei Beginn der Filtrationen deutlich niedriger (~ 28 %) als in den in-vitro-Versuchen (~ 35 %).

Tab. 12: Zusammenfassung der Unterschiede zwischen dem in-vitro- und dem in-vivo-Versuchsaufbau

	in-vitro-Modell	in-vivo-Modell
Kreislauf	Selbsterschöpfendes System: Abfall der Blutzellen/ Gerinnungsfaktoren	Regenerierendes System: Abfall und Anstieg der Blutzellen/ Gerinnungsfaktoren
Laufzeit	<ul style="list-style-type: none"> • Laufzeit 2 h • begrenzt durch den progressiven Rückgang von Blutzellen und Gerinnungsparametern • Pumpengetrieben (Blutpumpe AK10[®]) 	<ul style="list-style-type: none"> • 4,5 h geschlossener Kreislauf • 2 weitere Stunden offener Kreislauf • begrenzt durch die maximal mögliche Filterlaufzeit • Pumpengetrieben (Blutpumpe AK10[®])
Filter	<ul style="list-style-type: none"> • Hämofilter HF 66D, s. Tab. 6 	<ul style="list-style-type: none"> • Hämofilter FH 6S s. Tab. 10
Grenzwerte/ Regelgrößen	<ul style="list-style-type: none"> • Maximale Filterlaufzeit/ Clotting/ Fouling/Clogging • Spontane Hämolyse • Abfall von Blutzellen/ Gerinnungsfaktoren • Überschreiten der messbaren Druckgrenzwerte mit automatischem Pumpenstopp 	<ul style="list-style-type: none"> • Maximale Filterlaufzeit/ Clotting/ Fouling/Clogging • Druckgrenzwerte nötig zur Hämolysevermeidung: TMP < 24 kPa
Flussrate	<ul style="list-style-type: none"> • Starres Flussratenprotokoll, s. Tab. 9 • Blutfluss von 75 ml/min, bis auf 200 ml/min erhöht • Filtratfluss von 15 ml/min, bis auf 40 ml/min erhöht 	<ul style="list-style-type: none"> • Kein starres Flussratenprotokoll, s. Abb. 7 • Einhaltung von Druckgrenzwerten: TMP < 24 kPa • Im offenen Modus Einstellung der Flussraten auf 200/60 ml/min, Grenzwert dabei: P_f < 8 kPa
Messzeitpunkte (Q_f/Q_b [ml/min])	<ul style="list-style-type: none"> • Baseline: 75/15 • 1: 100/15 • 2: 125/25 • 3: 150/25 • 4: 175/25 • FV: 200/40 	<ul style="list-style-type: none"> • BSnat: mit TMP < 24 kPa • BSsys: mit TMP < 24 kPa • ZM: maximale Flussrate • ZBS: 200/60 • VE: 200/60
Substitution	<ul style="list-style-type: none"> • Kochsalzlösung • Humanalbumin 20 % • Gelafundin 4 % • HES 130 6 % • HES 200 10 % 	<ul style="list-style-type: none"> • Kochsalzlösung • Humanalbumin 20 % • Gelafundin 4 % • HES 130 6 % • HES 200 10 %

Antikoagulation	<ul style="list-style-type: none"> • Im Schlachthof: 5 I.U. unfraktioniertes Heparin/ml Blut • Vor den Gerinnungstests wurde Polybrene zugefügt, um das Heparin zu antagonisieren 	<ul style="list-style-type: none"> • Vor dem Systemstart: 100 I.U. unfraktioniertes Heparin/kg KG • Während des Experimentes kontinuierliche Infusion, dosiert nach den gemessenen ACT-Werten
Gerinnungsanalytik	<ul style="list-style-type: none"> • Antagonisiertes Heparin, dadurch Gerinnungswerte ohne Heparineinfluss 	<ul style="list-style-type: none"> • Zeigt Gerinnungswerte mit Heparineinfluss
Blut	<ul style="list-style-type: none"> • 1,5 Liter Schweineblut • Hkt 0,35-0,40 [l/l] • konstant 37°C 	<ul style="list-style-type: none"> • Blut direkt vom Schwein • Hkt ~28 [l/l] • Körpertemperatur
Datenerhebung	<ul style="list-style-type: none"> • Druckprofil (TMP, P_f, P_a-P_v) • Gerinnungsparameter (aPTT, Quickwert, ATIII, Fibrinogen, D-Dimere, TAT) • Blutzellen • (Plts, Leukos, fHb, Hct) 	<ul style="list-style-type: none"> • Druckprofil (TMP, P_f, P_a-P_v) • Gerinnungsparameter (aPTT, Quickwert, ATIII, Fibrinogen, D-Dimere, TAT) • Blutzellen • (Plts, Leukos, fHb, Hct) • Hämodynamik • Lungenfunktion • Nierenfunktion • Serumchemie • Filtrat • Peritonealflüssigkeit • Organhistologie
Beeinflussung durch den Organismus	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivierung des Komplementsystems 	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivierung des Komplementsystems • Bei ablaufender Gerinnung Aktivierung gewebeständiger Faktoren/ Mediatoren aus dem Endothel • Veränderung des Blutbildes durch individuelle oder pathophysiologische Gegebenheiten

3.3.2 Soll- und Grenzwertsetzung im Protokoll

Die beiden Methoden weisen aufgrund ihrer basalen Charakteristika verschiedene Grenzwert- und Standardisierungsaspekte auf (s. Tab. 12). Das in-vitro-Protokoll wurde ohne die Setzung von Druckhöchstgrenzen erstellt. Spontane Hämolyse und das Überschreiten der Druckmessskala des CVVH-Monitors mit automatischem Pumpenstopp stellten die Grenzwerte dar. Auf diese Weise konnten die Versuche unter standardisierten Flussratenprotokollen erfolgen. Die resultierenden Druckmesswerte des Systems lagen als Ergebnis vor. In-vivo hingegen konnte keine spontane Hämolyse toleriert werden, da dies seinerseits eine kaskadenartige Reaktion hervorgerufen hätte, die nicht im Zentrum des Interesses stand. Daher wurde in Anlehnung an die klinische Anwendungssicherheit mit Druckgrenzwerten gearbeitet, und die Relation der Flussraten zur Filtrationsleistung stellte das Ergebnis dar. Durch eine entsprechende Relationssetzung der in-vitro-Daten war jedoch ein Vergleich des Gruppenrankings von in-vitro zu in-vivo möglich.

3.4 Statistische Auswertung

Ein statistischer Vergleich von realen Messwerten zwischen den in-vitro- und den in-vivo-Ergebnissen war aufgrund unterschiedlicher Modellkomponenten nicht sinnvoll durchführbar. Zum Beispiel bedingten verschiedene Hämatokritwerte oder Heparindosierungen in-vitro und in-vivo zwangsläufig unterschiedliche Strömungswiderstände in der Filterkapillare, was wiederum verschiedene Druckniveaus zur Folge hatte. Demzufolge konnten statistische Vergleiche nur innerhalb der jeweiligen Modelle durchgeführt werden.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm Sigma Stat 3.1. Der Vergleich der Versuchsgruppen untereinander wurde mit dem nicht parametrischen Kruskal-Wallis Test durchgeführt. Als statistisch signifikant wurden Unterschiede bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ definiert. Bei signifikanten Unterschieden wurde zum Vergleich einzelner Gruppen der Mann-Whitney Rank Sum Test angewendet.

Zur Analyse der Korrelation zwischen Hämatokrit und Thrombozyten und der Korrelation zwischen Hämatokrit und Leukozyten wurde der Spearman Rank Order Correlation Test durchgeführt. In den entsprechenden in-vitro- und in-vivo-Diagrammen wurden die Mediane der Hämatokritwerte den Medianen der Thrombozyten- bzw. Leukozytenwerte gegenübergestellt um den Verlauf der Messergebnisse klarer darstellen zu können. In diesem Fall wurde die Skalierung der Diagramme nicht aufeinander abgestimmt, da unterschiedliche Hämatokritwerte am Versuchsanfang vorlagen.

Die Messergebnisse wurden in den meisten Fällen in Form von Box Plot Diagrammen mit Hilfe des Programms Sigma Plot 8.0 dargestellt. Zu den Druckmesswerten stellen die farbigen Boxen in den Diagrammen den IQR (Inter quartile range) zwischen dem ersten und dem dritten Quartil mit dem jeweiligen Median dar. Zusätzlich wurden das Minimum, das Maximum und die Standardabweichungen gezeigt. Bei allen anderen Messwerten decken die Boxen 95 % aller Messwerte ab. Das in-vitro- und das in-vivo-Ranking in Kapitel 4.4, Tab. 17, sowie das Ranking in Kapitel 5.2.2, Tab. 18, wurde anhand der statistischen Tests erstellt. Dabei wurde der Range-, Maximum-, Minimum- und Medianwert hinzugezogen.

Werden in Anh. 9 in Tab. 21 bis Tab. 55 Messergebnisse mit mv (missing value) angegeben, konnten in diesen Fällen aufgrund von labortechnischen Fehlern die Werte nicht ermittelt werden.

4 ERGEBNISSE

4.1 Druckverhältnisse

In beiden Modellen wurden der Blutfluss Q_b , der Filtratfluss Q_f , der Filtratdruck P_f , der transmembranäre Druck (TMP) und der Druckabfall über den Filter P_a - P_v ermittelt. Die Messergebnisse werden bei den Flussraten Q_b/Q_f [ml/min] 75/15, 125/25 und 200/40 gezeigt, da diese in-vitro und in-vivo übereinstimmen.

4.1.1 Transmembranärer Druck

Der transmembranäre Druck (TMP) resultiert aus den gemessenen Druckwerten (P_a , P_v und P_f , s. Kap. 2.2) und der sich entwickelnden Flussdynamik im Filter während der Hämofiltration. In-vitro ergaben sich für die HES 130-Gruppe niedrige TMP-Werte mit geringen Standardabweichungen, in der NaCl-Gruppe wurden hingegen extrem große Abweichungen vom Standard gemessen. In-vivo zeigte vor allem die HES 200-Gruppe eine große Schwankungsbreite der gemessenen Werte, während die ALB-, GEL- und die HES 130-Gruppe konstantere Werte aufweisen (s. Abb. 10).

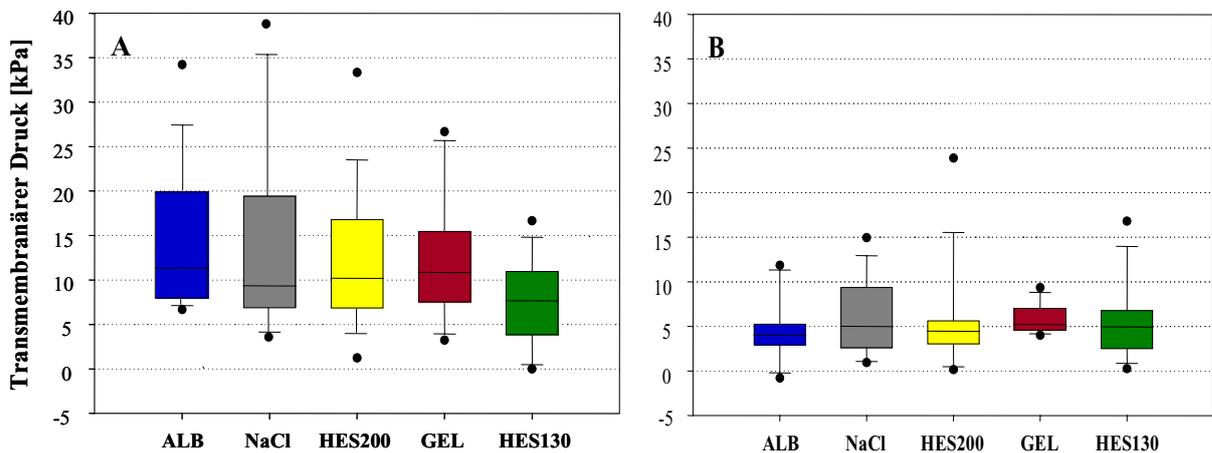


Abb. 10: Einfluss der verschiedenen Infusionsgruppen auf den transmembranären Druck, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40; (A = in-vitro; B = in-vivo)

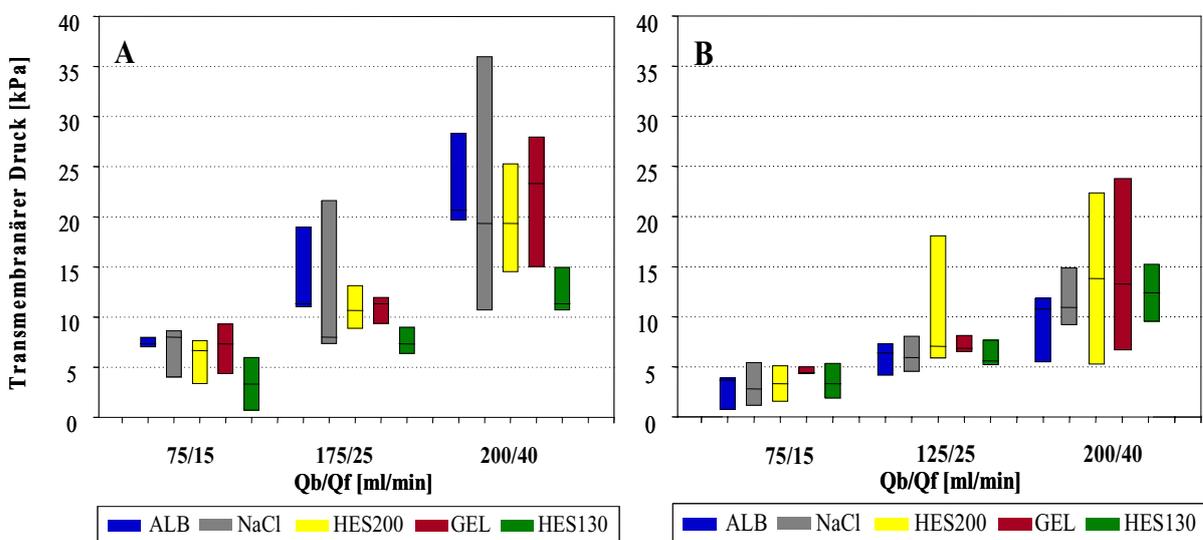


Abb. 11: Einfluss der verschiedenen Infusionsgruppen auf den transmembranären Druck in Abhängigkeit von den Flussraten Q_b und Q_f (A = in-vitro; B = in-vivo)

In-vitro zeigt sich bei drei unterschiedlich eingestellten Flussraten das gleiche Muster für die fünf Infusionstypen (s. Abb. 11). In-vivo dagegen kam es bei verschiedenen Flussraten zu unterschiedlichen Rängen zwischen den Substitutionsgruppen. Vor allem in der HES 200-Gruppe kommt es bei hohen Flussraten zu einer ausgeprägten Schwankungsbreite des TMP mit signifikant hohen Medianwerten, was bei einer Flussrate von 75/15 ml/min nicht absehbar war. Bei der HES 130-Gruppe hingegen wurden im Bereich der hohen Flussraten konstante Werte mit relativ niedrigem Median gemessen.

4.1.2 Druck im Filtratkompartiment

Der Druck im Filtratkompartiment des Filters, der so genannte Filtratdruck P_f ist bei einer fest eingestellten Filtratflussrate ein indirekter Parameter für den Nettofiltratfluß.

In-vitro wurden bei der NaCl-Gruppe hohe Standardabweichungen bei einem niedrigen Median gemessen. In-vivo fallen die gemessenen P_f -Werte der HES 130-Gruppe durch konstante Messwerte mit geringen Standardabweichungen auf.

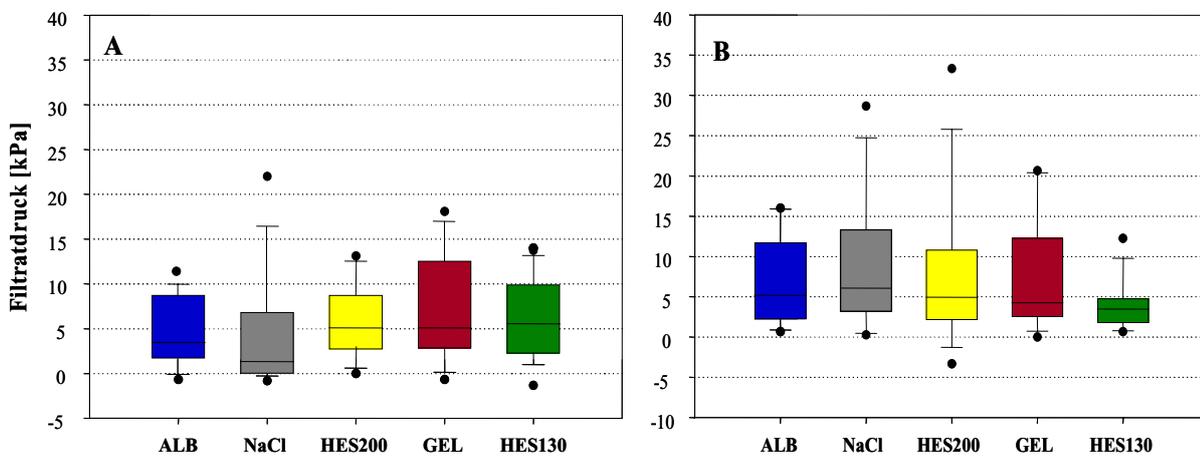


Abb. 12: Einfluss der verschiedenen Infusionsgruppen auf den Filtratdruck, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40; (A = in-vitro; B = in-vivo)

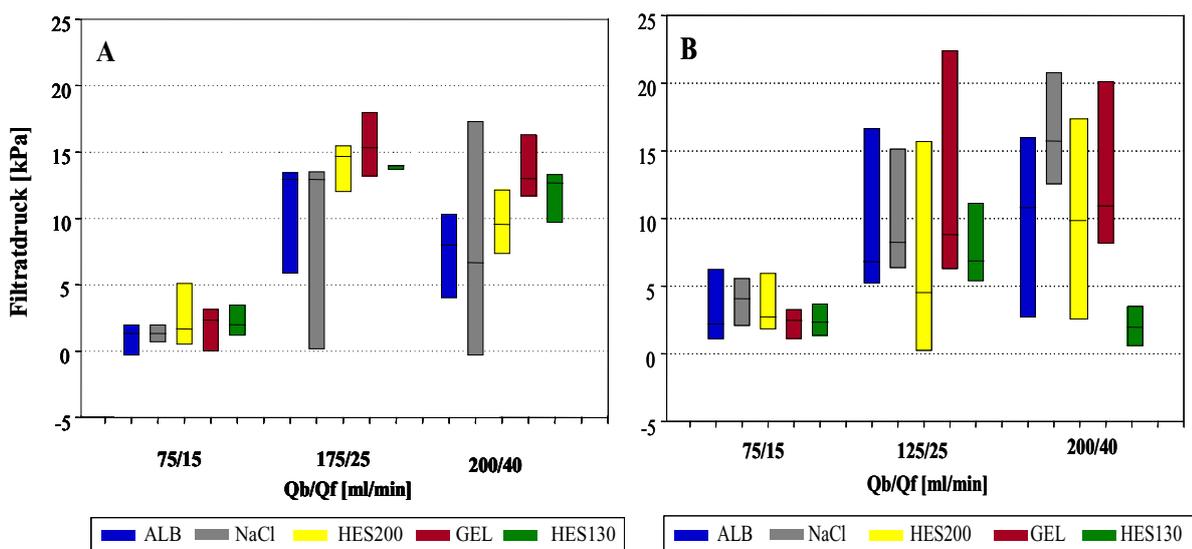


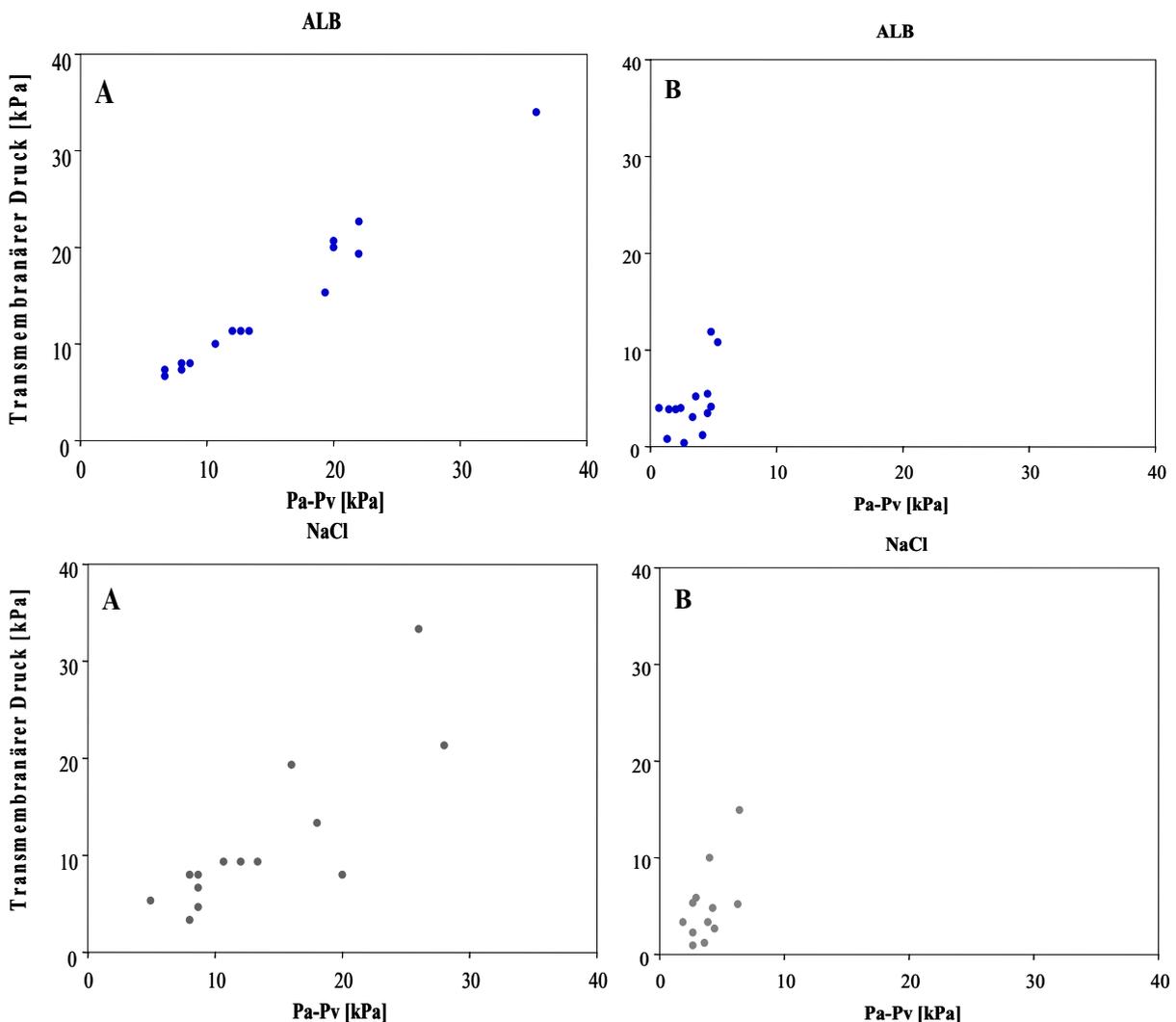
Abb. 13: Einfluss der verschiedenen Infusionsgruppen auf den Filtratdruck in Abhängigkeit von den Flussraten Q_b und Q_f (A = in-vitro; B = in-vivo)

Auch wenn in-vitro Schwankungen bei den unterschiedlich eingestellten Flussraten zu erkennen sind, zeigen die jeweiligen Medianwerte eine ähnliche Verteilung innerhalb der Infusionsgruppen (s. Abb. 13). In-vivo ergaben sich vor allem in Abhängigkeit von den Flussraten unterschiedliche P_T -Werte. Auch wenn die Tendenzen schon während mittlerer Flussraten zu erkennen waren, wurden die Divergenzen zwischen den einzelnen Gruppen im Bereich der hohen Flussraten immer deutlicher. Auffallend waren dabei die hohen Standardabweichungen der HES 200- und der ALB-Gruppe, die sich im Bereich der hohen Flussraten verstärkten.

4.1.3 Druckabfall über das Filterkompartiment

Beim direkten Vergleich der in-vitro- mit den in-vivo-Ergebnissen der Diagramme P_a - P_v versus TMP, also dem Druckabfall über das Filterkompartiment, ergaben sich bei allen Substitutionsgruppen drei prinzipielle Veränderungen:

- insgesamt war die resultierende Ausgleichsgerade der Punktwolken bei allen Substitutionsgruppen in-vivo steiler als in-vitro, der TMP also größer als der Druckabfall
- der Druckabfall über das Filterkompartiment (P_a - P_v) war in den in-vitro-Versuchen mit bis zu 40 kPa größer als in den in-vivo-Versuchen mit maximal 10 kPa
- die TMP-Werte lagen im Durchschnitt bei den in-vitro-Versuchen höher als in den in-vivo-Versuchen



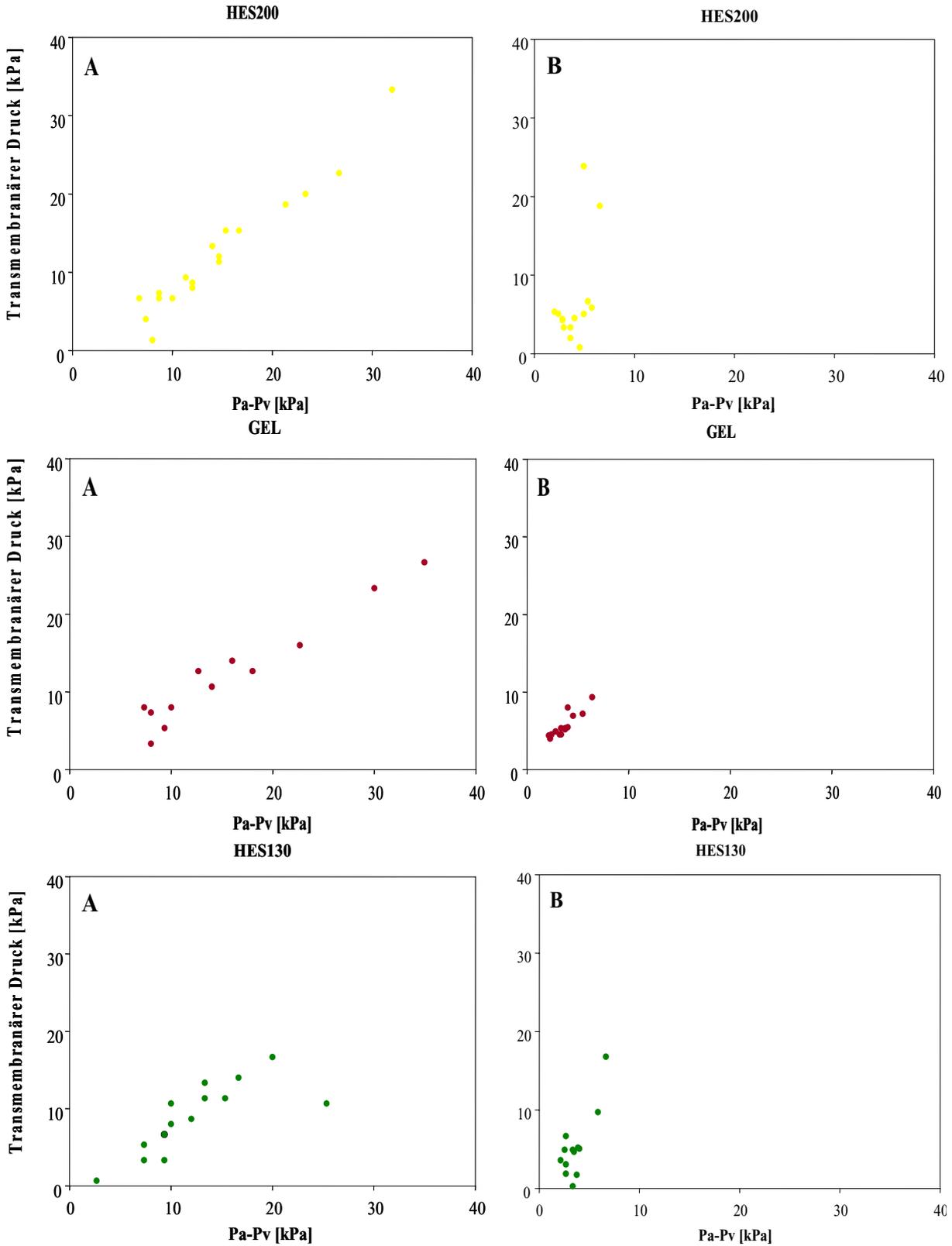


Abb. 14: Einfluss der verschiedenen Infusionsgruppen ALB, NaCl, HES 200, GEL und HES 130 auf die Druckentwicklung am Filter: Gegenüberstellung des transmembranären Drucks (TMP) gegen den Druckabfall über den Filter ($P_a - P_v$) gemessen bei unterschiedlich eingestellten Flussraten (Q_b/Q_f) [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40 (A = in-vitro; B = in-vivo)

Bei den mit ALB, NaCl und HES 200 substituierten Gruppen zeigten sich in-vitro in der Abb. 14 vereinzelt sehr hohe TMP-Werte (s. Abb. 10) sowie ein deutlicher Druckabfall über den Filter, also hohe P_a - P_v -Werte.

Auffallend bei der HES 130-Gruppe war, dass sich die meisten der in-vivo gemessenen TMP-Werte auf einem ähnlichen Niveau zwischen 0 kPa und 10 kPa befanden. Das bedeutet, dass der transmembranäre Druck bei dieser Gruppe im niedrigen Bereich relativ konstant blieb. Bei der mit GEL substituierten Gruppe kam es in den in-vitro-Versuchen in zwei Fällen zu hohen P_a - P_v -Werten, die in-vivo-Ergebnisse zeigten maximale TMP-Werte bis ca. 10 kPa (s. Abb. 10).

4.2 Hämkompatibilität: Gerinnung / Plasmatische Faktoren

In beiden Modellen wurde die aktivierte Prothrombinzeit (aPTT), der Quickwert, die Fibrinogenkonzentration, die D-Dimere, Antithrombin III (AT III) und die Thrombin-Antithrombin-Komplexe (TAT) ermittelt. Die Messergebnisse werden bei den Flussraten Q_b/Q_f [ml/min] 75/15, 125/25 und 200/40 gezeigt, da diese in-vitro und in-vivo übereinstimmten. Ausschließlich im in-vivo-System wurde der Heparinverbrauch gemessen.

4.2.1 Aktivierte Prothrombinzeit

Wie in Abb. 15 für die in-vitro-Messungen ersichtlich ist, ergaben sich bei der ALB-Gruppe sehr konstante Werte, gefolgt von der HES 130-Gruppe, die eine etwas aktivierte Gerinnung (Werte knapp unter den 100% des Ausgangswertes), aber ebenfalls sehr beständige Werte aufwies. Der Median der NaCl-Gruppe blieb zwar auf den Ausgangswert bezogen sehr konstant, es kam in dieser Gruppe jedoch zu deutlichen Abweichungen einzelner Werte vom Ausgangswert. Die HES 200- und die GEL-Gruppe zeigten gegenüber dem Ausgangswert einen deutlich veränderten Median (Median deutlich unter 100%) und eine großen Schwankungsbreite der Messwerte.

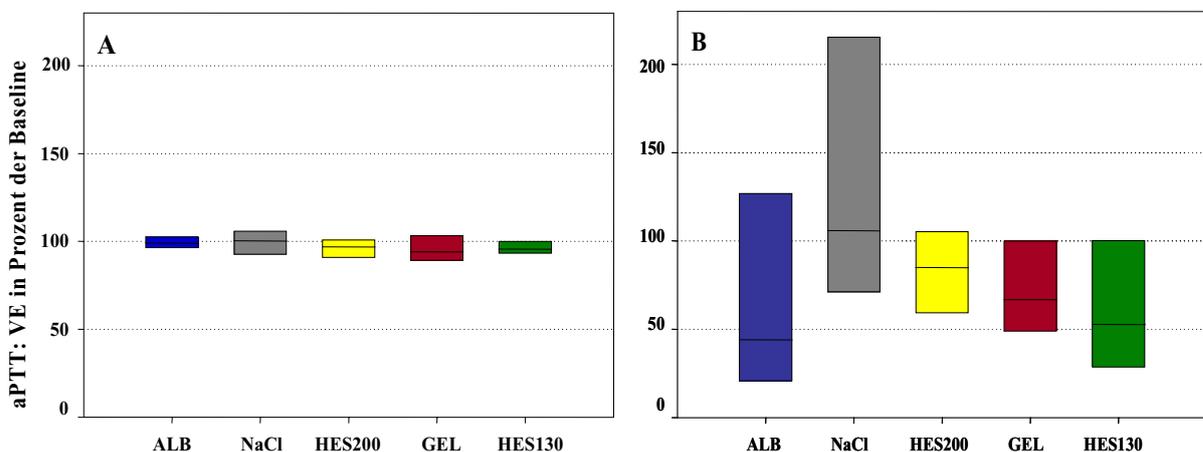


Abb. 15: Aktivierte partielle Thromboplastinzeit, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40; die Messergebnisse werden als VE in Prozent der Baseline angegeben; Werte unter 100% zeigen eine Gerinnungsaktivierung (A = in-vitro; B = in-vivo)

In-vivo kam es mit Ausnahme der NaCl-Gruppe bei allen anderen Gruppen zu einer deutlich aktivierten intravasalen Gerinnung (s. Abb. 15).

Tab. 13: Einfluss der Versuchsdurchführung auf die aPTT-Werte in-vivo

aPTT [s], Mediane ± Standard- abweichung	native Werte ohne Heparin	Werte nach Systemanschluss, Infusions- und Heparinbolus	Werte nach 6 Stunden CVVH
ALB	41,7 ± 3,3	199,6 ± 93,5	60,3 ± 26,1
NaCl	37,1 ± 11,2	121,9 ± 34,6	96,1 ± 63,0
HES 200	38,1 ± 10,7	162,0 ± 69,9	129,9 ± 65,7
GEL	39,9 ± 2,8	154,2 ± 58,4	79,5 ± 91,4
HES 130	44,7 ± 4,4	148,3 ± 55,7	104,0 ± 44,6

Bei alle Infusionsgruppen führten die Dilution und der Heparinbolus zu einer Verzögerung der Gerinnung, welche über die folgenden 6 h der CVVH rückläufig war, trotz der Vollblut adaptierten (ACT-Werte) Heparin-gabe (s. Tab. 13). Da bei der ALB-, NaCl- und GEL-Gruppe die aPTT-Werte am Ende des Versuchs trotz der kontinuierlichen Heparinisierung am niedrigsten ausfielen, ist bei diesen Gruppen mit der stärksten Gerinnungsaktivierung und dadurch mit dem größten Verlust der Faktoren zu rechnen.

4.2.2 Quickwert

In-vitro wurden trotz der Konzentrierung der Gerinnungsfaktoren durch die Probenentnahmen niedrigere Quickwerte, also eine weniger aktivierte extravasale Gerinnung als zu Beginn des Versuchs gemessen.

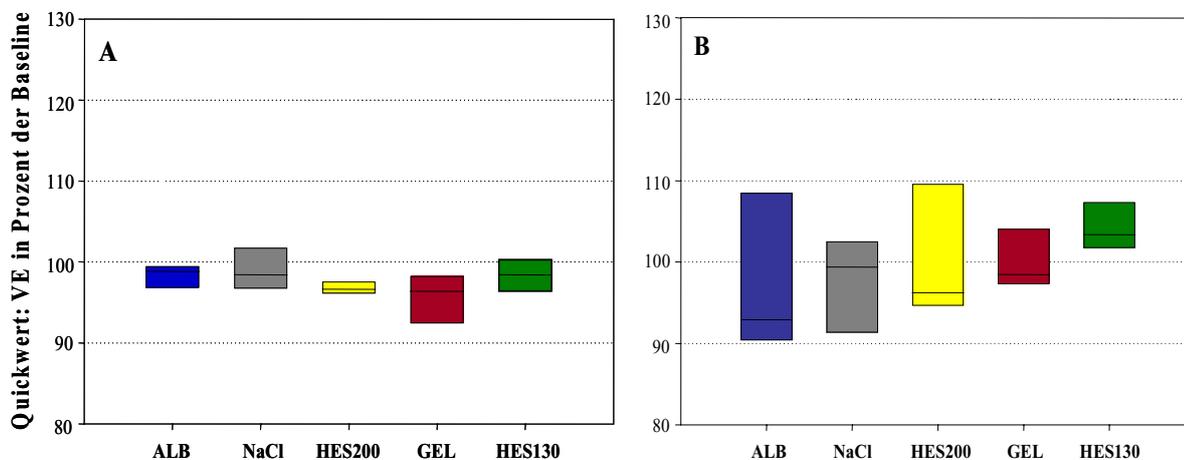


Abb. 16: Quickwert, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25, 200/40; die Messergebnisse werden als VE in Prozent der Baseline angegeben; Werte über 100% zeigen eine Gerinnungsaktivierung (A = in-vitro; B = in-vivo)

Auffallend beim Vergleich der Ergebnisse ist, dass HES 130 sowohl in-vitro wie auch in-vivo den höchsten Median hatte, also die deutlichste Gerinnungsaktivierung des extravasalen Gerinnungsschenkels. In-vivo kam es ausschließlich bei der mit HES 130 substituierten Gruppe im Lauf des Versuchs zu einer deutlichen Aktivierung der Gerinnung.

Tab. 14: Einfluss der Versuchsdurchführung auf den Quick-Wert in-vivo

Quickwert [%],Mediane ± Standardabweichung	native Werte ohne Heparin	Werte nach Systemanschluss, Infusions- und Heparinbolus	Werte nach 6 Stunden CVVH
ALB	96,5 ± 6,2	95 ± 8,2	91 ± 14,5
NaCl	98,5 ± 3,5	91 ± 3,9	89 ± 4,1
HES 200	101 ± 3,9	89 ± 6,8	85 ± 8,5
GEL	103 ± 8,7	89 ± 7,2	87 ± 6,4
HES 130	102 ± 4,6	90 ± 5,5	92 ± 4,7

Durch den Dilutionseffekt wurde die Gerinnungsaktivierung in allen Infusionsgruppen verzögert. Ausschließlich bei der HES 130-Gruppe kam es innerhalb der folgenden 6 h zu einer leichten Erholung der Werte, obwohl in dieser Gruppe am wenigsten Heparin gemäß den Protokollanforderungen benötigt wurde.

4.2.3 Fibrinogenkonzentration

Trotz kleinerer Unterschiede (der in-vivo-Median der HES 200- und der ALB-Gruppe fiel niedriger aus als in-vitro) lässt sich eine gemeinsame Tendenz zwischen dem in-vitro- und dem in-vivo-Diagramm zur Fibrinogenkonzentration in Abb. 17 erkennen. Bei der HES 130-Gruppe kam es zu dem geringsten Fibrinogenverbrauch während des Versuchs. Die GEL-Gruppe zeigt in-vitro und in-vivo zusammen mit der ALB-Gruppe in-vivo den höchsten Fibrinogenverbrauch während des Versuchs.

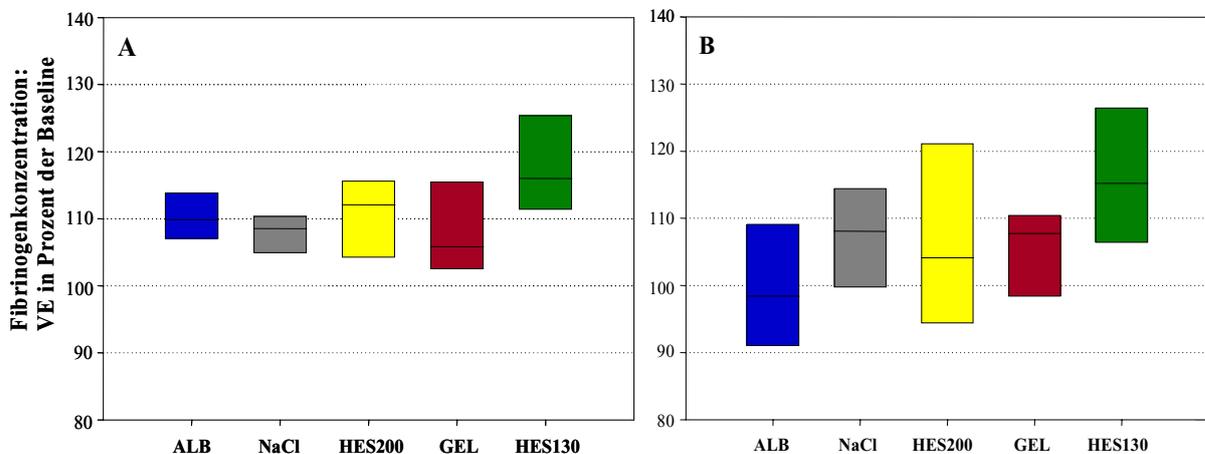


Abb. 17: Fibrinogenkonzentration, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40; die Messergebnisse werden als VE in Prozent der Baseline angegeben (A = in-vitro; B = in-vivo)

Tab. 15: Einfluss des Versuchprotokolls auf die Fibrinogenwerte in-vivo

Fibrinogen [µmol/l], Mediane ± Standard- abweichung	native Werte ohne Heparin	Werte nach Infusions- und Heparinbolus	Werte nach 6 Stunden CVVH
ALB	4,3 ± 0,4	4,2 ± 0,5	3,9 ± 0,3
NaCl	4,3 ± 0,4	3,9 ± 0,5	4,2 ± 0,6
HES 200	3,9 ± 0,7	3,8 ± 0,6	4,1 ± 0,7
GEL	4,3 ± 0,5	3,7 ± 0,4	4,0 ± 0,5
HES 130	4,1 ± 0,5	3,8 ± 0,5	4,1 ± 0,4

In Tab. 15 wird deutlich, dass einzig bei der ALB-Gruppe die Fibrinogenkonzentration während der CVVH noch weiter absank, während sich die Konzentration der anderen Gruppen während der CVVH fast wieder dem Ausgangswert des Blutes vor der Infusions- und Heparinzugabe näherte.

4.2.4 D-Dimere

In-vivo wurden bei der ALB-Gruppe zum Teil sehr hohe D-Dimerwerte gemessen, bei der HES 200-Gruppe hingegen wurde eine sehr niedrige D-Dimer-Konzentration gemessen.

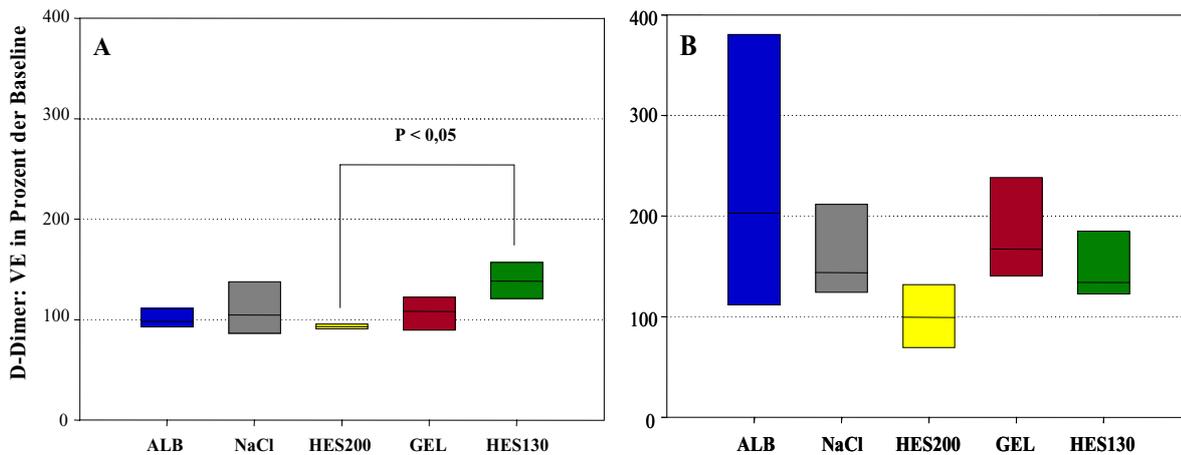


Abb. 18: D-Dimere, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40; im in-vitro-Diagramm weisen die Mediane in der HES 200- und HES 130-Gruppe eine statistisch signifikante Differenz von $p < 0,05$ auf (A = in-vitro; B = in-vivo)

4.2.5 Antithrombin III

Im in-vitro-System wurden AT III-Werte über hundert Prozent des Ausgangswertes gemessen. In-vivo kam es zu einem Absinken der AT III-Werte. Es zeigte sich zwischen dem in-vitro- und dem in-vivo-Diagramm eine ähnliche Verteilung der Mediane. Während in beiden Modellen bei den beiden HES-Gruppen die höchsten AT III-Werte gemessen wurden, kam es in-vivo bei den drei restlichen Infusionsgruppen zu einem deutlichen Abfall der Werte.

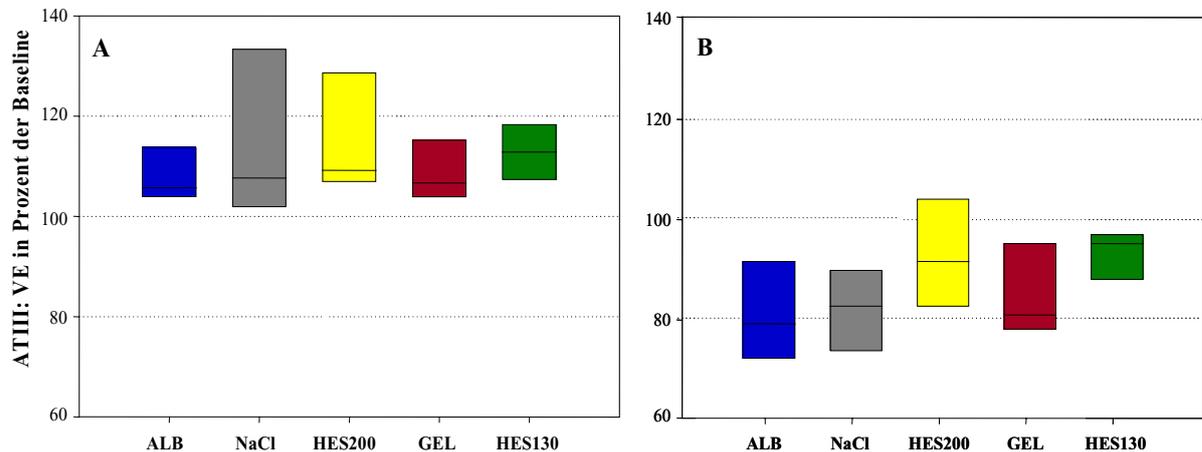


Abb. 19: Antithrombin III gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40 (A = in-vitro; B = in-vivo)

In beiden Systemen lagen bei aktivierter extravasaler Gerinnung (Quickwert) die AT III-Konzentrationen in der mit HES 130 substituierten Gruppe am höchsten. Die Tab. 16 zeigt, dass der Infusions- und Heparinbolus bei der NaCl-Gruppe die geringsten Veränderungen im Vergleich zum Ausgangswert bewirkte, die AT III-Konzentration jedoch am Ende der CVVH bei der ALB-, GEL- und HES 200-Gruppe am niedrigsten ausfiel.

Tab. 16: Einfluss der Versuchsdurchführung auf die AT III-Werte in-vivo

ATIII [%], Mediane ± Standard- abweichung	native Werte ohne Heparin	Werte nach Infusions- und Heparinbolus	Werte nach 6 Stunden CVVH
ALB	101 ± 8,4	81 ± 2,2	64,5 ± 7,5
NaCl	100 ± 14,7	90 ± 9,9	73,5 ± 13,9
HES 200	102 ± 10,5	79 ± 9,5	66 ± 14,7
GEL	98,5 ± 9,0	82 ± 9,8	65,5 ± 3,3
HES 130	96,5 ± 13,2	81,5 ± 13,1	76 ± 16,6

4.2.6 Thrombin-Antithrombin-Komplex

Im in-vitro-Modell kam es durch die entnommenen Filtratproben zu dem erwarteten Anstieg der TAT-Komplexe über den Ausgangswert. Nur in der ALB-Gruppe wurde trotz der Konzentrierung ein Rückgang der TAT-Komplexe gemessen.

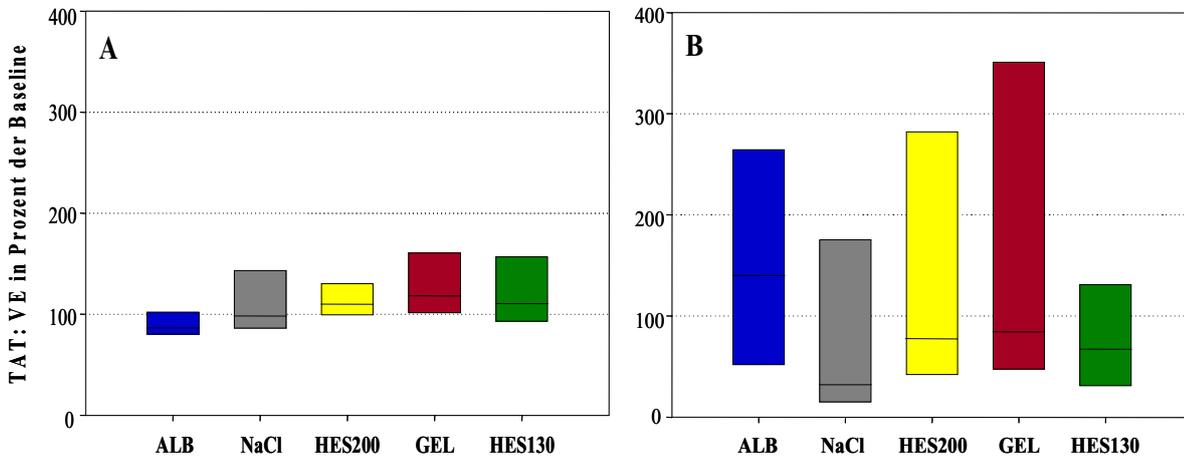


Abb. 20: Thrombin-Antithrombinzeit, in-vitro und in-vivo gemessen bei BSnat und VE (A = in-vitro; B = in-vivo)

In-vivo nahm die Anzahl der TAT-Komplexe mit Ausnahme der ALB-Gruppe ab. Bis auf die HES 130-Gruppe kam es in-vivo bei allen Gruppen zu einer großen Schwankungsbreite der Messwerte.

4.2.7 Heparinverbrauch in-vivo

Bei der Substitution mit HES 130 wurde während des gesamten Versuches am wenigsten Heparin benötigt. Auch bei der ALB-Gruppe konnte vor allem am Versuchsende Heparin eingespart werden. Die NaCl-Gruppe benötigte am meisten Heparin um die ACT-Werte in dem vorgegebenen Grenzbereich zu halten.

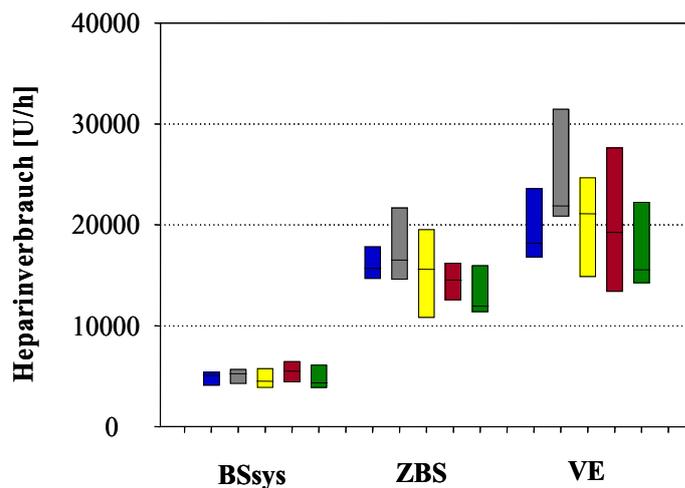


Abb. 21: Heparinverbrauch im in-vivo-System, gemessen bei BSsys, ZBS und VE (A = in-vitro; B = in-vivo)

4.3 Hämokompatibilität: Blutzellen

Bezüglich der Blutzusammensetzung bestand ein wesentlicher Unterschied zwischen dem in-vitro- und dem in-vivo-Modell: der Hämatokrit lag bei den in-vivo-Versuchen im Mittel deutlich niedriger (~ 28 %) als in den in-vitro-Versuchen (~ 35 %).

4.3.1 Hämatokrit

Durch die Konzentrierung nichtfiltrierter Blutbestandteile aufgrund entnommener Filtratproben kam es im geschlossenen in-vitro-System zusätzlich zu dem hohen Ausgangswert zu einem Anstieg des Hämatokrits (s. Abb. 22). Bei der Substitution mit NaCl stieg der Hämatokritwert in-vitro deutlich über die bei den anderen Infusionen gemessenen Werte an.

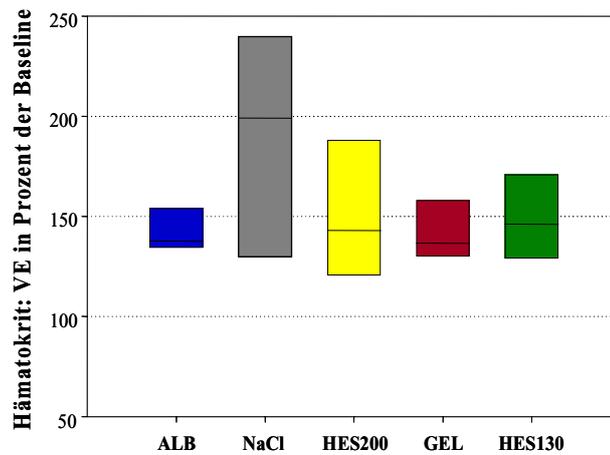


Abb. 22: Hämatokrit in-vitro, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40

Bei den beiden HES-Gruppen waren in-vivo die Hämatokritwerte jeweils am höchsten, bei den drei anderen Infusionsgruppen dagegen deutlich niedriger.

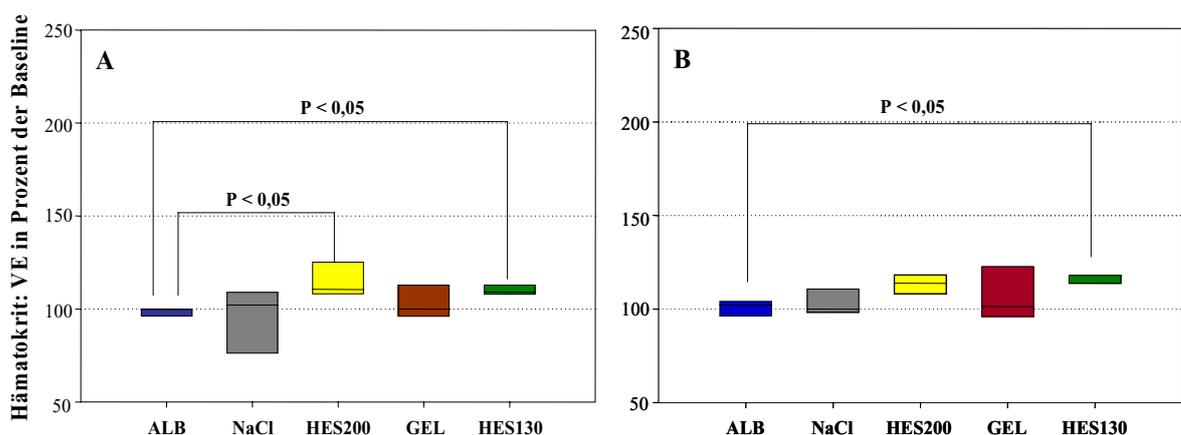


Abb. 23: Hämatokrit in-vivo (A = gemessen von BSnat – VE, B = gemessen von BSsys – VE); im Diagramm A weisen die Mediane der Hämatokritwerte aller Gruppen eine statistisch signifikante Differenz mit $p < 0,05$ auf, sowohl die HES 200 und die ALB wie auch die HES 130 und die ALB Gruppe zeigen Differenzen mit $p < 0,05$; im Diagramm B weisen die Mediane aller Hämatokritwerte eine statistisch signifikante Differenz mit $p < 0,05$ auf; die HES 130 und die ALB Gruppe zeigen eine Differenz mit $p < 0,05$.

Diagramm A zeigt den Einfluss des gesamten Versuchablaufs auf den Hämatokritwert, Diagramm B zeigt ausschließlich den Einfluss der Hämofiltration auf den Hämatokritwert. Im Vergleich des in-vitro-Diagramms mit den in-vivo-Diagrammen fällt auf, dass sich mit Ausnahme der NaCl-Gruppe innerhalb der Infusionslösungen annähernd das gleiche Ranking ergab.

4.3.2 Freies Hämoglobin

Im in-vitro-System lagen die fHb-Werte am Versuchsende über den hundert Prozent des Ausgangswertes.

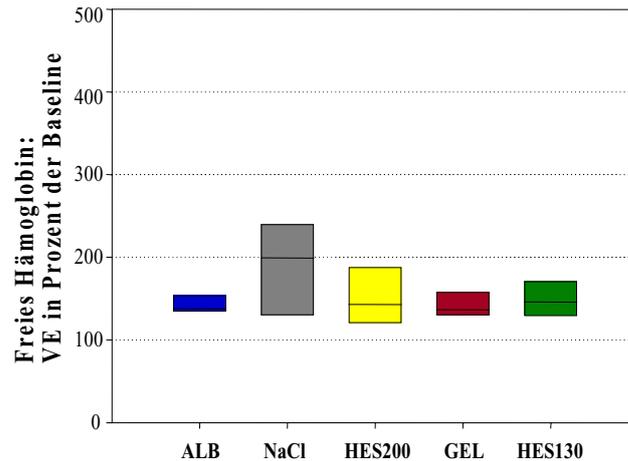


Abb. 24: Freies Hämoglobin in-vitro, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40

Im Vergleich der in-vitro-Ergebnisse fällt auf, dass bei der NaCl Gruppe sowohl die höchsten Hämatokrit- (Abb. 22) wie auch die höchsten freien Hämoglobinwerte (s. Abb. 24) gemessen wurden. Auch die Ergebnisse der anderen Gruppen stimmen in-vitro in den beiden Diagrammen sehr gut überein.

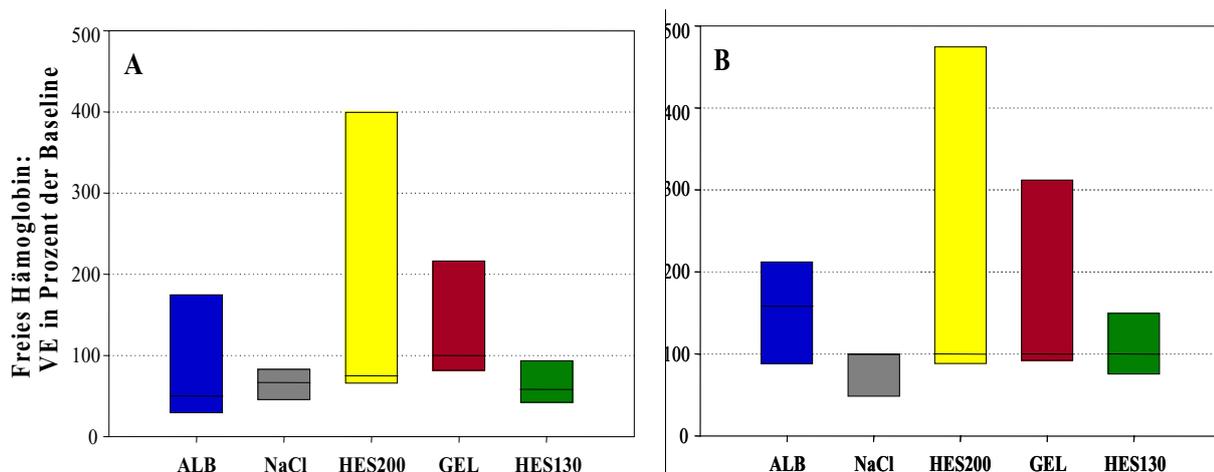


Abb. 25: Freies Hämoglobin in-vivo (A = gemessen von BSnat – VE, B = gemessen von BSsys – VE)

Diagramm A zeigt den Einfluss des gesamten Versuchablaufs auf den freien Hämoglobinwert, Diagramm B zeigt ausschließlich den Einfluss der Hämofiltration auf den freien Hämoglobinwert. In-vivo stiegen die gemessenen Werte vor allem in der HES 200- und

GEL-Gruppe zum Teil deutlich über den Ausgangswert an, wie in Abb. 25 zu erkennen ist. Im Gegensatz dazu fielen in den mit HES 130, ALB und NaCl substituierten Gruppen die fHb-Werte im Lauf des Versuchs ab. Wie beim Hämatokrit wurden auch hier zum Vergleich zwei Diagramme A und B in Abb. 25 dargestellt. Daran ist zu erkennen, dass es vor allem in der ALB-Gruppe zu unterschiedlichen Messergebnissen kam: über die gesamte Versuchszeit (Diagramm A) wurde ein Abfall der fHb-Werte bei dieser Infusionslösung gemessen, nach Anschluss des Systems wurde ein Anstieg gegenüber dem Ausgangswert gemessen.

4.3.3 Thrombozyten

Im in-vitro-Versuch sank die Anzahl der Thrombozyten unter den Anfangswert (s. Abb. 26). Dies war am deutlichsten bei der ALB-Gruppe. Die Mediane der HES- und der GEL-Gruppe veränderten sich in Bezug auf den Ausgangswert kaum.

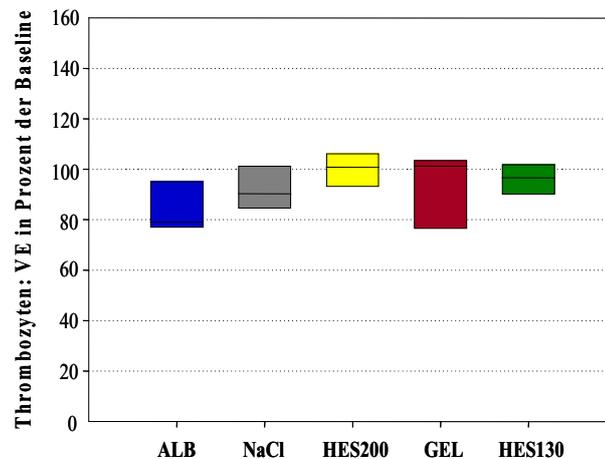


Abb. 26: Thrombozyten in-vitro, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40

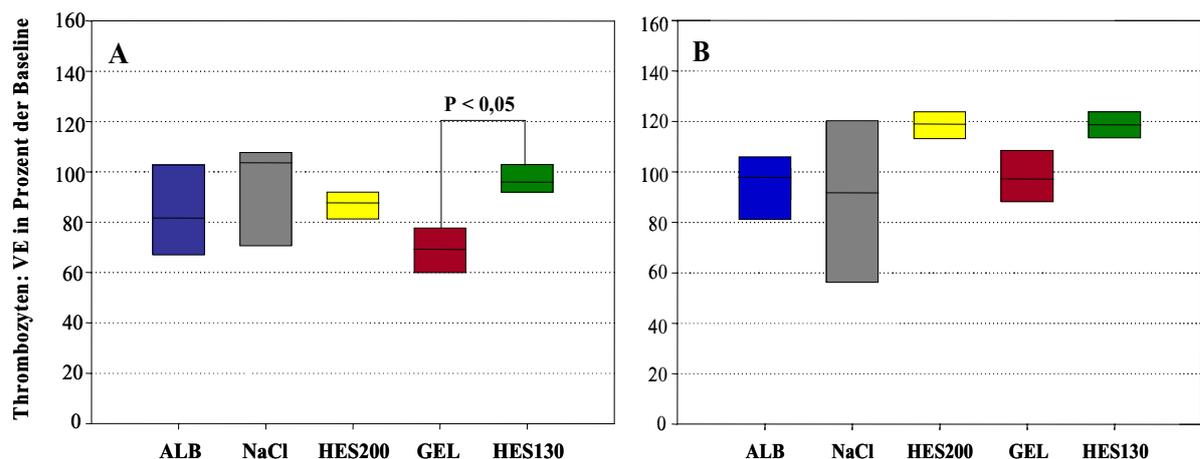


Abb. 27: Thrombozyten in-vivo (A = gemessen von BSnat – VE, B = gemessen von BSsys – VE); im Diagramm A weisen die Mediane der Thrombozytenzahlen aller Gruppen eine statistisch signifikante Differenz mit $p < 0,05$ auf, die HES 130 und die GEL Gruppe zeigen eine Differenz mit $p < 0,05$; im Diagramm B weisen die Mediane der Thrombozytenzahlen aller Gruppen eine statistisch signifikante Differenz mit $p < 0,05$ auf.

Diagramm A zeigt den Einfluss des gesamten Versuchablaufs auf die Thrombozytenzahl, Diagramm B zeigt ausschließlich den Einfluss der Hämofiltration auf die Thrombozytenzahl. In-vivo variieren die Werte gegenüber dem Ausgangswert stark. So kam es in-vivo bei den beiden HES-Gruppen zu einem Anstieg der zirkulierenden Thrombozyten (s. Abb. 27). In der ALB-, NaCl- und GEL-Gruppe waren die Thrombozytenzahlen in-vivo gegenüber dem Anfangswert rückläufig. Verglichen mit den Messergebnissen des Hämatokritwerts ist eine Übereinstimmung zwischen den Diagrammen Abb. 23 und Abb. 27 erkennbar. In Abb. 28 werden die gemessenen Thrombozytenzahlen dem Hämatokritwert zum identischen Versuchszeitpunkt gegenübergestellt.

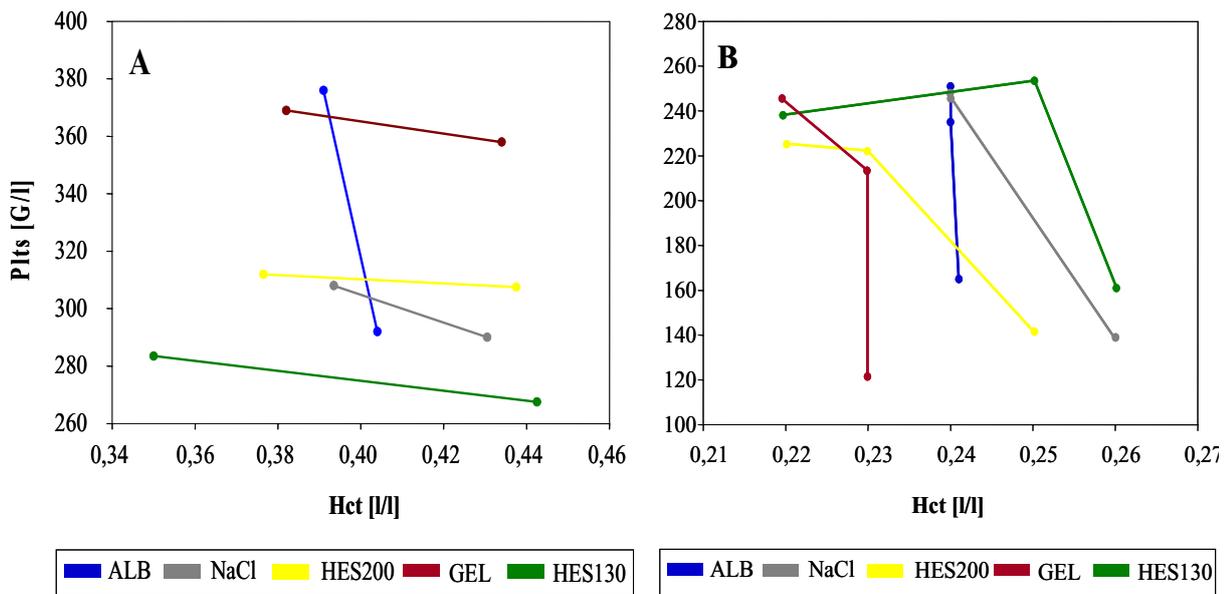


Abb. 28: Gegenüberstellung der Mediane der Thrombozytenzahlen und der Hämatokritwerte (A = in-vitro, gemessen bei BS und VE; B = in-vivo, gemessen bei BSsys, ZBS und VE). Ein steiler Geradenverlauf zeigt einen starken Abfall der Thrombozyten bei geringfügig steigendem Hämatokritwert.

In beiden Diagrammen sinken die Thrombozytenwerte bei steigendem Hämatokrit. In-vitro kam dies vor allem in der ALB- und ebenfalls etwas ausgeprägter als bei den anderen Infusionstypen in der NaCl-Gruppe vor. In-vivo ist der deutliche Abfall der Thrombozytenwerte ebenfalls in der ALB- und in der NaCl, jedoch auch in der GEL-Gruppe zu sehen. Bei den beiden HES-Gruppen kam es zu einem geringeren Abfall der Thrombozytenwerte bei steigendem Hämatokrit als bei den anderen Infusionsgruppen.

4.3.4 Leukozyten

Trotz der zu erwartenden Konzentrierung der Blutzellen durch die entnommenen Filtratproben kam es in-vitro bei vier der fünf Infusionsgruppen zu einem Abfall der Leukozytenzahlen (s. Abb. 29).

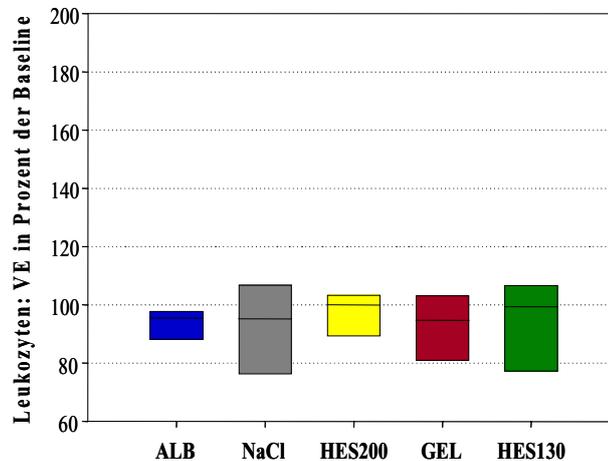


Abb. 29: Leukozyten in-vitro, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40

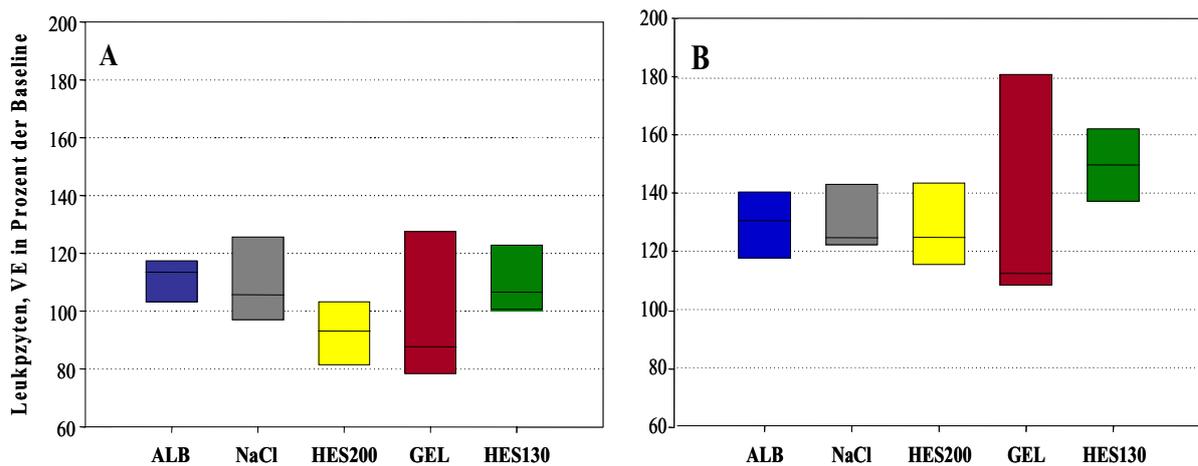


Abb. 30: Leukozyten in-vivo (A = gemessen von BSnat – VE, B = gemessen von BSsys – VE);

Diagramm A zeigt den Einfluss des gesamten Versuchablaufs auf die Leukozytenzahl, Diagramm B zeigt ausschließlich den Einfluss der Hämofiltration auf die Leukozytenzahl. Im in-vivo-Modell zeigten sich steigende Leukozytenzahlen während der Versuchsdauer. Der Anstieg war bei der mit HES 130 substituierten Gruppe am deutlichsten (s. Abb. 30). Auch bei den Leukozytenzahlen zeigen die beiden in-vivo-Diagramme die unterschiedlichen Ergebnisse bei abweichenden Messzeiträumen. Die Unterschiede liegen bei den Leukozyten jedoch vor allem in der Wertigkeit und nicht in den Differenzen innerhalb der Gruppen. In Abb. 31 werden die Leukozytenzahlen dem Hämatokritwert zum identischen Versuchszeitpunkt gegenübergestellt.

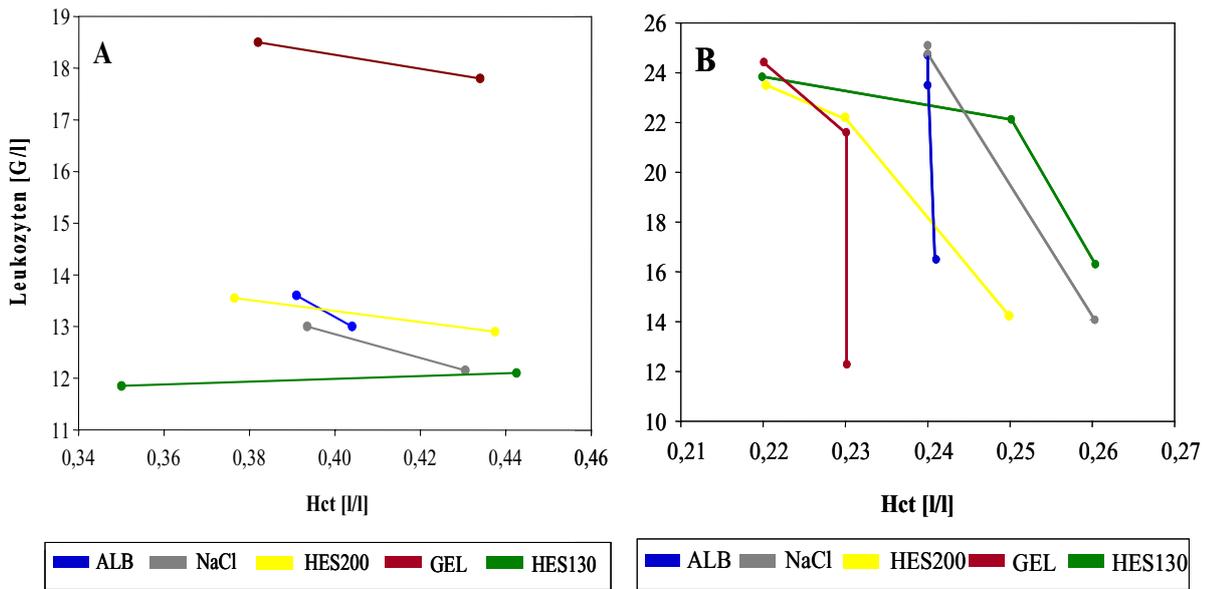


Abb. 31: Gegenüberstellung der Mediane der Leukozytenzahlen und der Hämatokritwerte (A = in-vitro, gemessen bei BS und VE; B = in-vivo, gemessen bei BSsys, ZBS und VE). Ein steiler Geradenverlauf zeigt einen starken Abfall der Leukozyten bei geringfügig steigendem Hämatokritwert.

In-vitro nehmen die Leukozytenzahlen bei steigendem Hämatokritwert ab. Auch hier war dies in-vitro besonders bei der ALB- und bei der NaCl-Gruppe ausgeprägt. Auffallend bei dem in-vitro-Diagramm ist jedoch, dass hier ausschließlich bei der HES 130-Gruppe die Thrombozytenwerte bei ansteigendem Hämatokrit ebenfalls ansteigen. In-vivo war der Abfall der Thrombozytenzahlen bei steigendem Hämatokrit bei der ALB-Gruppe am stärksten, bei der HES 130-Gruppe hingegen am wenigsten ausgeprägt.

4.4 Ranking für Einzelparameter in-vitro und in-vivo

Das Ranking der Einzelparameter in-vitro und in-vivo wurde anhand der Ansprüche an den klinischen Einsatz einer Hämofiltration erstellt. Somit ist bei den Druckverhältnissen am Filter ein niedriger transmembranärer Druck (TMP) bei hohem Filtratdruck P_f , der einen indirekten Parameter für die Nettofiltrationsleistung darstellt, positiv.

Durch die Probenentnahme kam es in-vitro zu einer Aufkonzentration der Gerinnungsfaktoren, die bei den Rankings als methodenbedingtes Artefakt miteinbezogen werden musste: konstante bis geringfügig ansteigende Gerinnungszeiten sind im Hinblick auf die klinische Situation sowohl in-vitro als auch in-vivo gut. Dazu zählen ein möglichst konstanter Wert für die aktivierte partielle Thrombinzeit (aPTT) und ein konstanter Quickwert. Optimal dabei war ein geringer Verbrauch an Gerinnungsfaktoren wie Fibrinogen und Antithrombin III (AT III). Auch der Zusammenhang von hohen Fibrinogenkonzentrationen und niedrigen D-Dimerwerten ist positiv. Als Gerinnungsmarker sollten die TAT-Messergebnisse bei etwa hundert Prozent des Ausgangswertes liegen, wobei die TAT-Komplexe zu einem geringen Teil filtrierte wurden, was in-vitro zum Tragen kam und in-vivo vom Organismus aus der Zirkulation entfernt wurden.

In-vitro sollte der Hämatokritwert aufgrund der Aufkonzentration im Blut ansteigen. Auch die Thrombozyten und Leukozyten sollten in-vitro ansteigen. In-vivo war ebenfalls ein konstanter Wert für den Hämatokrit und die Thrombozyten positiv. Ein niedriger freier Hämoglobinwert sollte in beiden Systemen sein. Vor dem Hintergrund der Mobilisation des Immunsystems ist es im Moment noch nicht eindeutig geklärt, ob ein konstanter Wert oder ein Anstieg der Leukozyten in-vivo im Blut von Vorteil oder von Nachteil ist. Da es während unserer in-vivo-Versuche bei den Infusionsgruppen mit den besten Druckverhältnissen, den besten

Gerinnungswerten und den vorteilhaftesten Organfunktionen (Unger *et al.*, 2006a) zu einem deutlichen Anstieg der Leukozyten kam, wurden in dieser Arbeit steigende Leukozyten positiv gewertet.

Tab. 17: Ranking für die Einzelparameter des in-vitro- und in-vivo-Systems, von links nach rechts in absteigender Reihenfolge

	in-vitro				in-vivo													
TMP [kPa]	HES 130	HES 200	GEL	ALB	NaCl					ALB	HES 130	GEL	NaCl	NaCl	HES 200			HES 200
Pf [kPa]	HES 130	GEL	HES 200	ALB	NaCl					HES 130	NaCl	GEL	HES 200	HES 200	ALB			ALB
Druckwerte insgesamt	HES 130	GEL	HES 200	ALB	NaCl					HES 130	GEL	NaCl	ALB	ALB	HES 200			HES 200
aPTT [s]	ALB	HES 130	NaCl	HES 200	GEL					HES 200	GEL	HES 130	ALB	ALB	NaCl			NaCl
Quickwert [%]	ALB	HES 130	NaCl	HES 200	GEL					HES 130	GEL	HES 200	NaCl	NaCl	ALB			ALB
Fibrinogen [µmol/l]	HES 130	HES 200	ALB	NaCl	GEL					HES 130	HES 200	NaCl	GEL	GEL	ALB			ALB
AT III [%]	HES 130	HES 200	GEL	ALB	NaCl					HES 130	HES 200	GEL	NaCl	NaCl	ALB			ALB
D-Dimer [µg/l]	HES 130	GEL	NaCl	ALB	HES 200					HES 200	HES 130	NaCl	GEL	GEL	ALB			ALB
TAT [µg/l]	HES 200	ALB	NaCl	HES 130	GEL					HES 130	HES 200	NaCl	ALB	NaCl	GEL			GEL
Gerinnung insgesamt	HES 130	ALB	HES 200	NaCl	GEL					HES 130	HES 200	GEL	NaCl	NaCl	ALB			ALB
Hct [l/l]	NaCl	HES 130	HES 200	ALB	GEL					HES 130	HES 200	ALB	NaCl	NaCl	GEL			GEL
fHb [mmol/l]	ALB	GEL	HES 130	HES 200	NaCl					HES 130	NaCl	ALB	GEL	GEL	HES 200			HES 200
Thrombozyten [10 ⁹ /l]	HES 200	HES 130	GEL	NaCl	ALB					HES 200	HES 130	ALB	GEL	GEL	NaCl			NaCl
Leukozyten [10 ⁹ /l]	HES 200	HES 130	ALB	GEL	NaCl					HES 130	ALB	NaCl	HES 200	NaCl	GEL			GEL
Blutzellkompatibilität	HES 200	HES 130	ALB	GEL	NaCl					HES 130	HES 200	ALB	NaCl	ALB	NaCl			GEL

5 DISKUSSION

Ergebnisse aus in-vitro-Studien zur Biokompatibilitätsforschung werden häufig mit Hilfe von Ergebnissen aus in-vivo-Studien abgesichert, bei denen jedoch andere Modellkomponenten verwendet werden (Churchwell *et al.*, 2007; Fusshoeller *et al.*, 2005; Isla *et al.*, 2005; Mattioli-Belmonte *et al.*, 2003; Proctor *et al.*, 2003; Ramlow *et al.*, 2005; Ronco *et al.*, 1999a, b; Schlatter *et al.*, 1980; Schmidt, 1994). So ist es zum Beispiel weit verbreitet, Membranen in-vitro mit Blut verschiedener Tierarten (Bellomo *et al.*, 2000; Churchwell *et al.*, 2007; Su *et al.*, 2008), mit unterschiedlichen Blutbestandteilen (Benz, 2001; Koster *et al.*, 2003) oder Blut gesunder Spender (Keldenich *et al.*, 2000; Masaki *et al.*, 1999; Ramlow *et al.*, 2005; Yang und Lin, 2000) zu durchspülen. Die Ergebnisse hinsichtlich der Elimination von Stoffen beziehungsweise des Siebkoeffizienten werden anschließend oft mit in-vivo-Ergebnissen oder Ergebnissen aus klinischen Studien verglichen, bei denen die Patienten an den unterschiedlichsten Erkrankungen leiden (Churchwell *et al.*, 2007; Isla *et al.*, 2005; Isla *et al.*, 2007; Jorstad, 1987; Krieter *et al.*, 2005; Ramlow *et al.*, 2005; Samtleben *et al.*, 1984). Werden aus derartigen Vergleichen Prognosen hinsichtlich einer klinischen Anwendung getroffen, birgt dies Gefahren für die Patienten.

Schon 1985 wurde beschrieben, dass ein in-vitro-Modell zur Untersuchung der Biokompatibilität von Membranen möglichst kliniknah gestaltet werden sollte, um die Aussagekraft der Ergebnisse zu steigern (Spencer *et al.*, 1985). So wurde ein in-vitro-Modell entwickelt, in dem in Anlehnung an den klinischen Gebrauch Originalmaterialien verwendet wurden. Trotzdem erkannte man zu diesem Zeitpunkt schon einige der Grenzen, eine klinische Situation zu kopieren. In einem in-vitro-Modell kann zum Beispiel der Einfluss einer veränderten Blutzusammensetzung des Patienten auf die Biokompatibilität gegenwärtig nicht rekonstruiert werden. Damit wurden gleichermaßen viele Forschungsergebnisse in Frage gestellt, die aus solchen in-vitro-Modellen resultierten, welche keineswegs einer realistischen klinischen Situation entsprachen. Auch andere Autoren versuchten durch Verwendung von Testmedien, welche eine klinische Situation simulieren (urämisches Plasma, entsprechende Materialien), die Vergleichbarkeit der in-vitro- und in-vivo-Ergebnisse zu optimieren (Mahiout, 2000).

Was jedoch auch bei optimaler Standardisierung der Modelle außer Acht bleibt ist nach wie vor der Einfluss der Erkrankung des Patienten in der klinischen Anwendung auf die untersuchten Parameter. Häufig werden auch direkt aus in-vitro-Versuchen zur Biokompatibilität von Materialien Schlussfolgerungen für die klinische Anwendung gezogen. Eine Überprüfung, inwieweit solche in-vitro-Einzelergebnisse auf die spätere klinische Situation übertragbar sind, ist jedoch unabdingbar. Zum einen können die Blutzellen im Gesamtorganismus andere Interaktionen mit Fremdmaterial des extrakorporalen Kreislaufes eingehen als isolierte Blutzellen. Zum anderen zeigen Patienten in der Klinik unterschiedliche Erkrankungen und damit eine hohe Variation individueller Antworten auf ein extrakorporales System. Die CVVH wird größtenteils bei Intensivpatienten angewendet, bei denen nicht nur die Nierenfunktion eingeschränkt ist, sondern ein Multiorganversagen oder eine Sepsis vorliegen (Grootendorst und Van Bommel, 1993; Hirasawa *et al.*, 1991; Hirasawa *et al.*, 1996; Kierdorf und Seeliger, 1997; Kierdorf, 2000; Schaefer *et al.*, 2000; Van Bommel *et al.*, 1994). Diese Patienten weisen eine hohe Variation der Blutzusammensetzung, des Gerinnungsstatus, der Kreislaufsituation und des Säure-Basen-Haushalts auf. Entsprechend komplex gestaltet sich die Therapie, deren einzelne Therapiebausteine ihrerseits Reaktionen im Rahmen der Biokompatibilität auf den Gesamtorganismus haben.

Im Folgenden soll beispielhaft anhand eines extrakorporalen Nierenersatzverfahrens (CVVH) besprochen werden, welche Aussagen zur Biokompatibilitätsreaktion im Patienten aus in-vitro-Studien überhaupt getroffen werden können.

5.1 Bewertung der Messergebnisse

5.1.1 Flussraten und Druckverhältnisse

In zahlreiche Studien zu Nierenersatzverfahren hinsichtlich der Druckentwicklung in einem Filter wurden in-vitro- mit in-vivo-Ergebnissen verglichen (Kulz *et al.*, 2002; Morsch *et al.*, 1995; Ronco *et al.*, 1999a, b). Diese Gegenüberstellung der in-vitro- und in-vivo-Messergebnisse fand jedoch in den meisten Fällen statt, ohne die Einflussgrößen unterschiedlicher Modellkomponenten zu berücksichtigen.

In unserem in-vitro-Modell wurden insgesamt höhere Druckmesswerte mit einem TMP-Wert bis 35 kPa erreicht als im in-vivo-Modell mit einem TMP-Wert bis maximal 24 kPa. Dies lag zum einen daran, dass der Hämatokritwert in-vitro höher war als im in-vivo-Modell. Dadurch baute das Blut einen größeren Strömungswiderstand auf, wodurch es zu den hohen Druckverhältnissen im Filter kam (Reinhart *et al.*, 1984). Des Weiteren führten Unterschiede in der Versuchsdurchführung dazu, dass in-vitro dem Flussratenverlauf keine Druckgrenzwerte gesetzt wurden. Wie unter Kapitel 3.1.5 und Tab. 9 beschrieben ist, erfolgte in-vitro die Standardisierung über starre Flussratenprotokolle. In-vivo erfolgte die Standardisierung über Druckgrenzen (s. Kapitel 3.2.1 und Abb. 7), da unter in-vivo-Bedingungen eine Spontanhämolyse vermieden werden musste. Demzufolge wurden bestimmte Druckgrenzen in-vivo nicht überschritten (s. Tab. 12). Stattdessen wurde einer klinischen Situation entsprechend die Hämofiltration unter Einhaltung eines Druckgrenzwertes mit einem Transmembrandruck von maximal 24 kPa durchgeführt. Die Auswirkung der verschiedenen Volumensubstitutionen war daher nicht so unmittelbar wie in den in-vitro-Versuchen, da sich mit zunehmenden Druckwerten pro- oder antikoagulatorische Einflüsse ausgeprägter darstellen (Dungen *et al.*, 2001; Unger *et al.*, 2006b). Ein Grenzwert für den Transmembrandruck war jedoch unausweichlich, da die Interferenzen zwischen den Volumenersatzmitteln und einer sachgemäß durchgeführten Hämofiltration im Vordergrund standen. Eine Hämolyse hätte mit ihrer Reaktion diese Interaktion überlagert.

Obwohl in den beiden Modellen unterschiedliche Hämofilter verwendet wurden (s. Tab. 6 und Tab. 10), unterscheiden sich die zwei Filter in Membranoberfläche (in-vitro 220 μm ; in-vivo 215 μm) und Innendurchmesser (in-vitro 0,69 m^2 ; in-vivo 0,6 m^2). Da diese Abweichungen jedoch im Vergleich zu den anderen Modellunterschieden minimal sind, wurden sie beim Vergleich beider Modelle vernachlässigt.

5.1.1.1 Transmembranärer Druck und Filtratdruck

Da der transmembranäre Druck und die maximalen Blutfluss- und Filtrationsleistungen stark durch die individuellen rheologischen Beschaffenheiten der Patienten beeinflusst werden (Spencer *et al.*, 1985; Unger *et al.*, 2002), ist es sehr schwer, in-vitro-Modelle mit der klinischen Anwendung zu vergleichen.

Aufgrund der standardisierten Komponenten im in-vitro-Modell (Flussraten, gleicher Hämatokrit in allen Infusionsgruppen, usw.) wird deutlich, dass die unterschiedlichen Infusionslösungen die hohe Varianz der gemessenen in-vitro-Druckverhältnisse im Filter bewirken. Diese Veränderungen lassen sich jedoch nicht auf die in-vivo-Versuche übertragen, wie die Vergleiche zeigen (s. Kapitel 4.4, Tab. 17 und Tab. 19). Dies macht deutlich, dass die methodenbedingten Einflussgrößen des in-vivo-Modells erhebliche Auswirkungen auf die Druckverhältnisse im Filter haben.

Anhand des Vergleichs der Diagramme A und B der Abb. 10 kann bestenfalls die Aussage getroffen werden, dass HES 130 mit einem TMP von maximal 16,7 kPa in-vitro und 16,8 kPa in-vivo einen positiven Einfluss auf die Druckverhältnisse im Hämofilter hat (s. auch Tab. 17). NaCl und HES 200 führen vor allem in-vitro zu hohen Standardabweichungen des TMP-

Wertes (NaCl bis zu 38,7 kPa, HES 200 bis zu 33,3 kPa) und zeigen somit einen negativen Einfluss auf die Druckentwicklung am Filter.

Die hohen Variationen innerhalb einer Gruppe machen es jedoch unmöglich eine genaue und verlässliche Prognose für die Kliniksituation zu geben. Dass bei einer klinischen Anwendung zusätzliche Einflussfaktoren durch Erkrankungen oder individuelle physiologische Unterschiede des Patienten unvorhersehbare Veränderungen auf die Druckentwicklungen im Filter nehmen, ist mit diesen Ergebnissen absehbar.

5.1.1.2 Druckabfall über das Filterkompartiment

Die Gegenüberstellung des TMP gegen den Druckabfall über den Filter (s. Abb. 14) zeigt ein dem Modelltyp zugeordnetes Muster. Die Muster sind abhängig von den Modelleinflüssen, da sich in allen Gruppen unabhängig vom Infusionstyp die gleichen Veränderungen zwischen den in-vitro- und den in-vivo-Diagrammen zeigen.

Der Hämatokritwert, welcher in-vitro durch die entnommenen Proben zu seinem hohen Ausgangswert mit 0,35-0,4 l/l noch gesteigert wurde, bewirkte einen größeren Strömungswiderstand im Filtermodul als in-vivo. Dadurch kam es in-vitro zu einem höheren transmembranären Druck (TMP) und einem höheren Druckabfall über das Filterkompartiment ($P_a - P_v$). Im Gegensatz dazu verhinderte in-vivo der transmembranäre Druckgrenzwert von 24kPa einen derart ausgeprägten Druckabfall über den Filter. Trotzdem war in-vivo der TMP im Verhältnis zum $P_a - P_v$ -Wert größer, und damit größer als der Strömungswiderstand durch verlegte Kapillaren.

5.1.2 Hämokompatibilität: Gerinnung / Plasmatische Faktoren

Aufgrund des niedrigen Albumin-Globulin-Verhältnisses sowie eines entweder hohen (in-vitro 0,35-0,4 l/l) oder sehr niedrigen (in-vivo 0,28 l/l) Hämatokritwerts waren ungünstige Fließeigenschaften des Blutes gegeben. Beide Aspekte förderten eine gesteigerte Blutzellaggregation und eine gesteigerte Filterblockade (Holt *et al.*, 1996; Maeda und Shiga, 1986; Stefanidis *et al.*, 1999; Unger *et al.*, 2001a). Um einen optimalen Vergleich zwischen dem in-vitro- und dem in-vivo-System zu erzielen und gleichzeitig einer möglichst kliniknahen Situation zu entsprechen, wurde das Blut von Schweinen bzw. das Schwein als Versuchstier gewählt (Unger *et al.*, 2005c). Für einen in-vitro-Hämofiltrationsversuch eignet sich Schweineblut sehr gut, da größere Mengen Blut benötigt werden und die Plasmazusammensetzung von Schweineblut sowie die Blutzellzahl dem menschlichen Blut ähnlicher ist als die Blutzusammensetzung anderer Großtiere (Gross, 1997). Gerinnungstests, die für menschliches Blut validiert wurden, sind im Vergleich mit dem Blut anderer Tierarten bei Schweineblut am aussagekräftigsten (Kase, 1972; Mueller *et al.*, 2001). Die Eigenschaften von Schweineblut, vor allem bezüglich der Aggregation von Erythrozyten, sind dem menschlichen Blut sehr ähnlich (Laurent *et al.*, 1999). Das in-vitro verwendete Blut entsprach damit weitgehend dem Blut eines Patienten, der einer Hämofiltration bedarf (s. Kap. 3.3.1).

Bei Gerinnungsfaktoren und Blutzellen, deren Messwerte in-vitro trotz der zu erwartenden Aufkonzentration gegenüber dem Anfangswert abnehmen, muss davon ausgegangen werden, dass diese im Kreislauf „hängen“ bleiben, also im Filter an Adsorptionsvorgängen an Fremdoberflächen oder Verlegungsprozessen in Kapillaren (s. Kap. 2.6.2) beteiligt sind. Dies bedeutet, dass minimal verkürzte Gerinnungszeiten in-vitro keine zuverlässigen Beweise für eine ablaufende Gerinnung darstellen. Da die Messungen nur Veränderungen der Gerinnungszeiten zeigten, wurde das Ausmaß der ständig aktivierten Gerinnung nicht erfasst. Zusätzlich wurde bei der Durchführung der Gerinnungstests das Heparin antagonisiert.

Bei Betrachtung des Einflusses der Begleitinfusionen auf die Hämokompatibilität beider Systeme führte die Regenerationsfähigkeit des in-vivo-Systems zu einem signifikanten Unterschied zwischen den in-vitro- und den in-vivo-Ergebnissen zur Hämokompatibilität. In-

vivo kommt eine Konzentrierung des Blutes durch entnommene Filtratproben nicht zum Tragen, da der Organismus einen zu großen Blutpool darstellt, um solche Schwankungen messbar zu machen. Wenn es im extrakorporalen Kreislauf des in-vivo-Modells trotzdem zu einem signifikanten Rückgang einzelner Messwerte kommt, kann davon ausgegangen werden, dass diese Zellen oder Faktoren höchstwahrscheinlich aufgrund einer Aktivierung durch den extrakorporalen Kreislauf im Organismus zurückbleiben. Zusätzlich trugen membranständige Faktoren und prokoagulatorische Mediatoren aus dem Gefäßendothel in-vivo zu einer Aktivierung der Gerinnung bei. Inwieweit der Kontakt zwischen den Fremdoberflächen des extrakorporalen Kreislaufs und dem Blut zu einer Aktivierung des intrinsischen Schenkels der Gerinnungskaskade beiträgt und inwieweit diese Aktivierung bei gleichzeitiger systemischer Antikoagulation messbar ist, wird in der Literatur kontrovers diskutiert (Bouman *et al.*, 2006; Cardigan *et al.*, 1999; Holt *et al.*, 1996; Joannidis und Oudemans-Van Straaten, 2007; Salmon *et al.*, 1997). Die für den Menschen hergestellten Gerinnungstests sind für Schweine jedoch nachweislich anwendbar (Mueller *et al.*, 2001).

5.1.2.1 Aktivierte Prothrombinzeit und Quickwert

In-vitro kam es aufgrund der Konzentrierung der Gerinnungsfaktoren durch die mehrfach entnommenen Filtratproben zu einer Beschleunigung der Gerinnung (auf bis zu 86 % des Ausgangswertes verkürzte aPTT bei der GEL-Gruppe, s. Tab. 27) während des Versuchs (s. Kap. 4.2). Dass der Kontakt zwischen den Fremdoberflächen und dem Blut den intrinsischen Schenkel des Gerinnungssystems aktiviert, ließ sich anhand der in-vitro-Ergebnisse methodenbedingt nur unzureichend zeigen. Dies stimmt mit einigen Studien überein, die bestreiten, dass es in einem extrakorporalen Kreislauf zwangsweise zu einer Gerinnungsaktivierung kommen muss (Bouman *et al.*, 2006; Salmon *et al.*, 1997). In-vivo wurde der intrinsische Schenkel (aPTT) der Gerinnung mit Ausnahme der NaCl-Gruppe aktiviert, obwohl die Gerinnung durch die kontinuierliche Heparinisierung zusätzlich gehemmt wurde. Um diesen Unterschied im Antikoagulationsregime für die Gegenüberstellung zu überbrücken, wurden die aPTT-Werte in Prozent der Veränderung zur Baseline dargestellt. Vor Beginn der Hämofiltration wurde zusätzlich ein Infusionsbolus verabreicht, der zu einer Dilution des Blutes, also auch zu einer zusätzlichen Verzögerung der initialen Gerinnung in-vivo geführt hat.

Beim Test für den extrinsischen Schenkel (Quickwert) der Gerinnungskaskade kam es in-vitro trotz der Konzentrierung der Gerinnungsfaktoren zu einer verlangsamten Gerinnung (bis auf 92 % des Ausgangswertes bei der GEL-Gruppe, s. Tab. 29), was bedeutet, dass es zu einem Verbrauch von Proteinen, Peptiden und Gerinnungsfaktoren bei Adhäsions- oder Foulingprozessen gekommen sein muss. In-vivo wurde ausschließlich bei der mit HES 130 substituierten Gruppe eine deutliche Aktivierung des extrinsischen Gerinnungsschenkels gemessen. Gleichzeitig wurden bei dieser Gruppe am Versuchsende hohe Fibrinogen- und AT III-Konzentrationen ermittelt und über die gesamte Versuchsdauer am wenigsten Heparin benötigt. Dieser Zusammenhang lässt sich jedoch nicht auf die anderen Infusionsgruppen übertragen und scheint damit eine spezifische Eigenschaft des HES 130 zu sein.

Die in-vivo-Messwerte zur aPTT und zum Quickwert zeigen (s. Tab. 13 und Tab. 14), dass die intrinsische Gerinnung maßgeblich durch den Anschluss des Systems beeinflusst wurde, indem sich die aPTT durch die Bolusgaben verlängerte, während der extrinsische Schenkel des Gerinnungsweges von der Dilution viel weniger beeinflusst wurde. Die Gerinnung über den intrinsischen Schenkel schien sich jedoch während der folgenden sechs Stunden unter kontinuierlicher Heparinabgabe besser regenerieren zu können als der extrinsische Schenkel. Bei diesem kam es zu einer weiterführenden Hemmung der Gerinnung während der Heparinabgabe, beziehungsweise zu einem stetigen Verbrauch der Gerinnungsfaktoren.

5.1.2.2 Fibrinogenkonzentration und D-Dimere

Durch die Probenentnahme des fibrinogenfreien Filtrats war in-vitro ein Anstieg der Fibrinogenkonzentration im Blut zu erwarten. Bei der GEL-Gruppe zeigte sich der geringste Anstieg auf ca. 107 % des Ausgangswertes, was für Adsorptionsvorgänge oder einen Verbrauch an Gerinnungsfaktoren, v. a. von Fibrinogen in dieser Gruppe spricht. Die beiden HES-Gruppen zeigen trotz deutlicher Gerinnungsaktivierung in-vitro die höchsten Fibrinogenkonzentrationen (HES 130 bis auf 115 %, HES 200 bis auf 111 % des Ausgangswertes), was auch in-vivo zu beobachten war (HES 130 bis auf 114 %, HES 200 bis auf 103 % des Ausgangswertes). In-vivo kam es innerhalb der Gruppen zu signifikanten Unterschieden bezüglich der Fibrinogenkonzentration. Bei der ALB-Gruppe fielen die Fibrinogenwerte bei einer stark aktivierten endogenen Gerinnung mit ca. 100 % des Ausgangswertes sehr gering aus, was jedoch bei diesem Infusionstyp auch durch einen verlängerten Dilutionseffekt hervorgerufen werden kann. Bei der NaCl-Gruppe hingegen fielen die Fibrinogenwerte bei kaum aktivierter endogener Gerinnung mit ca. 109 % des Ausgangswertes verhältnismäßig hoch aus, wobei auch hier die Dilution ausschlaggebender als der Faktorenverbrauch gewesen sein wird. Mit einer NaCl-Infusion hielt der Dilutionseffekt von allen Infusionstypen am kürzesten an (s. Kap. 2.4.6). Damit sind die hohen Fibrinogenwerte am Versuchsende bei dieser Gruppe erklärbar.

Der Zusammenhang zwischen einer gering aktivierten intrinsischen Gerinnung und hohen Fibrinogenkonzentrationen lässt sich auf fast alle Infusionsgruppen übertragen. Dies bedeutet, dass der Weg über den intrinsischen Schenkel der Gerinnungskaskade die größte Auswirkung auf die Fibrinogenkonzentration hatte. Nur in der ALB-Gruppe kam es in-vivo bei ausgeprägter endogen aktivierter Gerinnung zu hohen Fibrinogenverlusten.

Vergleicht man die in-vitro- mit den in-vivo-Fibrinogenwerten (ca. 115 % des Ausgangswertes) der HES 130-Gruppe, wie auch die in-vitro- mit den in-vivo-D-Dimerwerten (ca. 130 % des Ausgangswertes), welche ein Spaltprodukt des Fibrinogens sind, fällt auf, dass in beiden Systemen bei dieser Infusionsgruppe sehr ähnliche Werte gemessen wurden. Außerdem wurden bei den höchsten Fibrinogenwerten verhältnismäßig niedrige D-Dimerwerte (geringe Fibrinolyserate) ermittelt. Bemerkenswert dabei ist jedoch, dass in dieser Gruppe durch die Ergebnisse des Quickwerts die deutlichste extravasale Gerinnungsaktivierung stattfand. Die Fibrinogenergebnisse der HES 130-Substitution werfen die Frage auf, ob Fibrinogen in dieser Infusionsgruppe weniger abgebaut wurde oder unter HES 130 der Gerinnungsvorgang fibrinogensparend ablief (Unger *et al.*, 2005b). Klinisch gesehen sind durch den extrakorporalen Kreislauf nahezu unbeeinflusste Fibrinogen- und AT III-Konzentrationen von Vorteil, da bei Patienten, die eine Hämofiltration benötigen, häufig ein Mangel an Gerinnungsfaktoren besteht.

Im in-vivo-System fallen mit durchschnittlich 140 % des Ausgangswertes insgesamt mehr D-Dimere als im in-vitro-System mit durchschnittlich ca. 105 % des Ausgangswertes an. Können D-Dimere im Blut nachgewiesen werden, bedeutet dies, dass im Organismus ein Prozess der Gerinnung und Fibrinolyse stattgefunden haben muss. Die erhöhten Werte können jedoch auch durch jeden beliebigen Prozess, der mit vermehrtem Fibrinumsatz und einer Einschwemmung von extravasal gebildeten Fibrinospaltprodukten einhergeht, wie Thrombosen, Hämatome, akuten Infektionen, Tumoren oder Aszites entstehen. Die Beurteilung erhöhter D-Dimere muss daher immer im Kontext mit den übrigen Labor- und klinischen Befunden gesehen werden. Bei eindeutig negativem Befund können diese Prozesse jedoch praktisch ausgeschlossen werden (Eckstein, 2008).

Die Aussagekraft der D-Dimerkonzentration hinsichtlich einer Gerinnungsaktivierung bei gleichzeitiger Heparinanwendung ist in der Literatur umstritten (Amelsberg *et al.*, 1992; Siragusa, 2003).

5.1.2.3 Antithrombin III und Thrombin-Antithrombinzeit

Die infusionspezifische AT III-Konzentration kann als Einzelfaktor vom in-vitro-System auf das in-vivo-System übertragen werden. Die AT III-Konzentration blieb konstant trotz methodenbedingter Einflüsse. Bezüglich der Gerinnungsfunktionstests verhindert das unterschiedliche Vorgehen bei der Heparinisierung einen direkten Vergleich der Werte.

Der Thrombin-Antithrombin III-Komplex ist ein Marker für das Ausmaß der plasmatischen Gerinnungsaktivierung (Lindhout, 1994). Der fibrinbildende Gerinnungsfaktor Thrombin wird im Plasma durch Antithrombin III neutralisiert. Diese Reaktion kann durch Heparin beschleunigt werden. Eine erhöhte Thrombinbildung führt somit auch zu einer gesteigerten Konzentration des TAT-Komplexes, was auf eine aktivierte plasmatische Gerinnung hinweist. Da in beiden Modellen ausschließlich die TAT-Werte zu den Messzeiten BS_{nat} und VE ermittelt wurden, kann die Thrombin-Antithrombinzeit als ein Aktivierungsmarker der Gerinnung während des gesamten Versuchablaufs sowohl in-vitro wie auch in-vivo interpretiert werden. Im in-vitro-Modell hatte der Anstieg der TAT-Komplexe durch die entnommenen Filtratproben den größten Einfluss auf die Messergebnisse. In der ALB-Gruppe kam es in-vitro trotz der Konzentrierung durch die entnommenen Proben zu einem Rückgang der TAT-Komplexe auf ca. 90 % des Ausgangswertes. Da die TAT-Komplexe anteilig filtriert wurden und in Adsorptionsvorgänge an den Kapillaren beteiligt waren, scheint Albumin diese Vorgänge zu fördern. Eine weitere Erklärung könnte sein, dass der Siebkoeffizient für die TAT-Komplexe während einer Substitution mit Albumin im Vergleich zu den anderen Infusionslösungen höher ausfällt. In-vivo wurden die in den Organismus zurückkehrenden TAT-Komplexe physiologisch rasch aus der Zirkulation entfernt und somit nicht mehr in die Messungen mit einbezogen. Somit bedeutet in-vivo der Rückgang der TAT-Konzentration, dass der Abbau der Komplexe größer war als deren Neubildungen. Auch die Dilution im in-vivo-Modell kam bei Messung der Werte von BS_{nat} und VE zum Tragen, was an den niedrigen Werten (Median bei ca. 30% des BS_{nat}-Wertes) in der NaCl-Gruppe deutlich wird. Beurteilt man ausschließlich das Ausmaß der Gerinnungsaktivierung anhand der TAT-Komplexe, so stimmt dies mit den Ergebnissen der aPTT-Werte überein: bei den Gruppen, bei denen die intrinsische Gerinnung (aPTT) am deutlichsten aktiviert wurde, fallen die meisten TAT-Komplexe an, wie in-vivo in der ALB- und in der GEL-Gruppe und in-vitro in der GEL- und der HES 130-Gruppe.

5.1.2.4 Heparinbedarf

Die Anwendung von Heparin bei extrakorporalen Kreisläufen wurde vielfach getestet (Belboul *et al.*, 2000; Lubin, 2001; Olsson *et al.*, 1977; Palsson und Niles, 1999; Wendel und Ziemer, 1999; Wessel-Aas *et al.*, 1984; Zusman *et al.*, 1981). Über den Einfluss verschiedener Infusionstypen zum Flüssigkeitsersatz während einer CVVH ist jedoch wenig bekannt.

Hinsichtlich des Heparinbedarfs lagen in-vivo die HES 130- und die ALB-Gruppe mit einem sehr geringen Bedarf an Heparin im besten Bereich, was in vorangegangenen Auswertungen schon gezeigt wurde (Eger *et al.*, 2005). Die HES 200- und die NaCl-Gruppe benötigen sehr viel Heparin, um die ACT-Werte im vorgegebenen Rahmen zu halten.

Der Heparinbedarf kann jedoch nicht isoliert betrachtet werden, sondern muss im Kontext aller Gerinnungsparameter wie den Gerinnungszeiten (aPTT, Quickwert), Gerinnungsfaktoren (Fibrinogen, D-Dimere, AT III) und dem Gerinnungsmarker (TAT) gewertet werden. Für die Kliniksituation ist die Gegenüberstellung der Gerinnung mit dem Heparinverbrauch zum Ausgangswert wesentlich. Die ungünstigste Situation hinsichtlich der Gerinnung ergibt sich, wenn sich die Gerinnungsaktivierung zu sehr verändert, die Anzahl der Gerinnungsmarker erheblich schwankt und es gleichzeitig zu einem massiven Verbrauch der Faktoren kommt. Wenn es bei solch einem Szenario zusätzlich zu einem hohen Heparinverbrauch kommt, bedeutet dies, dass eine starke Gerinnungsaktivierung schon von Anfang an bestand. Ein

ähnliches Szenario zeigt sich bei der NaCl- und bei der GEL-Gruppe, bei denen es bei mäßig aktivierter Gerinnung (aPTT bei GEL auf ca. 86 % des Ausgangswertes erniedrigt, Quickwert bei beiden Gruppen ca. 100 % des Ausgangswertes) zu einem Verbrauch an Gerinnungsfaktoren (AT III-Werte sinken auf ca. 80 % des Ausgangswertes) kam. Gleichzeitig benötigten diese beiden Infusionsgruppen am meisten Heparin. Bei der HES 130-Gruppe hingegen kam es trotz aktivierter Gerinnung (aPTT ca. 50 %, Quickwert ca. 104 % des Ausgangswertes) zum geringsten Faktorenverbrauch (Fibrinogenkonzentration bei 115 %, AT III-Konzentration bei ca. 97 % des Ausgangswertes) und gleichzeitig zum geringsten Heparinverbrauch. Dies ist aus klinischer Sicht die beste Situation hinsichtlich der Therapie bei einem multimorbiden Patienten (Olsson *et al.*, 1977; Wendel und Ziemer, 1999).

5.1.3 Hämokompatibilität: Blutzellen

Im in-vitro-Blutreservoir befanden sich 1,5 Liter Schweineblut womit das Reservoir einen begrenzten Pool darstellte. Im Lauf des Versuchs kam es durch die entnommenen Filtratproben zu einer Konzentrierung nichtfiltrierter Substanzen, zu denen auch die Blutzellen zählen. Falls es trotz dieser Aufkonzentration zu gleich bleibenden oder absinkenden Blutzellzahlen kam, kann davon ausgegangen werden, dass die Blutzellen durch mechanische Einflüsse rupturierten, in verstopften Kapillarmembranen hängen blieben oder bei Clotting-, Fouling- oder Cloggingprozessen verbraucht wurden (s. Kap. 2.6.2).

In-vivo stellte das Tier den Blutpool dar, in welchem aus der Milz und dem Lymphsystem Blutzellen mobilisiert werden konnten und somit methodenbedingte Verluste zum Teil ausgeglichen wurden. Des Weiteren konnte der Organismus auf Veränderungen im Blutbild mit Weit- oder Engstellung der Gefäße reagieren, wodurch Blutzellen in Endstromgebiete wie die Lunge oder die Leber gelangen und somit nicht mehr in die Messungen mit einbezogen werden konnten. Auch die Zellen, die durch den Kontakt mit Fremdoberflächen im extrakorporalen Kreislauf aktiviert wurden (Agostoni und Gardinali, 1989; Gardinali *et al.*, 1986; Haag-Weber *et al.*, 1989; Hong *et al.*, 1999; Jahns *et al.*, 1993; Renaux *et al.*, 1999), und daraufhin in den Körperkreislauf zurückkehrten, infiltrieren in Parenchyme wie die Lunge oder die Leber. Dies bedeutet, dass in-vivo hohe „Zellverluste“ mit einer Aktivierung der Blutzellen einhergehen.

Durch die Infusionen zu Beginn und während der CVVH kam es außerdem zu einer transienten Dilution des Blutes mit Rückbildung des Effektes und neuerlicher Änderung der Messwerte.

5.1.3.1 Hämatokrit und freies Hämoglobin

In-vitro stiegen die Messwerte des Hämatokrits bis zum Versuche zum Teil signifikant an (bei allen Infusionsgruppen auf mindestens 140 % des Ausgangswertes, in der NaCl-Gruppe stieg der Median auf das Doppelte des Ausgangswertes an). Dies ist auf die Konzentration des Blutes durch die entnommenen Filtratproben zurückzuführen. Der relative Anstieg des Hämatokritwerts lässt sich auch auf den Verbrauch an Plasmavolumen durch Foulingprozesse an der Membran erklären. Trotzdem zeigen die Ergebnisse, dass die Erythrozyten durch Adhäsions- oder Aggregationsvorgänge im Filter und am venösen Clotsieb verbraucht wurden, da sich infusionspezifische Unterschiede ergeben, die sich in-vivo wiederholen (beide HES-Gruppen zeigen einen deutlichen Anstieg gegenüber dem Ausgangswert auf ca. 120 %, während der Hämatokrit der NaCl- und der GEL-Gruppe bei ca. 100 % blieb).

Beim in-vivo-Versuch wurde die substituierte Infusionsmenge standardisiert verabreicht und nicht adaptiv an die Diureserate angepasst. Da der Flüssigkeitsverlust durch die Anästhesie, die maschinelle Beatmung, die Vasodilatation, das offene Abdomen und die Diurese des Tieres dabei nicht berücksichtigt wurden, kam es insgesamt zu einer negativen Flüssigkeitsbilanzierung, die zu einem Hämatokritanstieg führte. Die beiden HES-Gruppen

initiierten die höchsten Diureseraten (Unger *et al.*, 2006a) und zeigten mit einem Anstieg von ca. 20 % die höchsten Hämatokritwerte, während bei der GEL- und der ALB-Gruppe mit jeweils geringen Diureseraten die niedrigsten Hämatokritwerte gemessen wurden, mit einer kaum messbaren Steigerung des Ausgangswertes.

Um in-vivo darzustellen, ob der Anschluss des Systems eine zusätzliche Wirkung auf den Hämatokritwert hatte, wird in Abb. 23 einerseits die Entwicklung während des gesamten Versuchablaufs (BSnat – VE) und andererseits ausschließlich nach Anschluss des Systems, also während laufender Hämofiltration (BSsys – VE) dargestellt. Die geringen Unterschiede zwischen den beiden Diagrammen zeigen, dass der Hämatokritwert unabhängig von der Hämofiltration nur durch die unterschiedlichen Infusionslösungen beeinflusst wurde.

Zur Untersuchung der Hämolyse von Erythrozyten wurde die Menge an freiem Hämoglobin bestimmt. Eine Ruptur der Erythrozyten während eines extrakorporalen Kreislaufs kann durch die Anwendung von Rollerpumpen (Ding *et al.*, 2007), durch Luftkontakt in den Luftfallen und durch Störungen des laminaren Blutflusses (Goldsmith und Turitto, 1986) zustande kommen. Im in-vitro-System kam es bei allen Infusionsgruppen methodenbedingt zu einem Anstieg des freien Hämoglobins auf mindestens 140 % des Ausgangswertes, in der NaCl-Gruppe sogar bis auf 200 % des Ausgangswertes. Zwischen den beiden in-vitro-Diagrammen Hämatokrit (s. Abb. 22) und freies Hämoglobin (s. Abb. 24) ist eine große Übereinstimmung des Rankings der Infusionstypen erkennbar. Einerseits kumuliert das Hämoglobin im System durch die Entfernung von hämoglobinfreiem Ultrafiltrat im Rahmen der entnommenen Proben, da es mit seiner Größe von ungefähr 65 kDa nicht filtriert werden konnte. Andererseits kam es durch mechanische Hämolyse zu einem Anstieg von freiem Hämoglobin. Um spontane Hämolyse zu vermeiden, wurden in-vivo Druckgrenzwerte eingehalten (TMP < 24 kPa). Zusätzlich baute der Organismus durch das retikuloendotheliale System (RES) und in der Leber freies Hämoglobin ab. Trotzdem wurden im Lauf des Versuchs konstante bis ansteigende freie Hämoglobinwerte in der HES 200- (Einzelwerte bis zu 480 % des Ausgangswertes) und in der GEL-Gruppe (bis über 300 % des Ausgangswertes) gemessen. Da es vor allem in der HES 200-Gruppe, bei der auch eine gesteigerte Erythrozytenaggregation im Filter beobachtet werden konnte (Unger *et al.*, 2006a) zu auffallend großen Abweichungen einzelner Gruppen vom Median kam, müssen Artefakte durch Zellrupturen bei den Probenentnahmen in Betracht gezogen werden.

5.1.3.2 Thrombozyten und Leukozyten

Die Heparinisierung des Blutes stellt für die Thrombozyten keinen Schutz dar. Da jedoch im in-vitro-Modell aufgrund der Heparinisierung nur vereinzelt Gerinnungsprozesse ablaufen konnten, muss der Rückgang der Thrombozytenzahlen darauf zurückgeführt werden, dass es durch eine Aktivierung der Thrombozyten aufgrund des Fremdoberflächenkontaktes im extrakorporalen Kreislauf zur Beschädigung der Thrombozyten und zu Adhäsionsvorgängen an den Oberflächen kam (Agostoni und Gardinali, 1989; Gardinali *et al.*, 1986; Jahns *et al.*, 1993). Bedingt durch diese Aktivierung und Adhäsion fanden Membranfouling und Membranclogging statt (s. Kap. 2.6). Auch in Abb. 26 wird dies bestätigt: trotz der Aufkonzentration der Blutzellen durch die entnommenen Filtratproben kam es in-vitro in allen Infusionsgruppen zu einem Verlust an Thrombozyten, was nur bedeuten kann, dass diese Thrombozyten an Foulingprozessen beteiligt waren, da es sich bei dem in-vitro-System um einen geschlossenen Kreislauf handelte. Bestätigt wird dies durch das Korrelationsdiagramm in der Abb. 28: bei steigendem Hämatokritwert sinken die Thrombozytenzahlen. Dies zeigt, dass die Thrombozyten im Gegensatz zu den Erythrozyten, deren Anzahl maßgeblich den Hämatokritwert bestimmt, im System verblieben und damit nicht mehr messbar waren. Das Diagramm zeigt zusätzlich, dass es in-vitro vor allem bei der Verwendung von ALB zu Foulingprozessen gekommen ist, da die Thrombozytenwerte bei

mäßig steigendem Hämatokrit (der Median stieg von 0,39 auf 0,4 l/l) rapide abfallen (der Median der Thrombozyten fiel in dieser Infusionsgruppe von 376 auf 292 G/l).

In-vivo gelangen die Thrombozyten durch Mobilisation aus Speichern wie der Milz in den Blutkreislauf und somit auch in den extrakorporalen Versuchskreislauf. Nach der Rückkehr in den Körper können die Thrombozyten aufgrund ihrer im extrakorporalen Kreislauf erfolgten Aktivierung in Endstromgebiete wie die Lunge oder die Leber gelangen. Somit stellen die Messwerte Momentaufnahmen dar, bei denen hohe Thrombozytenkonzentrationen Rückschlüsse auf eine geringe Aktivierung durch Oberflächenkontakte zulassen, wodurch viele Thrombozyten im extrakorporalen Kreislauf verbleiben. In Abb. 27 wird gezeigt, dass es bei Verwendung der HES-Infusionen zu einem Anstieg der zirkulierenden Thrombozyten (auf bis zu 120 % des Ausgangswertes), also zu wenigen Aktivierungsprozessen der Thrombozyten im extrakorporalen Kreislauf kam.

Abb. 28 zeigt ebenso, dass HES-Infusionen am wenigsten eine Aktivierung von Thrombozyten durch Kontakt mit Fremdoberflächen begünstigen, da bei diesen Infusionsgruppen die Thrombozytenwerte bei steigendem Hämatokrit nicht so deutlich rückläufig waren wie bei den übrigen Infusionsgruppen.

So kam es also in-vitro bei einer Aktivierung von Thrombozyten im extrakorporalen Kreislauf zu vermehrten Foulingprozessen an der Membran, was sich in rückläufigen Thrombozytenwerten zeigen lässt. In-vivo werden mit dem „Ganzkörper-Reservoir“ aktivierte Thrombozyten ebenfalls messtechnisch in einem Rückgang der Thrombozytenwerte ausgedrückt, in diesem Fall jedoch aufgrund ihrer Infiltration in die Parenchyme. Verglichen mit den Messergebnissen des Hämatokritwerts ist eine Übereinstimmung zwischen den Diagrammen Abb. 23 und Abb. 27 erkennbar - die Thrombozytenzahl ist somit hämatokritabhängig und nicht isoliert kolloidspezifisch. In diesem Fall zeigt sich ein Nachteil bei der Verwendung von Schweineblut, da eine Aktivierung der Thrombozyten nicht festgestellt werden kann. Die auf Antikörper basierende Analytik für Zellaktivierung steht für Schweineblut derzeit noch nicht zur Verfügung.

Die Leukozytenzahlen blieben während des gesamten Versuchs entweder konstant oder sie fielen ab, obwohl eine Aufkonzentration durch entnommene Filtratproben stattgefunden hat. Dies zeigt, dass es zu einem hohen Verbrauch dieser Zellen während des Versuchs gekommen sein muss. Da Abb. 15 und Abb. 22 zeigen, dass nur wenige Gerinnungsprozesse mit gleichzeitigem Verbrauch von Blutzellen stattgefunden haben, weist der Verlust der Leukozyten im Blut während des in-vitro-Versuchs darauf hin, dass diese wie die Thrombozyten bei Adhäsionsvorgängen an den Oberflächen-, Fouling- und Cloggingprozessen beteiligt waren (s. Kap. 2.6). Da in Abb. 31 dargestellt wird, dass es in-vitro bei der HES 130-Gruppe im Gegensatz zu allen anderen Infusionsgruppen zu einem gleichzeitigen Anstieg der Thrombozytenzahlen (von ca. 11,6 auf 12 G/l) und des Hämatokrits (von ca. 0,35 auf ca. 0,44 l/l) kam, scheint HES 130 Adhäsions- und Aktivierungsvorgänge der Leukozyten zu verhindern. Wie bei den Thrombozyten war der Verlust der Zellen bei der ALB-Gruppe (von ca. 13,8 auf ca. 13 G/l) am größten.

In-vivo war der Anstieg bei der mit HES 130 substituierten Gruppe am deutlichsten (bis über 160 % des Ausgangswertes). Auch bei den Leukozytenzahlen zeigen die beiden in-vivo-Diagramme die unterschiedlichen Ergebnisse bei abweichenden Messzeiträumen. Die vor dem Messzeitpunkt BSSys zugeführte Dilution bewirkte die verschiedenen Werte in den beiden Diagrammen. Die Unterschiede liegen bei den Leukozyten jedoch vor allem in der Wertigkeit und nicht in Differenzen innerhalb der Gruppen. Somit können die verschiedenen Messwerte auf die unterschiedlichen Kolloide zurückgeführt werden.

In-vivo kommt es narkosebedingt zu einem Anstieg der Leukozyten im Blut (Morisaki *et al.*, 1998). Vor dem Hintergrund der Mobilisation des Immunsystems ist es im Moment noch nicht eindeutig geklärt, ob ein konstanter Wert oder ein Anstieg der Leukozyten im Blut von Vorteil oder von Nachteil ist. Da es während unserer in-vivo-Versuche bei den

Infusionsgruppen mit den besten Druckverhältnissen, den besten Gerinnungswerten und den vorteilhaftesten Organfunktionen (Unger *et al.*, 2006a) zu einem deutlichen Anstieg der Leukozyten kam, wurden in diesem Fall steigende Leukozyten positiv gewertet. Die hohe Konzentration im Blut weist also nicht zwangsläufig auf eine höhere Gewebeeinfiltration hin. Auch in diesem Fall stellt sich das Problem der fehlenden antikörperbasierten Analytik für die Zellaktivierung bei Schweinen. Alternativ wäre eine Untersuchung des Filters auf eine Leukozytenanhäufung nach Beendigung des Versuchs möglich.

5.2 Bewertungsdiskussion zur Übertragung von in-vitro-Einzelergebnissen auf die in-vivo-Situation

Die Aussagefähigkeiten des in-vitro- und des in-vivo-Systems überschneiden sich: während im in-vitro-System der Einfluss verschiedener Infusionstypen auf Einzelparameter zur Hämatologie und zur Filterfunktion gemessen werden kann, ist es in-vivo zusätzlich möglich, mit Messungen zur Organfunktion auf eine Reaktion des Organismus auf das Gesamtmanöver zu schließen.

Um im Vergleich mit den in-vitro-Ergebnissen möglichst genaue Aussagen über Einzelparameter treffen zu können, wurde dazu in den in-vivo-Versuchen entsprechend der in-vitro-Situation zwischen dem Start der Hämofiltration und dem Versuche gemessen, also dem Abschnitt, dem die Heparinisierung und Dilution vorausgegangen sind (Bssys – VE).

5.2.1 Was ist von unseren in-vitro-Ergebnissen auf in-vivo und auf die klinische Situation übertragbar?

5.2.1.1 Druckverhältnisse

Beim Vergleich der Druckverhältnisse am Filter zeigt sich, dass sich infusionsspezifische Auswirkungen sowohl in-vitro wie auch in-vivo wieder finden. Hohe TMP-Werte, die im in-vitro-Versuch bei der GEL- und bei der HES 200-Gruppe gemessen wurden, fanden sich in-vivo trotz einer hohen Heparindosierung wieder. Dies ist vor allem in Abb. 11 im Bereich der mittleren und hohen Flussraten deutlich zu sehen. Auch die in-vitro tendenziell niedrigen TMP-Werte der HES 130-Gruppe wiederholten sich in-vivo. Bei diesen drei Kolloiden wäre eine Schlussfolgerung von in-vitro-Einzelergebnissen zum TMP-Wert während einer Hämofiltration auf eine in-vivo-Situation am gesunden Organismus ansatzweise möglich.

In Abb. 14 wird das Muster der Druckentwicklung am Filter gezeigt. Zwischen den in-vitro- und den in-vivo-Ergebnissen bestehen zwar keine Parallelen, innerhalb der in-vitro- und innerhalb der in-vivo-Messungen wurden jedoch übereinstimmende Werte gemessen. Dies wiederum bedeutet, dass sich die im Filter entwickelnden Fluss- und Drucksituationen abhängig von den Modelleinflüssen gestalten.

Insgesamt kann die Aussage getroffen werden, dass sich Tendenzen bezüglich des mehr oder weniger vorteilhaften Einflusses einer bestimmten Infusionslösung auf die Druckverhältnisse am Filter während einer Hämofiltration voraussagen lassen.

5.2.1.2 Hämokompatibilität

Bei den in-vitro gemessenen aPTT-Werten in Abb. 15 und Quickwerten in Abb. 16 zeigt sich, dass es ausschließlich in der HES 130-Gruppe zu einer Aktivierung beider Schenkel der Gerinnungskaskade kam. Umso überraschender sind die Messwerte der Fibrinogenkonzentrationen: mit Ausnahme der ALB-Gruppe stimmen die Fibrinogenwerte der in-vitro- und in-vivo-Ergebnisse in etwa überein und haben dadurch eine gute Aussagekraft für die Klinik. Zusätzlich kann ein fibrinogensparender Effekt der HES 130-

Gruppe, der in-vitro schon zuvor beobachtet wurde (Unger *et al.*, 2005b) in-vivo bestätigt werden.

Obwohl in einem in-vivo-System sehr viele Komponenten einen Einfluss auf die Anzahl der D-Dimere haben (s. Kap. 5.1.2), ergeben sich trotzdem gemeinsame Schnittpunkte zwischen den in-vitro- und in-vivo-Diagrammen. Da jedoch die Ergebnisse der Gerinnungsparameter nicht direkt von einem System auf das andere übertragbar sind, lässt die Anzahl der D-Dimere keine Schlussfolgerung auf die Gerinnung zu.

Die Messergebnisse zu den AT III-Konzentrationen zeigen sich eindeutig infusionspezifisch: obwohl im in-vivo-System die Heparinzufuhr Einfluss auf die AT III-Werte nimmt, können hier die Ergebnisse von in-vitro auf in-vivo übertragen werden: die Hydroxyethylstärken haben in beiden Modellen den günstigsten Einfluss auf die AT III-Konzentrationen. Konstante AT III-Werte, wie sie vor allem in der H130-Gruppe gemessen wurden, sind aus klinischer Sicht wünschenswert.

5.2.2 Was ist von unseren in-vitro-Ergebnissen nicht auf in-vivo und damit nicht auf die klinische Situation übertragbar?

5.2.2.1 Druckverhältnisse

Einzelparameter aus der in-vitro gemessenen Druckentwicklung am Filter lassen sich nicht zuverlässig auf die in-vivo-Situation übertragen. Zwar können Tendenzen festgelegt werden, ob sich ein gutes oder schlechtes Druckprofil bei einem speziellen Infusionstypen in-vivo und eventuell in einer klinischen Anwendung entwickeln wird, Abb. 11 und Abb. 13 zeigen jedoch, dass sich durch Erhöhung der Flussraten das Ranking des Einflusses der Infusionen auf die Druckentwicklungen stark verändert. Da mehrere Komponenten des extrakorporalen Kreislaufs Einfluss auf die Druckentwicklung nehmen (Hämatokrit, Flussraten, Anzahl verstopfter Filterkapillaren, etc.), können keine verlässlichen Prognosen aus den Einzelergebnissen des in-vitro-Systems gestellt werden.

5.2.2.2 Hämokompatibilität

Einige der auslösenden Faktoren für die Gerinnungsaktivierung lassen sich gut standardisieren, wie zum Beispiel die Oberfläche der Fremdmaterialien, die Menge der Antikoagulantien oder die Versuchsdauer. Da es sich jedoch in-vitro um ein selbsterschöpfendes System handelt, in dem es mit ablaufender Gerinnung zu einem Verbrauch an Gerinnungsfaktoren kommt und es in-vivo zu Regenerations- und Mobilisationsvorgängen aller Blutbestandteile kommt, ist die Aussagekraft eines in-vitro-Modells hinsichtlich der Gerinnungsaktivierung auf spezifische Eigenheiten der Infusionslösungen begrenzt (fibrinogensparender Effekt von HES 130 (Unger *et al.*, 2005b), Erythrozyten schützender Effekt von GEL (Sumpelmann und Zander, 2001).

Auch zum Einfluss der Infusionslösungen auf die Blutzellen während einer in-vivo-Hämofiltration ermöglicht ein in-vitro-System kaum eine verlässliche Prognose, da im in-vivo-Modell bei Hämolyse der Erythrozyten oder einem Verbrauch der Zellen durch Clotting, Fouling oder Clottingvorgänge die Blutzellzahlen durch Regenerationsvorgänge beziehungsweise Freisetzung der Zellen im Organismus beeinflusst werden können. Damit lassen sich die Entwicklungen bezüglich der Blutzellen von den in-vitro-Versuchen nicht 1:1 auf das in-vivo-System übertragen. In der HES 130-Gruppe beispielsweise bestärken sich die in-vitro-Ergebnisse in-vivo: neben einem geringen Zellverbrauch, also hohen Hämatokrit-, Thrombozyten- und Leukozytenwerten kam es zu einer eher geringen Hämolyserate. In der NaCl-Gruppe hingegen widersprechen sich die Messergebnisse: kam es in-vitro noch zu signifikant hohen Messergebnissen der Zellzahlen, ergaben sich in-vivo in dieser Infusionsgruppe sehr niedrige Werte. Somit können hier weder Aussagen über spezifische

Auswirkungen der Kolloide auf die Blutzellen noch über Interaktionen einer Hämofiltration auf die Blutzellen von den in-vitro-Ergebnissen auf in-vivo-Versuche übertragen werden. Der gesamte Messzeitraum des in-vivo-Versuchs (BSnat – VE) gibt einen Überblick auf die Reaktion des Organismus auf die Hämofiltration mit allen Nebenwirkungen und stellt damit eine Entscheidungshilfe in Hinblick auf eine klinische Anwendung dar. Diese Messungen zeigen, ob das Manöver dem gesamten Organismus eher Schaden zufügt oder eher von Nutzen ist. Auch hier lassen sich höchstens grobe Prognosen zum Einfluss der Infusionslösungen auf die Blutzellzusammensetzung formulieren.

Tab. 18: Ranking der Blutzellwerte des in-vitro- und des in-vivo-Systems in absteigender Reihenfolge. Als positiv werden dabei konstante Hämatokrit- Thrombozyten-, Leukozytenwerte und ein niedriger fHb-Wert eingestuft.

in-vitro	in-vivo BSnat- VE	in-vivo BSsys - VE
HES 200	HES 130	HES 130
HES 130	NaCl	HES 200
ALB	ALB	ALB
GEL	HES 200	NaCl
NaCl	GEL	GEL

Anhand dieses Rankings wird gezeigt, inwieweit sich die Einschätzung der verschiedenen Infusionen für die Hämofiltration verändern, sobald verschiedene Zeitabschnitte betrachtet werden. Die NaCl-Gruppe schneidet bei Betrachtung des gesamten Zeitabschnitts (BSnat-VE) als Begleitinfusion für die CVVH gut ab, während sie nach Anschluss des Systems und den Bolusgaben schlechte Ergebnisse erzielt. Falls sich jedoch in-vitro-Ergebnisse mit den entsprechenden in-vivo-Ergebnissen zu Einzelparametern der Hämatologie und der Filterfunktion 1:1 decken, stellen sie eine absehbare Prognose für die Auswirkung innerhalb einer klinischen Situation dar.

5.2.3 Aussagekraft des in-vitro-Modells zur in-vivo-Interaktion von Begleitinfusionen mit der Anwendung der kontinuierlichen venösen Hämofiltration

Unser in-vitro-System lässt Prognosen hinsichtlich der Druckentwicklung im Filter und der Gerinnungsaktivierung bei Anwendung von verschiedenen Begleitinfusionen während der CVVH-Anwendung in-vivo zu. Voraussetzung für die Formulierung solcher Prognosen ist, die Systeme unter Berücksichtigung ihrer jeweiligen Einflussgrößen zu interpretieren und den Fokus auf resultierende Auswirkungen anstatt auf Einzelergebnisse zu richten (Rosen und Heyman, 2001; Unger *et al.*, 2005a).

Auch unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Einflussfaktoren der Systeme auf die Ergebnisse können veränderte Voraussetzungen für eine Hämofiltration in der Klinik, wie pathophysiologische Veränderungen, Alter oder individuelle Besonderheiten des Patienten, die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Klinik einschränken. Das in-vitro- und das in-vivo-Modell stellen standardisierte Untersuchungsmöglichkeiten dar, was sich in der klinischen Situation nicht fortsetzen lässt. Demzufolge können diese Modelle nur als Hilfestellung für die Klinik gesehen werden (Schmidt, 1994). Die Gegenüberstellung verschiedener Auswertungsprinzipien der Blutzellergebnisse ist ein Beispiel dafür, welche unterschiedlichen Schlussfolgerungen aus einem Versuchsablauf gezogen werden können (s. Tab. 18). Die Messungen aus der Zeitspanne zwischen physiologischem Ausgangswert versus Versuchende

(BSnat-VE) können als klinische Aussagekraft interpretiert werden, ob das Gesamtmanöver dem Patienten mehr Vorteile oder Nachteile bietet; die Messungen zwischen dem Systemanschluss und dem Versuchsende (BSsys-VE) stellen die Auswirkungen des Hämofiltrationsprozesses auf die jeweiligen Werte dar. Vor allem die Leukozytenzahlen in Abb. 30 machen den Unterschied der Betrachtungsweise deutlich: würde einzig die Zeitspanne des Gesamtversuchs betrachtet werden, ließe dies die Aussage zu, dass die CVVH zu unbedeutenden Veränderungen der Leukozytenzahlen führt. Bei gleichzeitiger Betrachtung des zweiten Diagramms jedoch zeigt sich, dass die Kombination von dem jeweils gewählten Infusionstyp mit der CVVH einen erheblichen Einfluss auf die Leukozyten und somit auf die Arbeit des Immunsystems ausübt. Die Untersuchungen der Leukozytenzahlen geben ein gutes Beispiel für die unterschiedliche Aussagekraft ein und desselben Parameters zwischen in-vitro und in-vivo ab. Unter in-vitro-Bedingungen kam es trotz der Aufkonzentration des Blutes durch Filtratprobenentnahme und damit einhergehendem Hämatokritanstieg nicht in allen Gruppen gleichermaßen zu einem Leukozytenanstieg. Dies bedeutet, dass die Leukozyten im System „gefangen“ wurden, was auf ein Fouling hinweist. Im leukozytär reaktiven in-vivo-System lässt sich die Fragestellung einer Leukozytenbeteiligung am Membranfouling nicht über die Leukozytenzahlen untersuchen. Stattdessen müsste eine hochdifferenzierte Analyse über Aktivierungsmarker und abschließender Untersuchung der Membranen durchgeführt werden. An dieser Stelle weist das Modell „Schwein“ derzeit noch eine Methodenlücke auf, da diese Aktivierungsmarker, welche auf einer antikörperbasierten Analytik beruhen, ähnlich wie bei den Thrombozytenwerten (s. Kapitel 5.1.3.2) noch nicht untersucht werden konnten. Dies ist ein Beispiel dafür, dass in-vitro-Systeme nicht alternativ zum Tierversuch sondern additiv gesehen werden müssen.

Um die Aussagekraft unseres in-vitro-Modells bezüglich einzelner Parameter zu klassifizieren, musste ermittelt werden, inwieweit die Infusionslösungen in ihrer Auswirkung auf den Hämofiltrationsverlauf dominante Effekte zeigen, welche stark genug sind, die Modellunterschiede zu überlagern. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die exakte Werteverteilung zwischen den fünf Infusionsgruppen innerhalb des in-vitro-Modells nur bei dem Einzelparameter AT III (s. Tab. 19) auch unter in-vivo-Bedingungen wiederzufinden ist. Für herausragende Resultate einer Infusionslösung, wie zum Beispiel die höchste Fibrinogenkonzentration am Versuchsende heben sich schon eher einzelne Infusionstypen hervor.

Tab. 19: Zuordnung der Parameter zum dominanten Einfluss der Infusionstypen oder zur Dominanz durch Modellcharakteristika. Zeigen die Einzelparameter der jeweiligen Infusionsgruppen in-vitro und in-vivo ähnliche Verteilungsmuster, weist dies auf einen infusionsspezifischen Einfluss hin.

Parameter	infusionsspezifisch	modellspezifisch
TMP	HES 130	NaCl, HES 200, ALB, GEL
P _f		ALB, NaCl, HES 200, GEL, HES 130
TMP versus P _a -P _v		ALB, NaCl, HES 200, GEL, HES 130
aPTT	NaCl, HES 130	ALB, HES 200, GEL
Quickwert	HES 130	ALB, NaCl, HES 200, GEL
Fibrinogen	HES 130	ALB, NaCl, HES 200, GEL
D-Dimer	NaCl, HES 200	ALB, GEL, HES 130
AT III	ALB, NaCl, HES 200, GEL, HES 130	
TAT	HES 200, GEL, HES 130	ALB, NaCl
Hct	ALB, GEL, HES 130	NaCl, HES 200
fHb		ALB, NaCl, HES 200, GEL, HES 130
Plts	HES 200, GEL, HES 130	ALB, NaCl
Leukozyten	HES 130	ALB, NaCl, HES 200, GEL,

Bei den in-vitro gemessenen aPTT-Werten in Abb. 15 und Quickwerten in Abb. 16 zeigt sich, dass es ausschließlich in der HES 130-Gruppe zu einer Aktivierung beider Schenkel der Gerinnungskaskade kam. Umso überraschender sind die Messwerte der Fibrinogenkonzentrationen: mit Ausnahme der ALB-Gruppe stimmen die Fibrinogenwerte der in-vitro- und in-vivo-Ergebnisse in etwa überein und haben dadurch eine gute Aussagekraft für die Klinik. Dazu kommt ein fibrinogensparender Effekt der HES 130. Der Hauptanteil der Einzelparameter wird durch Unterschiede im Modellaufbau derart beeinflusst, dass sich das komplexe Ranking der fünf verschiedenen Infusionen innerhalb des jeweiligen Testsystems in der Gegenüberstellung verschiebt (s. Kapitel 4.4, Tab. 17). Insgesamt ergibt die Untersuchung, dass direkte Vergleiche oder ein 1:1 übertragbares Ranking auf Ebene der Hämokompatibilität anhand unserer Messgrößen für eine Vielzahl verschiedener Gruppen nicht möglich ist. Fokussiert man jedoch das Ranking auf HES 200, GEL und HES 130 (s. Tab. 19), wäre man mit der Vorhersage erfolgreicher. Es hängt also entscheidend davon ab, wie viele Variablen (und damit Gruppen) einem Hämokompatibilitäts- und oder Funktionsranking unterzogen werden sollen. Besonders auffallend sind die Ergebnisse für die ALB-Gruppen. Während ALB unter in-vitro-Bedingungen eine gute Hämokompatibilität zeigt, fällt diese Infusionsgruppe in-vivo auf einen der schlechtesten Ränge. Allerdings ist dies verbunden mit einer insgesamt guten Biokompatibilität bezogen auf die Organfunktionen (Unger *et al.*, 2006a). Die Unterscheidung und Bewertung vieler Gruppen ist nur möglich, wenn die untersuchten Parameter sensibel gegenüber dominanten Faktoren reagieren. Kürzlich erschien eine Arbeit (Erlenkotter *et al.*, 2008) in der ein Mediatoren-Scoresystem

beschrieben wird, anhand dessen eine in-vitro-Biokompatibilitätstestung von Dialysatoren ermöglicht werden soll. Ein solches Scoresystem kann eine Option zur Verbesserung der Interpretation von in-vitro-Daten sein. Ob sich dieses System bewährt, bleibt abzuwarten. Interessanterweise liegt bei unserem Modell eine Übereinstimmung bezüglich der Biokompatibilitätsprognose für die umfassenden blutübergreifenden Untersuchungen im Tiermodell vor (Unger *et al.*, 2006a). Diese Prognose beinhaltet kein exaktes Ranking aller fünf Infusionsgruppen, sondern stellt nur in Aussicht, dass die Substitution von HES 130 und ALB zu insgesamt besseren Biokompatibilitätsergebnissen führen wird als bei den anderen Infusionslösungen. Diese Prognose basiert letztlich auf der Wertung des Filtrationsverlaufs und aller Hämokompatibilitätsmarker im in-vitro-Versuch. Der Grundgedanke ist, dass ausgeprägtes Clotting, Fouling und Clotting unter in-vivo-Bedingungen zu einer verstärkten Biokompatibilitätsreaktion führen, da aktivierte Mediatoren aus den schlecht perfundierten Kapillaren entweder mit dem verbleibenden Blutstrom (Fouling) oder aber durch Diffusion (Clotting, Clogging) ins Filtratkompartiment gelangen, von wo sie durch Rückdiffusion oder -filtration in gut perfundierte Kapillaren mit dem Blut wieder zurück in den Organismus gelangen.

Verbleibend ist anzumerken, dass die Systemvergleiche hinsichtlich der Hämorrheologie auf verschiedenen Ausgangssituationen beruhen. Das Schlachthofblut der in-vitro-Versuche weist deutlich mehr Kriterien kritisch kranker Patienten auf, als das Blut der gesunden jungen Schweine im in-vivo-Modell. Ungeklärt bleibt, inwieweit sich die Resultate der in-vitro-Versuche auf die Ergebnisse einer Studie im porcinen Krankheitsmodell wieder finden lassen. Zu dieser Fragestellung laufen derzeit Untersuchungen im porcinen Azidosemodell (Esche *et al.*, 2008).

5.3 Fazit und Ausblick

In dieser Arbeit wird dargestellt, dass nur wenige Einzelergebnisse aus in-vitro-Studien zur Hämokompatibilität von Hämofiltrationsanwendungen auf eine in-vivo-Situation übertragbar sind, auch dann, wenn eine große Konvergenz beider Modelle vorliegt. Es wird jedoch ebenfalls gezeigt, dass sich Prognosen aus den in-vitro-Ergebnissen hinsichtlich einer Biokompatibilitätsreaktion und Gesamtperformance des Systems in-vivo durchaus bestätigen. Die Erforschung der Biokompatibilität ist eine sehr junge Wissenschaft, die sich parallel zu den neuesten Materialien und Gerätetechniken entwickelt. Um die Biokompatibilität zu untersuchen, benötigt man messbare Parameter. Hierbei handelt es sich vor allem um Mediatoren, die im Kontext mit einer proinflammatorisch, thrombogenen oder immunologischen Aktivierung aus der Grundlagenforschung beschrieben werden. Die Detektion dieser Marker basiert meist auf Antikörpern (Kalantar-Zadeh, 2007). Da extrakorporale Systeme im klinischen Originalformat an Schweinen getestet werden sollten, die neusten Antikörper für neu entdeckte Mediatoren und Zelloberflächenmoleküle aber bislang nur sehr limitiert für wenige Tierarten zur Verfügung stehen, kann der entsprechende Test nicht im kliniknahen Tiermodell durchgeführt werden.

Im eigenen hier vorgestellten Forschungsabschnitt mit einem Vergleich von in-vitro versus in-vivo konnte deutlich gezeigt werden, dass die Forschung zu einzelnen Hämokompatibilitätsparametern mit dem direkten Vergleich von in-vitro zu in-vivo kaum möglich ist. Die Daten, die zu den wesentlichen Organfunktionen (Hämodynamik, Niere, Lunge, Leber) erhoben wurden, sowie die abschließende histomorphologische Begutachtung belegen die Notwendigkeit zum Umdenken bei der Gestaltung von Tierversuchen und bei der Interpretation von in-vivo-Versuchen zur Biokompatibilität extrakorporaler Systeme. So verfehlten, wie in dieser Arbeit ausgearbeitet, die einzelnen Hämatologie- und Gerinnungsparameter zwar weitgehend den direkten Vergleich, die Prognose jedoch, welche Infusionslösungen die Biokompatibilitätsreaktionen positiv beeinflussen werden, bestätigten sich. In einem weiteren konsequenten Schritt zur Definition der Vergleichbarkeit werden nun

die noch divergenten Faktoren „azidotisches Blut“ aus dem in-vitro-Modell mit den in-vivo-Faktoren „Gesamtorganismus“ in einer weiteren Studie verglichen (Esche *et al.*, 2008). Auf der Stufe der Tierversuche findet man in der Literatur überwiegend Hämofiltrationsversuche an gesunden Tieren (Ramlow *et al.*, 2005). Erst seit wenigen Jahren werden Modelle zur Interaktion zwischen Krankheitsgeschehen und Hämofiltration an Tieren beschrieben, bei denen pathologische Veränderungen induziert wurden (Bellomo *et al.*, 2000; Esche *et al.*, 2008; Gong *et al.*, 2007; Lee, P.A. *et al.*, 1998; Li, C. M. *et al.*, 2007a; Li, W. *et al.*, 2007b; Rimmele *et al.*, 2009; Stengl *et al.*, 2008).

Insgesamt scheint es notwendig, mehr gezielte in-vitro- versus in-vivo-Studien durchzuführen, um den Informationsgehalt und die Grenzen der in-vitro-Forschung auf diesem Gebiet zu verstehen. Ein bewusster Umgang und eine differenzierte Analyse, wie es zur Entwicklung von Testprogrammen und zu etablierten Markern kommt, spielen hierbei eine zentrale Rolle. Auf dem Weg zu einer versuchstierfreien Testung von Materialien und Therapieoptionen sollte man dabei nicht in das Extrem eines schlecht vorbereiteten „Menschenversuchs“ verfallen.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die unzureichende Biokompatibilität vieler Medizinprodukte stellt ein großes Risiko für die Patienten dar. Vor dem klinischen Einsatz muss das Material *in-vitro*, *in-vivo* und in klinischen Studien unter anderem einer Biokompatibilitätstestung unterzogen werden. Unterschiedliche Versuchsaufbauten, verschiedene Spezies oder Erkrankungen können dabei einen großen Einfluss auf die Biokompatibilitätsreaktionen von Materialien haben. Inwieweit das Zusammenspiel verschiedener Biokompatibilitätsreaktionen, welche durch die verschiedenen Module des extrakorporalen Kreislaufs (Filter, Katheter, Schläuche, Pumpe, Luft- und Clotfallen) ausgelöst werden, und auch der Kontakt des Blutes mit anderen Körperkompartimenten einen Einfluss auf die Biokompatibilität haben, ist in der Literatur bisher kaum vertreten (Lucchi *et al.*, 2006). Bedenkt man, dass neben den beschriebenen Variationen auch noch Interaktionen mit der Begleittherapie auftreten können, wird deutlich, wie schwierig sich der Versuch gestaltet, verlässliche Prognosen aus *in-vitro*-Studien für die Biokompatibilitätsreaktion im Patienten zu stellen.

In der vorliegenden Arbeit wird anhand eines Vergleichs von *in-vitro*- und *in-vivo*-Ergebnissen einer Hämofiltration untersucht, ob es trotz eines aufeinander abgestimmten Versuchsaufbaus (*in-vitro* und *in-vivo*) zu unterschiedlichen Messergebnissen bezüglich der Biokompatibilität, also zu unerwarteten Einflussgrößen durch die verschiedenen Modelle kommt und ob sich die Biokompatibilitätsprognose aus den *in-vitro*-Versuchen *in-vivo* bestätigt. Dafür wurde ein dynamisches rezirkulierendes *in-vitro*-Hämofiltrationsmodell verwendet, welches für zwei Stunden mit Hilfe einer Pumpe mit 2 Litern Schweineblut durchspült wurde. Das vom Schlachthof gewonnene Schweineblut wurde dabei mit einer Infusionslösung substituiert. Bei fünf verschiedenen Infusionslösungen wurden jeweils sechs Versuchsläufe durchgeführt. Im kontinuierlichen venovenösen *in-vivo*-Hämofiltrationskreislauf an vollnarkotisierten Schweinen wurden die gleichen Infusionen und Materialien verwendet, wie auch die entsprechenden Flussraten gewählt, soweit dies durchführbar war. Auch hier wurden pro Infusionstyp jeweils sechs Experimente an verschiedenen Schweinen durchgeführt. Ziel der Studie war es, für beide Modelle, *in-vitro* und *in-vivo*, ein Ranking für den Einfluss der verschiedenen Infusionslösungen auf die Druckverhältnissen im Hämofilter, die Gerinnungsparameter und das Blutbild zu erstellen. Diese Rankings wurden anschließend verglichen.

Obwohl eine bestmögliche Konvergenz beider Modelle vorliegt, zeigen die Ergebnisse deutlich, dass die Aussagekraft von *in-vitro*-Studien zur Biokompatibilität stark beschränkt ist: es ergeben sich kaum Übereinstimmungen zwischen den *in-vitro*- und *in-vivo*-Ergebnissen hinsichtlich des infusionsspezifischen Einflusses. Bei den Druckverhältnissen am Filter zeigen das *in-vitro*- und das *in-vivo*-Diagramm jeweils verschiedene Messergebnisse der einzelnen Infusionsgruppen. Die HES 130-Gruppe scheint sowohl *in-vitro* wie auch *in-vivo* einen positiven Einfluss auf den TMP-Wert zu haben. In dieser Gruppe bleiben die Messergebnisse unter 17 kPa. Bei den Gerinnungsparametern ergeben sich zum Teil überraschende Ergebnisse. Obwohl die meisten Faktoren für die Gerinnungsaktivierung gut standardisiert werden können, lässt sich hinsichtlich der Gerinnungsparameter der wichtigste Unterschied zwischen den beiden Modellen nicht eliminieren: *in-vitro* handelt es sich um ein selbsterschöpfendes System, in dem es mit ablaufender Gerinnung zu einem Verbrauch an Gerinnungsfaktoren kommt, während *in-vivo* Regenerations- und Mobilisationsvorgänge aller Blutbestandteile möglich sind. Die Aussagekraft eines *in-vitro*-Modells hinsichtlich der Gerinnungsaktivierung ist damit auf spezifische Eigenheiten der Infusionslösungen begrenzt (fibrinogensparender Effekt von HES 130, Erythrozyten schonender Effekt von GEL). So ergeben sich wenige Parallelen zwischen den *in-vitro*- und *in-vivo*-Diagrammen zur Gerinnungsaktivierung. Überraschenderweise zeigen die Messergebnisse zu den AT III-

Konzentrationen eindeutig infusionsspezifische Eigenschaften: obwohl im in-vivo-System eine Heparinzufuhr Einfluss auf die AT III-Werte nimmt, können hier die Ergebnisse von in-vitro auf in-vivo übertragen werden: die Hydroxyethylstärken haben in beiden Modellen den günstigsten Einfluss auf die AT III-Konzentrationen. HES 130 zeigt in-vitro am Versuchsende über 110 %, in-vivo über 95 % des Ausgangswertes. Konstante AT III-Werte, wie sie vor allem in der H130-Gruppe gemessen werden, sind aus klinischer Sicht wünschenswert.

Bezüglich des Blutbildes bestärken sich beispielsweise in der HES 130-Gruppe die in-vitro-Ergebnisse in-vivo: neben ansteigenden Zellzahlen (Hämatokrit steigt in-vitro auf ca. 145 %, in-vivo auf ca. 120 % des Ausgangswertes, Thrombozyten liegen in-vitro bei ca. 95 %, in-vivo bei ca. 120 % des Ausgangswertes und bei den Leukozyten werden in-vitro-Werte von ca. 100 %, in-vivo von ca. 150 % des Ausgangswertes gemessen) kommt es zu einem eher geringen Hämolysegeschehen. In der NaCl-Gruppe hingegen widersprechen sich die in-vitro- und die in-vivo-Messergebnisse: kommt es in-vitro noch zu signifikant hohen Messergebnissen der Zellzahlen, ergeben sich in-vivo in dieser Infusionsgruppe sehr niedrige Werte: in-vitro steigt der Hämatokrit beispielsweise im Laufe des Versuchs auf 200 % des Ausgangswertes, in-vivo fällt er auf ca. 75 % des Ausgangswertes ab. Somit können hier weder Aussagen über spezifische Auswirkungen der Kolloide auf die Blutzellen noch über Interaktionen einer Hämofiltration auf die Blutzellen von den in-vitro-Ergebnissen auf in-vivo-Versuche übertragen werden.

Der Vergleich der Messergebnisse beider Modelle zeigt, dass nur vereinzelt vergleichbare Werte zur Druckentwicklung am Filter, Gerinnungsaktivierung oder Veränderungen des Blutbildes gemessen werden. So ergibt sich beispielsweise nur für einen Gerinnungsfaktor (AT III) eine hundertprozentige Bestätigung des infusionsspezifischen Einflusses. Der Hauptanteil der gemessenen Parameter ist methodenbedingt beeinflusst.

Dennoch kann dargestellt werden, dass es eine Übereinstimmung der aus den in-vitro-Daten erstellten Prognose hinsichtlich des Einflusses der Infusionslösungen auf die Gesamtbiokompatibilität der CVVH gibt. Für die Erstellung der Biokompatibilitätsprognose aus den in-vitro-Daten erweist es sich jedoch als wesentlich, bereits innerhalb des in-vitro-Systems weniger den einzelnen Parameter als Endergebnis zu betrachten, als vielmehr die Konsequenz der Parameterverläufe für die Filterfunktion (Clotting, Fouling, Clogging) als Biokompatibilitätsfaktor für die Prognose mit einzubeziehen. Insgesamt zeigt sich anhand der Ergebnisse dieser Arbeit, dass die unter in-vitro-Bedingungen fehlende Interaktion von Blutbestandteilen und anderen Körperzellen und Kompartimenten einen großen Einfluss auf die Messergebnisse hat. Bevor verlässliche Aussagen aus in-vitro-Daten für die in-vivo-Situation oder sogar für die Kliniksituation getroffen werden können, scheint es wesentlich, dass zunächst die Reaktion des gesamten Organismus anhand von Organfunktionen oder histomorphologischen Untersuchungen überprüft wird. Hierzu bedarf es einer Reihe von konsequenten in-vitro- versus in-vivo-Studien.

7 SUMMARY

Value of tests regarding the hemocompatibility analysis of hemofilters: in-vitro versus in-vivo

As some medicals possess only an insufficient biocompatibility, they might be a risk for the patient, thus it is necessary to test the used materials in-vitro, in-vivo, and in clinical studies regarding their biocompatibility, before applying them in a clinical environment. In those tests, several factors can have a significant influence on the reactions of the materials in terms of their biocompatibility, such as different experimental setups, different species, and diseases. The interaction of different biocompatibility reactions initiated by several modules of the extracorporeal circuit (such as filters, catheters, tubes, pumps, air and clot traps) as well as the influence of the contact between blood and body compartments on the biocompatibility is only rarely described in literature. Keeping in mind, that beneath those problems interactions with corollary therapies it becomes clear, how difficult it is to get reliable prognoses for the patient's biocompatibility out of in-vitro studies.

In this work we examined, whether the comparison between results of in-vitro and in-vivo hemofiltrations are different regarding biocompatibility, what then must be the influence of unexpected values of the models, and whether the prognoses regarding biocompatibility taken from the in-vitro experiment can be confirmed in the in-vivo case. For this purpose we used a dynamic recirculating in-vitro hemofiltration model, which was flushed with 2 liters of swine blood for two hours. The swine blood taken from the slaughterhouse was substituted by an infusion solution. For each of five different infusion solutions six experiments were run. In the continuous venovenous in-vivo hemofiltration circuit applied to narcotized swines the same infusion solutions, materials and - as far as possible - flow rates were used. Even in this case six experiments were run on each swine. The aim of this study was to estimate the influences of the different infusion solutions on the pressure at the hemofilter, the coagulation factor and the hemogram for both models, in-vitro and in-vivo, and compare them afterwards. Although both models are as similar as possible, the results show that it is hard to conclude from in-vitro studies regarding biocompatibility: There are mostly no conformities between the results out of both experiments regarding their infusion specific influence. Looking at the pressure at the hemofilter, one can find different results in both cases – in-vitro and in-vivo – for each infusion solution. The HES 130 group has in both cases a positive influence on the TMP value, as in this group the measurement stayed beyond 17 kPa. There are some surprising results concerning the coagulation parameters. Although most factors for the clotting activation could be standardized very well, it is not possible to eliminate the most important difference between both models: The in-vitro model is a self consuming system, which loses its clotting factors with the coagulation process, whereas the in-vivo model is able to regenerate and mobilize those blood parts. Thus the conclusion from the results of an in vitro model is limited to the specific properties of the infusion solution. (Fibrinogen saving effect of HES 130, erythrocyte preserving effect of GEL). Therefore just a few consistencies between the diagrams of both experiments concerning their clotting activation could be found. Surprisingly, the results of the AT-III concentration showed infusion specific properties: Although the heparin concentration in the in-vivo model is problematic to control, the results can be transferred from in-vitro to the in-vivo model: Hydroxyethylstarch has a positive influence on the AT-III concentration in both models, as the HES 130 value at the end of the experiment amounted to 110 % of the original value in the in-vitro experiment, whereas 95 % could be found in the case of the in-vivo model. Such constant values are favored in the clinical medicine.

E. g. the results of both model are similar in the case of the hemogram regarding the HES 130 group: Beneath the increasing amount of cells (the hematocrit value increased to 145 % in-

vitro and 120 % in-vivo, thrombocytes went to 95 % in-vitro and 120 % in-vivo and leucocytes to 100 % in-vitro and 150 % in-vivo) no more significantly hemolysis happened. Looking at the NaCl group, the results are in contrast: Whereas the amount of cells increased significantly in case of the in-vitro model, the in-vivo model gave very poor values: The hematocrit value increased up to 200 % in-vitro, but went down to 75 % in-vivo. Thus it one cannot conclude from in-vitro to in-vivo experiments regarding the specific influence of the colloids on blood cells and interactions such as a hemofiltration with them.

Comparing the results of both models, only rarely similar values such as pressure at the filter, clotting activation and changes of the hemogram can be found. So only in case of AT-III the infusion specific influence could be confirmed. The main part of the values is influenced by the different, used methods.

Nevertheless, the prognosis of influence of the infusion solutions on the biocompatibility seems to be true in case of CVVH. It seems to be very important, not to use a certain value of a parameter in the in-vitro experiment to create s prognosis, but to also keep the developing of the filtration parameters (clotting, fouling and clogging) in mind. The results of this work show clearly, that the missing interactions of the blood and other body compartments have great influence of the resulting values. Before concluding from in-vitro to in-vivo cases in clinical situations, it is necessary to proof the reaction of the whole organism with the help of organ functions or histomorphological examinations. A row of in-vitro versus in-vivo studies would be necessary to achieve such results.

8 ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS

8.1 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Vergleichende Darstellung der molekulargewichtsbezogenen Clearancekurven bei einer Hämofiltration sowie bei der Filtration des Blutes mit Bildung von Primärharn im Glomerulum einer gesunden Niere, hier zitiert und modifiziert nach (Samtleben und Blumenstein, 1999).....	3
Abb. 2: Prädilution contra Postdilution (Bachmann, 2004).....	7
Abb. 3: Verlegung einer Filterkapillare durch Clotting, Fouling oder Clogging.....	15
Abb. 4: Offener und rezirkulierender Hämofiltrationskreislauf.....	21
Abb. 5: Rezirkulierendes in-vitro-Flusssystem (Unger <i>et al.</i> , 2005).....	28
Abb. 6: Aufbau des in-vivo-Kreislaufs.....	32
Abb. 7: Protokoll des in-vivo-Versuchs, hier zitiert und modifiziert nach (Unger <i>et al.</i> , 2006).....	36
Abb. 8: In-vitro-Versuch: ein selbsterschöpfendes System.....	38
Abb. 9: In-vivo-Kreislauf: ein regenerierendes System.....	38
Abb. 10: Einfluss der verschiedenen Infusionsgruppen auf den transmembranären Druck, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40; (A = in-vitro; B = in-vivo).....	43
Abb. 11: Einfluss der verschiedenen Infusionsgruppen auf den transmembranären Druck in Abhängigkeit von den Flussraten Q_b und Q_f (A = in-vitro; B = in-vivo).....	43
Abb. 12: Einfluss der verschiedenen Infusionsgruppen auf den Filtratdruck, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40; (A = in-vitro; B = in-vivo).....	44
Abb. 13: Einfluss der verschiedenen Infusionsgruppen auf den Filtratdruck in Abhängigkeit von den Flussraten Q_b und Q_f (A = in-vitro; B = in-vivo).....	44
Abb. 14: Einfluss der verschiedenen Infusionsgruppen ALB, NaCl, HES 200, GEL und HES 130 auf die Druckentwicklung am Filter: Gegenüberstellung des transmembranären Drucks (TMP) gegen den Druckabfall über den Filter ($P_a - P_v$) gemessen bei unterschiedlich eingestellten Flussraten (Q_b/Q_f) [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40 (A = in-vitro; B = in-vivo).....	46
Abb. 15: Aktivierte partielle Thromboplastinzeit, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40; die Messergebnisse werden als VE in Prozent der Baseline	

angegeben; Werte unter 100% zeigen eine Gerinnungsaktivierung (A = in-vitro; B = in-vivo)	47
Abb. 16: Quickwert, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25, 200/40; die Messergebnisse werden als VE in Prozent der Baseline angegeben; Werte über 100% zeigen eine Gerinnungsaktivierung (A = in-vitro; B = in-vivo)	48
Abb. 17: Fibrinogenkonzentration, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40; die Messergebnisse werden als VE in Prozent der Baseline angegeben (A = in-vitro; B = in-vivo).....	49
Abb. 18: D-Dimere, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40; im in-vitro-Diagramm weisen die Mediane in der HES 200- und HES 130-Gruppe eine statistisch signifikante Differenz von $p < 0,05$ auf (A = in-vitro; B = in-vivo)	50
Abb. 19: Antithrombin III gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40 (A = in-vitro; B = in-vivo)	51
Abb. 20: Thrombin-Antithrombinzeit, in-vitro und in-vivo gemessen bei BSnat und VE (A = in-vitro; B = in-vivo).....	52
Abb. 21: Heparinverbrauch im in-vivo-System, gemessen bei BSSys, ZBS und VE (A = in-vitro; B = in-vivo).....	52
Abb. 22: Hämatokrit in-vitro, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40	53
Abb. 23: Hämatokrit in-vivo (A = gemessen von BSnat – VE, B = gemessen von BSSys – VE); im Diagramm A weisen die Mediane der Hämatokritwerte aller Gruppen eine statistisch signifikante Differenz mit $p < 0,05$ auf, sowohl die HES 200 und die ALB wie auch die HES 130 und die ALB Gruppe zeigen Differenzen mit $p < 0,05$; im Diagramm B weisen die Mediane aller Hämatokritwerte eine statistisch signifikante Differenz mit $p < 0,05$ auf; die HES 130 und die ALB Gruppe zeigen eine Differenz mit $p < 0,05$	53
Abb. 24: Freies Hämoglobin in-vitro, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40	54
Abb. 25: Freies Hämoglobin in-vivo (A = gemessen von BSnat – VE, B = gemessen von BSSys – VE)	54
Abb. 26: Thrombozyten in-vitro, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40 ..	55
Abb. 27: Thrombozyten in-vivo (A = gemessen von BSnat – VE, B = gemessen von BSSys – VE); im Diagramm A weisen die Mediane der Thrombozytenzahlen aller Gruppen eine statistisch signifikante Differenz mit $p < 0,05$ auf, die HES	

130 und die GEL Gruppe zeigen eine Differenz mit $p < 0,05$; im Diagramm B weisen die Mediane der Thrombozytenzahlen aller Gruppen eine statistisch signifikante Differenz mit $p < 0,05$ auf 55

Abb. 28: Gegenüberstellung der Mediane der Thrombozytenzahlen und der Hämatokritwerte (A = in-vitro, gemessen bei BS und VE; B = in-vivo, gemessen bei BSsys, ZBS und VE). Ein steiler Geradenverlauf zeigt einen starken Abfall der Thrombozyten bei geringfügig steigendem Hämatokritwert. . 56

Abb. 29: Leukozyten in-vitro, gemessen bei Q_b/Q_f [ml/min]: 75/15, 125/25 und 200/40..... 57

Abb. 30: Leukozyten in-vivo (A = gemessen von BSnat – VE, B = gemessen von BSsys – VE); 57

Abb. 31: Gegenüberstellung der Mediane der Leukozytenzahlen und der Hämatokritwerte (A = in-vitro, gemessen bei BS und VE; B = in-vivo, gemessen bei BSsys, ZBS und VE). Ein steiler Geradenverlauf zeigt einen starken Abfall der Leukozyten bei geringfügig steigendem Hämatokritwert. 58

8.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Beispiele für weitere Materialien in einem in-vitro-Hämofiltrationskreislauf 6

Tab. 2: Eigenschaften und Kosten verschiedener Antikoagulantien (Voß, 2007) 11

Tab. 3: "No-Definition" der Biokompatibilität (Bruck, 1973; Klinkmann *et al.*, 1984) 11

Tab. 4: Faktoren, welche die Adsorption von Proteinen und Zellen an einer Fremdoberfläche beeinflussen, nach Bambauer (1997) 12

Tab. 5: Modellkomponenten eines in-vitro-Modells 18

Tab. 6: Spezielle Eigenschaften des in-vitro verwendeten Filters (Unger *et al.*, 2005) 26

Tab. 7: Substitutionen der experimentellen Gruppen 29

Tab. 8: Gemessene Parameter in-vitro 29

Tab. 9: Messzeitpunkte im Studienprotokoll in-vitro 30

Tab. 10: Spezielle Eigenschaften des in-vivo verwendeten Filters (Unger *et al.*, 2006) 31

Tab. 11: Hauptmesszeitpunkte des Versuchprotokolls in-vivo 34

Tab. 12: Zusammenfassung der Unterschiede zwischen dem in-vitro- und dem in-vivo-Versuchsaufbau 40

Tab. 13: Einfluss der Versuchsdurchführung auf die aPTT-Werte in-vivo 48

Tab. 14: Einfluss der Versuchsdurchführung auf den Quick-Wert in-vivo 49

Tab. 15: Einfluss des Versuchprotokolls auf die Fibrinogenwerte in-vivo 50

Tab. 16: Einfluss der Versuchsdurchführung auf die AT III-Werte in-vivo	51
Tab. 17: Ranking für die Einzelparameter des in-vitro- und in-vivo-Systems, von links nach rechts in absteigender Reihenfolge	60
Tab. 18: Ranking der Blutzellwerte des in-vitro- und des in-vivo-Systems in absteigender Reihenfolge. Als positiv werden dabei konstante Hämatokrit- Thrombozyten-, Leukozytenwerte und ein niedriger fHb-Wert eingestuft.	72
Tab. 19: Zuordnung der Parameter zum dominanten Einfluss der Infusionstypen oder zur Dominanz durch Modellcharakteristika. Zeigen die Einzelparameter der jeweiligen Infusionsgruppen in-vitro und in-vivo ähnliche Verteilungsmuster, weist dies auf einen infusionsspezifischen Einfluss hin.	74
Tab. 20: Beispiele verschieden aufgebauter in-vitro-Modelle zur Hämofiltrationsforschung	86
Tab. 21: Transmembranärer Druck (TMP) in-vitro bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Q_b/Q_f)	87
Tab. 22: Transmembranärer Druck (TMP) in-vivo bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Q_b/Q_f)	87
Tab. 23: Filtratdruck (P_f) in-vitro bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Q_b/Q_f)	88
Tab. 24: Filtratdruck (P_f) in-vivo bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Q_b/Q_f)	88
Tab. 25: Druckabfall über das Filterkompartiment (P_a-P_v) in-vitro bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Q_b/Q_f)	89
Tab. 26: Druckabfall über das Filterkompartiment (P_a-P_v) in-vivo bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Q_b/Q_f)	89
Tab. 27: aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) in-vitro	90
Tab. 28: aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) in-vivo	90
Tab. 29: Quickwert in-vitro	90
Tab. 30: Quickwert in-vivo	90
Tab. 31: Fibrinogenkonzentration in-vitro	90
Tab. 32: Fibrinogenkonzentration in-vivo	91
Tab. 33: D-Dimerkonzentration in-vitro	91
Tab. 34: D-Dimerkonzentration in-vivo	91
Tab. 35: Antithrombin III-Konzentration (AT III) in-vitro	91
Tab. 36: Antithrombin III-Konzentration (AT III) in-vivo	91

Tab. 37: Thrombin-Antithrombin-Konzentration (TAT) in-vitro	92
Tab. 38: Thrombin-Antithrombin-Konzentration (TAT) in-vivo	92
Tab. 39: gesamter Heparinverbrauch in-vivo	92
Tab. 40: Hämatokrit (Hct) in-vitro	92
Tab. 41: Hämatokrit (Hct) in-vivo; gemessen von BSsys-VE	92
Tab. 42: Hämatokrit (Hct) in-vivo; gemessen von BSnat-VE	93
Tab. 43: Mediane des Hämatokritwerts (Hct) in-vitro; gemessen bei BS und VE	93
Tab. 44: Mediane des Hämatokritwerts (Hct) in-vivo; gemessen bei Bssys, ZBS und VE	93
Tab. 45: freies Hämoglobin (fHb) in-vitro	93
Tab. 46: freies Hämoglobin (fHb) in-vivo; gemessen von BSsys-VE	93
Tab. 47: freies Hämoglobin (fHb) in-vivo; gemessen von BSnat-VE	94
Tab. 48: Thrombozyten (Plts) in-vitro	94
Tab. 49: Thrombozyten (Plts) in-vivo; gemessen von BSsys-VE	94
Tab. 50: Thrombozyten (Plts) in-vivo; gemessen von BSnat-VE	94
Tab. 51: Mediane der Thrombozytenwerte (Plts) in-vitro; gemessen bei BS und VE	94
Tab. 52: Mediane der Thrombozytenwerte (Plts) in-vivo; gemessen bei BSsys, ZBS und VE	95
Tab. 53: Leukozyten in-vitro	95
Tab. 54: Leukozyten in-vivo; gemessen bei BSsys-VE	95
Tab. 55: Leukozyten in-vivo; gemessen bei BSnat-VE	95
Tab. 56: Mediane der Leukozytenwerte in-vitro; gemessen bei BS und VE	95
Tab. 57: Mediane der Leukozytenwerte in-vivo; gemessen bei Bssys, ZBS und VE	95

9 ANHANG

Tab. 20: Beispiele verschieden aufgebauter in-vitro-Modelle zur Hämofiltrationsforschung

Autor / Jahr	Spezies	Blut	Zirkulation	Filtertyp	Anti-koagulanz	Substitution
(Laufenburg, 2002)	Mensch	Vollblut	Blutpumpeneinheit: BSM 22SC (Hospal, Lyon, France)	Minimodule zur klinischen Anwendung bei Kindern (Ultrafilter U 2000, Gambro, Hechingen, Deutschland; Cobe Centrysystem 100 HG, COBE Laboratories, Lakewood, USA; SPS6002-P, Fresenius, Bad Homburg, Deutschland; Miniflow 10 Hohlfaser-Hämofilter/-Dialysator, HOSPAL, Lyon, France)	Heparin	Keine, da es ein rezirkulierendes Modell ist
(Benz, 2001)	Mensch	Kompositionelles Vollblut und 5%ige Humanalbuminlösung	Konventionelle Rollerpumpe (Fresenius, Homburg, Deutschland)	4 verschiedene High-flux und 4 verschiedene Low-flux Hämodialysatoren (Polyflux 14S, Allwall GF S 12, Gambro, Hechingen; Arylane, Hospal, Lyon, France; Fresenius F60S u. Fresenius F6HPS, Fresenius, Bad Homburg; Filtryzer BK1,3P u. B3-1,3A Toray Industries, Tokyo, Japan; Idemsa 25H, Idemsa, Segovia, Spanien)	Hirudin	Keine, da es ein rezirkulierendes Modell ist
(Unger <i>et al.</i> , 2006a)	Schwein	Vollblut		Hämofilter (FH6S-filter)	Heparin	Keine, da es ein rezirkulierendes Modell ist
(Keldenich <i>et al.</i> , 2000)	Mensch	Vollblut	Rollerpumpe (Stoeckert, München, Deutschland)	Arterieller Filter (Dideco D733 micro 40)	Heparin	Keine, da es ein rezirkulierendes Modell ist
(Yang und Lin, 2000)	Mensch	Vollblut	Peristaltikpumpe (302S, Watson-Marlow Ltd.)	PAN-Dialysator (PAN-65DX, Asahi, Japan)	Heparin	Keine, da es ein rezirkulierendes Modell ist
(Masaki <i>et al.</i> , 1999)	Mensch	Vollblut	Peristaltikpumpe (Model 7401-PI-EI, Drake Willock Portland, OR)	High-flux polysulfone (F60), Low-flux polysulfone (F6, beide Fresenius, Concord, CA), Curiprohan (2308 Travenol, Deerfield IL), AN69 (Filtral 12, Hospal, East Brunswick, NJ)	Heparin	Keine, da es ein rezirkulierendes Modell ist
(Koster <i>et al.</i> , 2003)	Mensch	Rote Blutzellen, FFP, frisches Vollblut, jeweils 400 ml	Rollerpumpe (S3, Stoeckert, München, Deutschland)	Hemofilter (Fresenius Ultraflux AV 600S; Hospal Arylane H4; Mintech Hemocor HPH 700; Asahi APS), Plasmaseparator (Asahi Plasmaflo OP)	Bivalirudin	
(Reiter <i>et al.</i> , 2002)	Mensch	Urämisches Blut (konzentriertes Ultrafiltrat von einem chronischem Dialysepatienten mit Erythrozytenkonzentrat von einem gesunden Spender)	Pumpe	Low-flux polysulfone filter (fresenius F8, FMC) mit einem Hämoerfusions-Filterersatz (Betasorb®, Renal Tech)	keine	Keine, da es ein rezirkulierendes Modell ist

Tab. 21: Transmembranärer Druck (TMP) in-vitro bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Q_b/Q_f)

Q _b /Q _f [ml/min]	ALB TMP [kPa]	NaCl TMP [kPa]	HES 200 TMP [kPa]	GEL TMP [kPa]	HES 130 TMP [kPa]
75/15	6,66	9,33	1,33	7,33	13,99
	7,33	7,99	8,66	3,33	3,33
	7,99	4,66	6,66	7,99	3,33
	7,99	7,99	4	5,33	0,67
	7,33	3,33	6,66	mv	5,33
	mv	mv	7,33	mv	0
125/25	15,33	21,33	11,99	11,33	5,99
	9,99	9,33	16,66	7,99	9,99
	11,33	5,33	9,33	12,66	7,99
	11,33	6,66	10,66	9,33	7,33
	11,33	9,33	10,66	mv	6,66
	mv	mv	7,33	mv	mv
200/40	33,99	38,66	19,99	15,99	11,33
	19,33	33,33	33,33	13,99	16,66
	20,66	19,33	18,66	23,33	13,33
	19,99	13,33	11,99	26,66	9,33
	22,66	7,99	22,66	mv	9,33
	mv	mv	15,33	mv	mv

Tab. 22: Transmembranärer Druck (TMP) in-vivo bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Q_b/Q_f)

Q _b /Q _f [ml/min]	ALB TMP [kPa]	NaCl TMP [kPa]	HES 200 TMP [kPa]	GEL TMP [kPa]	HES 130 TMP [kPa]
75/15	4,00	5,33	5,33	4,93	3,60
	3,86	3,33	5,06	5,33	6,93
	3,86	5,86	0,13	4,00	6,66
	-0,80	1,20	3,33	4,53	1,86
	1,20	2,26	2,00	4,40	1,73
	3,46	0,93	3,33	4,53	3,06
125/25	4,00	9,99	6,66	6,93	4,93
	5,20	5,20	4,40	4,53	4,66
	0,40	2,66	0,80	5,33	0,26
	4,13	4,80	4,53	5,20	5,20
	4,93	3,33	5,06	7,99	5,06
200/40	11,86	14,93	23,86	9,33	9,73
	10,79	10,93	7,19	7,19	16,79
	5,46	9,19	mv	69	mv

Tab. 23: Filtratdruck (P_f) in-vitro bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Q_b/Q_f)

Q_b/Q_f [ml/min]	ALB P_f [kPa]	NaCl P_f [kPa]	HES 200 P_f [kPa]	GEL P_f [kPa]	HES 130 P_f [kPa]
75/15	-0,66	0,00	9,33	2,00	-1,33
	1,33	1,33	1,33	2,66	4,00
	0,00	1,33	0,00	-0,66	2,00
	1,33	1,33	0,67	3,33	3,33
	2,66	2,66	2,00	mv	2,00
	mv	mv	3,73	mv	2,00
125/25	0,00	-1,06	14,66	15,99	13,33
	13,59	1,33	15,99	12,66	13,99
	11,59	13,73	15,33	18,66	13,99
	12,93	12,93	5,99	14,66	13,99
	13,33	13,33	14,66	mv	13,99
	mv	mv	13,99	mv	mv
200/40	0,00	-0,66	11,99	13,33	12,66
	11,33	0,00	5,33	11,33	13,33
	7,99	6,66	12,66	17,33	13,99
	7,99	12,66	8,66	12,66	9,99
	9,33	21,99	10,66	mv	9,33
	mv	mv	7,99	mv	mv

Tab. 24: Filtratdruck (P_f) in-vivo bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Q_b/Q_f)

Q_b/Q_f [ml/min]	ALB P_f [kPa]	NaCl P_f [kPa]	HES 200 P_f [kPa]	GEL P_f [kPa]	HES 130 P_f [kPa]
75/15	0,66	3,33	3,33	2,93	0,93
	6,66	4,80	2,13	2,40	1,46
	2,00	0,26	7,06	1,46	2,00
	6,13	7,06	0,80	2,53	3,46
	2,40	5,06	5,60	0,00	4,40
	1,20	2,66	2,13	4,26	2,66
125/25	12,66	0,66	11,33	16,26	3,33
	3,46	28,66	9,73	4,26	3,86
	15,73	12,22	10,66	20,66	12,26
	5,20	11,44	4,00	2,53	5,99
	mv	4,66	4,26	5,06	5,20
200/40	10,79	20,79	-3,33	10,93	3,86
	2,66	15,73	18,36	8,13	0,66
	15,99	12,53	mv	20,13	mv

Tab. 25: Druckabfall über das Filterkompartiment (Pa-Pv) in-vitro bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Qb/Qf)

Q _b /Q _f [ml/min]	ALB P _a -P _v [kPa]	NaCl P _a -P _v [kPa]	HES 200 P _a -P _v [kPa]	GEL P _a -P _v [kPa]	HES 130 P _a -P _v [kPa]
75/15	6,66	10,66	7,99	7,99	16,66
	6,66	8,66	11,99	7,99	7,33
	8,66	8,66	6,66	7,33	9,33
	7,99	7,99	7,33	9,33	2,66
	7,99	7,99	9,99	mv	7,33
	mv	mv	8,66	mv	7,33
125/25	19,33	27,99	13,99	13,99	49,99
	10,66	11,99	16,66	9,99	9,33
	12,66	4,93	11,33	12,66	11,99
	11,99	8,66	8,66	17,99	9,99
	13,33	13,33	14,66	mv	9,33
	mv	mv	11,99	mv	15,33
200/40	35,99	41,33	23,33	22,66	13,33
	21,98	25,99	31,99	15,99	19,99
	19,99	15,99	21,33	29,99	13,33
	19,99	17,99	14,66	34,93	9,99
	21,99	19,99	26,66	mv	25,33
	mv	mv	15,33	mv	mv

Tab. 26: Druckabfall über das Filterkompartiment (Pa-Pv) in-vivo bei unterschiedlichen Einstellungen der Flussraten (Qb/Qf)

Q _b /Q _f [ml/min]	ALB P _a -P _v [kPa]	NaCl P _a -P _v [kPa]	HES 200 P _a -P _v [kPa]	GEL P _a -P _v [kPa]	HES 130 P _a -P _v [kPa]
75/15	0,66	2,66	2,00	2,80	2,13
	1,46	1,86	2,40	3,33	2,53
	2,00	2,93	2,80	2,26	2,66
	1,33	3,60	2,93	3,33	2,66
	4,13	2,66	3,60	2,13	3,73
	4,53	2,66	3,60	2,40	2,66
125/22	2,40	4,00	5,33	4,53	3,33
	3,60	6,26	2,80	3,20	3,46
	2,66	4,40	4,53	3,73	3,33
	3,33	4,26	4,00	3,73	3,86
	4,80	3,86	4,93	4,00	mv
	mv	mv	2,80	4,00	mv
200/45	4,80	8,39	6,53	6,39	4,00
	5,33	6,39	4,93	5,46	5,86
	4,53	6,66	5,73	4,00	6,66

Tab. 27: aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) in-vitro

aPTT [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	105,82	100,53	100	94,09	96,07
	95,24	106,31	97,27	91,69	91,07
	97,13	93,49	91,87	98,68	100,47
	99,12	89,57	104,33	108,41	100
	100	105,83	87,05	86,29	93,69
	mv	100	96,46	mv	95,19

Tab. 28: aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) in-vivo

aPTT [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	151,95	255,30	100,00	136,85	27,59
	22,57	202,40	65,44	100,00	51,04
	18,46	61,27	59,46	42,17	33,45
	65,87	129,80	112,50	66,75	96,21
	102,27	81,86	80,19	49,23	105,67
	mv	74,10	mv	64,90	mv

Tab. 29: Quickwert in-vitro

Quick [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	98,84	101,18	96,63	97,56	100,00
	98,91	98,86	96,63	98,96	96,70
	100,00	96,77	96,59	96,39	100,00
	97,85	103,45	97,62	92,05	101,11
	95,74	97,96	97,59	92,78	96,81
	mv	96,47	94,62	mv	95,41

Tab. 30: Quickwert in-vivo

Quick [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	96,74	101,09	95,51	92,47	105,38
	113,27	87,37	115,56	98,94	102,22
	90,29	103,45	95,51	106,74	106,98
	90,48	97,67	103,70	98,88	107,69
	95,65	92,63	92,00	98,84	102,17
	mv	102,22	mv	104,05	98,89

Tab. 31: Fibrinogenkonzentration in-vitro

Fibrinogen [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	106,83	99,66	94,37	104,30	113,04
	113,26	106,56	107,49	100,63	107,83
	107,14	109,18	121,26	112,18	112,50
	114,49	112,30	113,73	105,81	118,93
	109,83	107,83	113,78	118,85	125,13
	mv	109,78	110,42	mv	126,29

Tab. 32: Fibrinogenkonzentration in-vivo

Fibrinogen [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	88,97	108,09	99,34	107,46	126,17
	112,93	92,36	123,48	108,94	110,56
	100,67	108,06	119,72	106,98	111,56
	95,89	103,20	104,81	99,02	128,18
	mv	124,26	89,23	95,27	92,25
	mv	112,65	mv	115,70	118,85

Tab. 33: D-Dimerkonzentration in-vitro

D-Dimere [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	98,43	112,45	97,46	136,68	121,05
	96,06	105,11	95,47	108,06	160,61
	88,46	88,69	89,39	84,00	156,43
	117,06	78,17	91,14	108,56	118,26
	105,00	214,86	90,91	94,25	127,33
	mv	104,02	94,80	mv	149,46

Tab. 34: D-Dimerkonzentration in-vivo

D-Dimere [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	283,33	266,67	mv	126,32	128,57
	425,00	133,33	66,67	138,46	200,00
	107,14	155,56	144,44	230,00	137,50
	122,22	143,75	105,88	271,43	175,00
	mv	114,29	94,44	181,82	109,52
	mv	mv	mv	142,86	130,43

Tab. 35: Antithrombin III-Konzentration (AT III) in-vitro

AT III [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	104,04	97,50	110,42	106,67	113,58
	103,61	111,11	107,95	109,78	114,29
	105,75	103,33	140,54	103,88	130,59
	120,29	132,35	124,75	120,73	108,00
	107,29	136,59	104,08	103,75	105,19
	mv	104,26	107,79	mv	112,05

Tab. 36: Antithrombin III-Konzentration (AT III) in-vivo

AT III [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	81,93	82,02	80,00	78,82	96,43
	93,59	70,37	mv	73,81	95,60
	76,25	72,46	114,29	92,11	96,10
	68,29	81,32	89,04	82,93	75,47
	mv	88,17	93,55	78,05	90,00
	mv	88,54	83,54	105,08	93,98

Tab. 37: Thrombin-Antithrombin-Konzentration (TAT) in-vitro

TAT [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSnat*VE)	84,76	132,98	99,15	118,31	115,63
	86,30	74,60	130,22	110,53	182,67
	101,49	89,46	98,52	118,75	105,52
	75,54	92,28	131,11	91,36	81,70
	103,33	175,69	116,67	202,99	96,23
	mv	104,26	103,46	mv	148,58

Tab. 38: Thrombin-Antithrombin-Konzentration (TAT) in-vivo

TAT [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSnat*VE)	65,50	18,78	mv	26,35	66,96
	37,26	10,14	55,33	84,26	149,53
	mv	32,00	162,35	490,32	17,94
	362,82	274,73	84,62	67,72	134,04
	163,04	140,77	48,67	mv	43,02

Tab. 39: gesamter Heparinverbrauch in-vivo

Heparinverbrauch					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
BSsys	4858,25	5030,00	4958,33	5242,86	4891,67
ZBS	16075,25	17806,00	13716,67	16160,14	15841,50
VE	19525,25	25302,80	18239,33	21955,14	22088,83

Tab. 40: Hämatokrit (Hct) in-vitro

Hct [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	113,02	97,31	118,75	181,42	105,41
	103,32	105,77	107,75	105,61	109,17
	83,90	168,85	123,48	103,61	130,70
	95,04	110,62	92,04	120,49	168,22
	112,57	109,23	123,53	113,61	113,10
	mv	99,15	97,31	mv	109,23

Tab. 41: Hämatokrit (Hct) in-vivo; gemessen von BSsys-VE

Hct [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	95,45	96,30	mv	103,70	122,73
	104,76	mv	152,63	95,83	109,09
	100,00	100,00	113,04	100,00	112,50
	104,00	113,04	109,09	90,91	118,18
	104,17	100,00	109,52	137,50	114,29
	96,00	108,70	104,55	113,04	113,04

Tab. 42: Hämatokrit (Hct) in-vivo; gemessen von BSnat-VE

Hct [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSnat*VE)	100,00	96,30	mv	100,00	112,50
	100,00	0,00	104,17	95,83	109,09
	100,00	111,54	96,00	100,00	108,00
	92,86	108,33	104,17	95,24	113,04
	104,17	100,00	96,00	122,22	114,29
	96,00	104,17	104,17	113,04	104,00

Tab. 43: Mediane des Hämatokritwerts (Hct) in-vitro; gemessen bei BS und VE

Hct [l/l]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
BS	0,39	0,39	0,38	0,38	0,35
VE	0,40	0,43	0,44	0,43	0,44

Tab. 44: Mediane des Hämatokritwerts (Hct) in-vivo; gemessen bei Bssys, ZBS und VE

Hct [l/l]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
BSSys	0,24	0,24	0,22	0,22	0,22
ZBS	0,24	0,24	0,23	0,22	0,25
VE	0,24	0,26	0,25	0,23	0,26

Tab. 45: freies Hämoglobin (fHb) in-vitro

fHb [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSSys*VE)	131,01	132,56	115,15	157,33	152,14
	137,65	238,19	127,21	126,66	141,39
	137,62	171,15	122,22	158,72	227,11
	160,26	245,21	186,80	136,60	150,68
	147,92	227,11	158,68	133,33	130,88
	mv	121,20	192,04	mv	123,10

Tab. 46: freies Hämoglobin (fHb) in-vivo; gemessen von BSSys-VE

fHb [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSSys*VE)	150,00	100,00	700,00	100,00	100,00
	250,00	100,00	250,00	100,00	150,00
	100,00	100,00	100,00	150,00	100,00
	200,00	28,57	100,00	100,00	100,00
	166,67	66,67	75,00	800,00	150,00
	50,00	mv	mv	66,67	50,00

Tab. 47: freies Hämoglobin (fHb) in-vivo; gemessen von BSnat-VE

fHb [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSnat*VE)	25,00	66,67	700,00	200,00	50,00
	250,00	mv	mv	100,00	75,00
	50,00	50,00	55,56	100,00	50,00
	33,33	100,00	100,00	100,00	66,67
	100,00	66,67	75,00	266,67	150,00
	mv	40,00	75,00	25,00	16,67

Tab. 48: Thrombozyten (Plts) in-vitro

Plts [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	97,89	97,85	105,43	64,62	96,53
	79,04	88,01	94,74	101,31	101,43
	77,66	73,70	101,18	102,02	88,93
	75,89	111,93	108,86	105,15	90,38
	92,36	88,93	88,03	88,22	103,36
	mv	91,63	100,36	mv	96,81

Tab. 49: Thrombozyten (Plts) in-vivo; gemessen von BSsys-VE

Plts [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	97,03	64,14	mv	98,44	129,30
	62,11	mv	118,22	52,44	114,53
	98,18	119,72	115,77	108,68	119,55
	123,04	52,08	118,44	96,53	118,70
	101,47	91,74	109,29	119,57	96,97
	89,20	116,59	124,60	96,45	117,33

Tab. 50: Thrombozyten (Plts) in-vivo; gemessen von BSnat-VE

Plts [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSnat*VE)	82,37	56,49	mv	69,16	102,96
	50,00	mv	76,22	35,25	97,04
	108,47	116,44	83,78	67,61	84,29
	102,87	104,44	90,60	68,72	94,79
	74,73	84,74	92,73	87,50	94,46
	80,25	104,98	94,58	77,55	103,04

Tab. 51: Mediane der Thrombozytenwerte (Plts) in-vitro; gemessen bei BS und VE

Plts [G/l]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
BS	376	308	312	369	284
VE	292	290	308	358	268

Tab. 52: Mediane der Thrombozytenwerte (Plts) in-vivo; gemessen bei BSsys, ZBS und VE

Plts [G/l]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
BSsys	247	251	226	244	238
ZBS	235	247	222	214	254
VE	165	140	141	124	163

Tab. 53: Leukozyten in-vitro

Leukos [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	88,24	103,57	98,39	67,70	94,57
	95,45	98,26	103,80	97,71	104,35
	87,79	66,22	88,19	94,68	79,51
	100,00	116,67	103,27	108,65	70,06
	95,77	79,51	89,51	93,88	113,64
	mv	92,03	101,56	mv	104,21

Tab. 54: Leukozyten in-vivo; gemessen bei BSsys-VE

Leukos [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSsys*VE)	137,00	145,51	mv	227,46	150,00
	121,47	mv	70,20	166,67	151,40
	117,54	140,56	124,43	101,93	141,13
	139,35	120,67	141,45	108,18	124,71
	107,04	123,46	119,21	113,83	146,39
	147,89	124,64	110,00	108,47	204,26

Tab. 55: Leukozyten in-vivo; gemessen bei BSnat-VE

Leukos [%]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
(100/BSnat*VE)	112,39	123,98	mv	127,65	121,11
	114,45	0,00	104,51	130,54	109,72
	117,54	131,09	93,14	80,67	97,77
	119,34	107,10	100,74	92,25	101,92
	83,06	104,25	78,26	82,63	103,40
	108,81	87,31	83,54	71,91	123,61

Tab. 56: Mediane der Leukozytenwerte in-vitro; gemessen bei BS und VE

Leukos [G/l]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
BS	13,6	13	13,55	18,5	11,85
VE	13	12,15	12,9	17,8	12,1

Tab. 57: Mediane der Leukozytenwerte in-vivo; gemessen bei BSsys, ZBS und VE

Leukos [G/l]					
	ALB	NaCl	HES 200	GEL	HES 130
BSsys	14,55	17,9	14,6	11,75	17,45
ZBS	15,25	20,2	15,2	16,75	21,7
VE	64,32	72,98	48,75	64,21	76,75

10 LITERATURVERZEICHNIS

- Adams, H.A.; Michels, R.; Hempelmann, G. (1993):
Indications for the use of human albumin in anesthesia and intensive care medicine.
Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 28(2): 66-74
- Adams, H.A.; Piepenbrock, S.; Hempelmann, G. (1998):
Volume replacement solutions-pharmacology and clinical use.
Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 33(1): 2-17
- Agostoni, A.; Gardinali, M. (1989):
Complement activation during hemodialysis.
J Biomater Appl 4(2): 102-22
- Alderson, P.; Bunn, F.; Lefebvre, C.; Li, W.P.; Li, L.; Roberts, I.; Schierhout, G. (2004):
Human albumin solution for resuscitation and volume expansion in critically ill patients.
Cochrane Database Syst Rev(4): CD001208
- Alwall, N.; Lindgren, P.; Lunderquist, A. (1952):
On the artificial kidney. XX. Treatment of severe phenobarbital poisoning in rabbits, by means of forced polyuria, exchange ultrafiltration and dialysis, and a preliminary report on dialytic treatment of barbiturate poisoning in patients.
Acta Med Scand 143(4): 299-306
- Amelsberg, A.; Zurborn, K.H.; Gartner, U.; Kiehne, K.H.; Preusse, A.K.; Bruhn, H.D. (1992):
Influence of heparin treatment on biochemical markers of an activation of the coagulation system.
Thromb Res 66(2-3): 121-31
- Ansorge, W.; Spindler, E.; Vienken, J.; Baurmeister, U. (1993):
Membranes and polymer structures--biocompatibility aspects with respect to production limits.
Transfus Sci 14(2): 199-209
- Bachmann, H.(2004):
"Nierenersatzverfahren in der Intensivmedizin."
Fortbildung der Intensivmedizin Klinikum am Bruderwald, 10
- Bambauer, R. (1997):
Wechselwirkungen zwischen körperfremden Oberflächen und Blut. In Therapeutischer Plasmaaustausch und verwandte Plasmaseparationsverfahren.
Pabst Sciences Publishers
- Baumgartner-Parzer, S.M.; Seyfert, U.T.; Mannhalter, C. (1995):
Possible clinical effects of the interaction of hemodialysis membranes with adhesion proteins.
Kidney Int 47(4): 1115-20
- Baurmeister, U.; Vienken, J.; Grassmann, A. (1991):
Biocompatibility and membrane development.
Nephrol Dial Transplant 6 Suppl 3: 17-21

Beck, K. (1999):

Hämofiltration.

München: Ludwig-Maximilians-Univ., Pflegefacharbeit

Belboul, A.; Akbar, O.; Lofgren, C.; Jungbeck, M.; Storm, C.; Roberts, A. (2000):

Improved blood cellular biocompatibility with heparin coated circuits during cardiopulmonary bypass.

J Cardiovasc Surg (Torino) 41(3): 357-62

Bellomo, R.; Kellum, J.A.; Gandhi, C.R.; Pinsky, M.R.; Ondulik, B. (2000):

The effect of intensive plasma water exchange by hemofiltration on hemodynamics and soluble mediators in canine endotoxemia.

Am J Respir Crit Care Med 161(5): 1429-36

Bellomo, R.; Ronco, C.; Kellum, J.A.; Mehta, R.L.; Palevsky, P. (2004):

Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group.

Crit Care 8(4): R204-12

Benz, K. (2001):

Vergleich unterschiedlicher Hämodialysatoren. In vitro-Untersuchungen zur Adsorption und Filtration von rekombinantem Hirudin.

Freiburg: Albert-Ludwigs-Univ., Diss.

Birk, H.W.; Kistner, A.; Wizemann, V.; Schutterle, G. (1995):

Protein adsorption by artificial membrane materials under filtration conditions.

Artif Organs 19(5): 411-5

Boldt, J.; Priebe, H.J. (2003):

Intravascular volume replacement therapy with synthetic colloids: is there an influence on renal function?

Anesth Analg 96(2): 376-82, table of contents

Boldt, J.; Suttner, S. (2005):

Plasma substitutes.

Minerva Anesthesiol 71(12): 741-58

Boldt, J.; Mengistu, A.; Seyfert, U.T.; Vogt, A.; Hellstern, P. (2007):

The impact of a medium molecular weight, low molar substitution hydroxyethyl starch dissolved in a physiologically balanced electrolyte solution on blood coagulation and platelet function in vitro.

Vox Sang 93(2): 139-44

Bouman, C.S.; De Pont, A.C.; Meijers, J.C.; Bakhtiari, K.; Roem, D.; Zeerleder, S.; Wolbink, G.; Korevaar, J.C.; Levi, M.; De Jonge, E. (2006):

The effects of continuous venovenous hemofiltration on coagulation activation.

Crit Care 10(5): R150

- Bowry, S.K. (2002):
Dialysis membranes today.
Int J Artif Organs 25(5): 447-60
- Brash, J.L.; Ten Hove, P. (1993):
Protein adsorption studies on 'standard' polymeric materials.
J Biomater Sci Polym Ed 4(6): 591-9
- Brehme, S.; Keysser, G.; Turowski, A.; Schmidt, H.H. (1993):
Hemorheologic effects of hydroxyethyl starch 200/0.5, dextran 40, oxypolygelatine and full electrolyte solution over 48 hours.
Z Gesamte Inn Med 48(10): 506-10
- Bruck, S.D. (1973):
Polymeric materials: current status of biocompatibility.
Biomater Med Devices Artif Organs 1(1): 79-98
- Brull, L. (1928):
Realisation de l'ultrafiltration in vivo.
Biol.C R. 99: 105
- Bunn, F.; Alderson, P.; Hawkins, V. (2003):
Colloid solutions for fluid resuscitation.
Cochrane Database Syst Rev(1): CD001319
- Cardigan, R.A.; McGloin, H.; Mackie, I.J.; Machin, S.J.; Singer, M. (1999):
Activation of the tissue factor pathway occurs during continuous venovenous hemofiltration.
Kidney Int 55(4): 1568-74
- Carl, M.; Alms, A.; Braun, J.; Dongas, A.; Erb, J.; Goetz, A.; Göpfert, M.; Gogarten, W.; Große, J.; Heller, A.; Heringlake, M.; Kastrup, M.; Kröner, A.; Loer, S.; Marggraf, G.; Markewitz, A.; Reuter, M.; Schmitt, D.; Schirmer, U.; Wiesenack, C.; Zwissler, B.; Spies, C. (2008):
S3-Leitlinie zur intensivmedizinischen Versorgung herzchirurgischer Patienten.
Berlin: Universitätskliniken für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin. - -
- Cheung, A.K.; Hohnholt, M.; Gilson, J. (1991):
Adherence of neutrophils to hemodialysis membranes: role of complement receptors.
Kidney Int 40(6): 1123-33
- Churchwell, M.D.; Pasko, D.A.; Btaiche, I.F.; Jain, J.C.; Mueller, B.A. (2007):
Trace element removal during in vitro and in vivo continuous haemodialysis.
Nephrol Dial Transplant 22(10): 2970-7
- Clark, W.R.; Hamburger, R.J.; Lysaght, M.J. (1999):
Effect of membrane composition and structure on solute removal and biocompatibility in hemodialysis.
Kidney Int 56(6): 2005-15

- Daxbeck, H.B., B Stanic, L Neumayer, S. (2007):
Erweiterung der Grundlagen für einen effizienten Ausstieg aus der Verwendung PVC-haltiger
medizinischer Artikel.
Project VEMED II, Artikelkatalog PVC-freier Artikel, Vers. 1.0: 230
- De Jonge, E.; Levi, M. (2001):
Effects of different plasma substitutes on blood coagulation: a comparative review.
Crit Care Med 29(6): 1261-7
- Ding, M.J.; Xu, S.W.; Zhang, J.; Wang, Q.; Chang, Y.; Chen, F.; Zeng, Y.J. (2007):
Trauma to erythrocytes induced by long term in vitro pumping using a roller pump.
Cell Biol Int 31(8): 763-7
- Dorson, W.J. (1984):
Biocompatibility, leachables and membrane structure.
Trans Am Soc Artif Intern Organs 30: 715-7
- Dungen, H.D.; Von Heymann, C.; Ronco, C.; Kox, W.J.; Spies, C.D. (2001):
Renal replacement therapy: physical properties of hollow fibers influence efficiency.
Int J Artif Organs 24(6): 357-66
- Eckstein, R. (2008):
Grundlagen der Hämostase.
Skript zur Vorlesung Transfusionsmedizin/Hämostaseologie
- Eger, L.; Knopf, A.; Kobela, J.B.; Haltern, C.; Grosse-Siestrup, C.; Unger, J.K. (2005):
Albumin substitution may reduce heparin dosage for CVVH in pigs - confirmation of in vitro
investigations.
Int J Artif Organs 2005; 28: 521, presentation on the EWM 2005
- Egli, G.A.; Zollinger, A.; Seifert, B.; Popovic, D.; Pasch, T.; Spahn, D.R. (1997):
Effect of progressive haemodilution with hydroxyethyl starch, gelatin and albumin on blood
coagulation.
Br J Anaesth 78(6): 684-9
- El-Hilali, E.A. (2006):
Der Einfluss von aus Kartoffelstärke hergestellten HES 6%- und HES 10%- Lösungen auf
rheologische und gerinnungsphysiologische Parameter im Vergleich zu 4%-iger Gelatine
und einer Kombination von HES 6% und 4%-iger Gelatine bei Hysterektomie-Patientinnen.
Münster: Westfälischen Wilhelms-Univ., Medizinische Fakultät, Diss.
- Elhanan, N.; Skippen, P.; Nuthall, G.; Krahn, G.; Seear, M. (2004):
Citrate anticoagulation in pediatric continuous venovenous hemofiltration.
Pediatr Nephrol 19(2): 208-12
- Erlenkotter, A.; Endres, P.; Nederlof, B.; Hornig, C.; Vienken, J. (2008):
Score model for the evaluation of dialysis membrane hemocompatibility.
Artif Organs 32(12): 962-9

Esche, V.; Russ, M.; Melzer, S.; Grossmann, B.; Boemke, W.; Unger, J.K. (2008):
Buffer capacity of 4% succinylated gelatin does not provide any advantages over acidic 6% hydroxyethyl starch 130/0.4 for acid-base balance during experimental mixed acidaemia in a porcine model.

Eur J Anaesthesiol 25(11): 905-16

European Commission, E.D.-G.(2003):

Guideline in medical devices; evaluation of clinical data: a guide for manufacturers and notified bodies.

MEDDEV. Belgium. 2.7.1. 19

Falkenhagen, D.; Ahrenholz, P.; Klinkmann, H. (1986):

Current status and future perspectives of extracorporeal blood purification.

Z Gesamte Inn Med 41(10): 297-305

Falkenhagen, D.; Thomaneck, U.; Brown, G.S.; Werner, H.; Klinkmann, H. (1989):

Correlation of complement activation, cytokine liberation and beta 2 microglobulin in the use of various dialysis and hemofiltration membranes.

Z Urol Nephrol 82(10): 541-50

Finfer, S.; Bellomo, R.; Boyce, N.; French, J.; Myburgh, J.; Norton, R. (2004):

A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit.

N Engl J Med 350(22): 2247-56

Forbes, C.D. (1981):

Thrombosis and artificial surfaces.

Clin Haematol 10(2): 653-68

Fusshoeller, A.; Baehr, J.; Tiemann, B.; Grabensee, B.; Plum, J. (2005):

Biocompatibility parameters in in-vitro simulated automated versus continuous ambulatory peritoneal dialysis.

Clin Nephrol 64(3): 214-20

Gardinali, M.; Circardi, M.; Agostoni, A.; Hugli, T.E. (1986):

Complement activation in extracorporeal circulation: physiological and pathological implications.

Pathol Immunopathol Res 5(3-5): 352-70

Goldsmith, H.L.; Turitto, V.T. (1986):

Rheological aspects of thrombosis and haemostasis: basic principles and applications. ICTH-Report--Subcommittee on Rheology of the International Committee on Thrombosis and Haemostasis.

Thromb Haemost 55(3): 415-35

Gong, J.Y.; Lu, G.P.; Dong, K.R.; Lu, Z.J.; Zhang, L.E. (2007):

Therapeutic effect of continuous veno-venous hemodiafiltration on systemic inflammatory response syndrome induced by cecum perforate peritonitis in piglets.

Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi 9(3): 237-40

- Grootendorst, A.F.; Van Bommel, E.F. (1993):
The role of hemofiltration in the critically-ill intensive care unit patient: present and future.
Blood Purif 11(4): 209-23
- Gross, D.R. (1997):
Thromboembolic phenomena and the use of the pig as an appropriate animal model for research on cardiovascular devices.
Int J Artif Organs 20(4): 195-203
- Groth, T.; Synowitz, J.; Malsch, G.; Richau, K.; Albrecht, W.; Lange, K.P.; Paul, D. (1997):
Contact activation of plasmatic coagulation on polymeric membranes measured by the activity of kallikrein in heparinized plasma.
J Biomater Sci Polym Ed 8(10): 797-807
- Gunaydin, S. (2004):
Clinical significance of coated extracorporeal circuits: a review of novel technologies.
Perfusion 19 Suppl 1: S33-41
- Gurland, H.J.; Samtleben, W. (1983):
Clinical application and the technical procedure of plasmapheresis.
Internist (Berl) 24(1): 14-26
- Haag-Weber, M.; Schollmeyer, P.; Horl, W.H. (1989):
Neutrophil activation during hemodialysis.
Adv Exp Med Biol 260: 27-37
- Hartung, J.; Nowak, B.; Waldmann, K.H.; Ellerbrock, S. (2002):
CO₂-stunning of slaughter pigs: effects on EEG, catecholamines and clinical reflexes.
Dtsch Tierarztl Wochenschr 109(3): 135-9
- Henderson, L. (1982):
The beginning of hemofiltration.
Contrib Nephrol 1982; 32:1-19
- Hirasawa, H.; Sugai, T.; Ohtake, Y.; Oda, S.; Shiga, H.; Matsuda, K.; Kitamura, N. (1991):
Continuous hemofiltration and hemodiafiltration in the management of multiple organ failure.
Contrib Nephrol 93: 42-6
- Hirasawa, H.; Sugai, T.; Ohtake, Y.; Oda, S.; Matsuda, K.; Kitamura, N. (1996):
Blood purification for prevention and treatment of multiple organ failure.
World J Surg 20(4): 482-6
- Holger, F. (2008):
Abschätzung der Blutschädigung mit Hilfe eines numerischen Schädigungsmodells (CFD) anhand eines Couette-Systems.
Aachen: Rheinisch-Westfälische technische Hochschule. - -
- Holt, A.W.; Bierer, P.; Bersten, A.D.; Bury, L.K.; Vedig, A.E. (1996):
Continuous renal replacement therapy in critically ill patients: monitoring circuit function.
Anaesth Intensive Care 24(4): 423-9

Hong, J.; Nilsson Ekdahl, K.; Reynolds, H.; Larsson, R.; Nilsson, B. (1999):
A new in vitro model to study interaction between whole blood and biomaterials. Studies of platelet and coagulation activation and the effect of aspirin.
Biomaterials 20(7): 603-11

Huang, J.; Yue, Y.; Zheng, C. (1999):
Vroman effect of plasma protein adsorption to biomaterials surfaces.
Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi 16(3): 371-6

Hunt, B.J.; Parratt, R.; Cable, M.; Finch, D.; Yacoub, M. (1997):
Activation of coagulation and platelets is affected by the hydrophobicity of artificial surfaces.
Blood Coagul Fibrinolysis 8(4): 223-31

Isla, A.; Gascon, A.R.; Maynar, J.; Arzuaga, A.; Corral, E.; Martin, A.; Solinis, M.A.; Munoz, J.L. (2005):
In vitro and in vivo evaluation of enoxaparin removal by continuous renal replacement therapies with acrylonitrile and polysulfone membranes.
Clin Ther 27(9): 1444-51

Isla, A.; Gascon, A.R.; Maynar, J.; Arzuaga, A.; Sanchez-Izquierdo, J.A.; Pedraz, J.L. (2007):
In vitro AN69 and polysulphone membrane permeability to ceftazidime and in vivo pharmacokinetics during continuous renal replacement therapies.
Chemotherapy 53(3): 194-201

Jahns, G.; Haeffner-Cavaillon, N.; Nydegger, U.E.; Kazatchkine, M.D. (1993):
Complement activation and cytokine production as consequences of immunological bioincompatibility of extracorporeal circuits.
Clin Mater 14(4): 303-36

Janssen, M.J.; Deegens, J.K.; Kapinga, T.H.; Beukhof, J.R.; Huijgens, P.C.; Van Loenen, A.C.; Van Der Meulen, J. (1996):
Citrate compared to low molecular weight heparin anticoagulation in chronic hemodialysis patients.
Kidney Int 49(3): 806-13

Joannidis, M.; Oudemans-Van Straaten, H.M. (2007):
Clinical review: Patency of the circuit in continuous renal replacement therapy.
Crit Care 11(4): 218

Jorstad, S. (1987):
Biocompatibility of different hemodialysis and plasmapheresis membranes.
Blood Purif 5(2-3): 123-37

Kalantar-Zadeh, K. (2007):
Inflammatory marker mania in chronic kidney disease: pentraxins at the crossroad of universal soldiers of inflammation.
Clin J Am Soc Nephrol 2(5): 872-5

- Kameneva, M.V.; Burgreen, G.W.; Kono, K.; Repko, B.; Antaki, J.F.; Umezu, M. (2004):
Effects of turbulent stresses upon mechanical hemolysis: experimental and computational analysis.
Asaio J 50(5): 418-23
- Kase, F. (1972):
Comparison of coagulation tests in man and 4 animal species (rabbit, dog, cow and pig).
Vet Med (Praha) 17(8): 495-500
- Keldenich, S.; Kopp, R.; Kirschfink, M.; Klein, B.; Henseler, A.; Thelen, H.; Oedekoven, B.; Mottaghy, K. (2000):
Application of a new dynamic flow model for investigating the biocompatibility of modified surfaces.
Asaio J 46(1): 134-41
- Kierdorf, H.; Sieberth, H.G. (1995):
Continuous treatment modalities in acute renal failure.
Nephrol Dial Transplant 10(11): 2001-8
- Kierdorf, H.; Seeliger, S. (1997):
Acute renal failure in multiple-organ dysfunction syndrome.
Kidney Blood Press Res 20(3): 164-6
- Kierdorf, H. (2000):
Current aspects of extracorporeal renal replacement therapy.
Internist (Berl) 41(10): 1062-70
- Klinke, R.; Silbernagel, S. (2001):
Lehrbuch der Physiologie.
New York: Georg Thieme Verlag. - 3-13-796003-7 -
- Klinkmann, H.; Wolf, H.; Schmitt, E. (1984):
Definition of biocompatibility.
Contrib Nephrol 37: 70-7
- Kobela, J.B.; Knopf, A.; Eger, L.; Grosse-Siestrup, C.; J.K., U. (2005):
HES130/0.4 improves in vivo hemocompatibility during CVVH when compared to HES200/0.5 Int J Artif Organs 2005 28: 521
- Koster, A.; Chew, D.; Grundel, M.; Hausmann, H.; Grauhan, O.; Kuppe, H.; Spiess, B.D. (2003):
An assessment of different filter systems for extracorporeal elimination of bivalirudin: an in vitro study.
Anesth Analg 96(5): 1316-9, table of contents
- Kozek-Langenecker, S.A. (2002):
Hämofiltration und Blutgerinnung.
Der Anästhesist 51:210-217

Kozek-Langenecker, S.A.; Spiss, C.K.; Gamsjager, T.; Domenig, C.; Zimpfer, M. (2002):
Anticoagulation with prostaglandins and unfractionated heparin during continuous
venovenous haemofiltration: a randomized controlled trial.
Wien Klin Wochenschr 114(3): 96-101

Kramer, L. (1998):
Indikationen und Komplikationen der Plasmapherese im Rahmen der Intensivmedizin.
Intensivmed 35:349-355

Kramer, P.; Wigger, W.; Rieger, J.; Matthaei, D.; Scheler, F. (1977):
Arteriovenous hemofiltration: A new and simple method for treatment of
overhydrated patients resistant to diuretics.
Klin Wochenschr, 55, 1121-1122

Krieter, D.H.; Collins, G.; Summerton, J.; Spence, E.; Moragues, H.L.; Canaud, B. (2005):
Mid-dilution on-line haemodiafiltration in a standard dialyser configuration.
Nephrol Dial Transplant 20(1): 155-60

Kulz, M.; Nederlof, B.; Schneider, H. (2002):
In vitro and in vivo evaluation of a new dialyzer.
Nephrol Dial Transplant 17(8): 1475-9

Lacombe, C.; Bucherer, C.; Ladjouzi, J.; Lelievre, J.C. (1988):
Competitive role between fibrinogen and albumin on thixotropy of red cell suspensions.
Biorheology 25(1-2): 349-54

Lambrecht, L.; Vanholder, R.; Ringoir, S. (1988):
Single-needle membrane plasmapheresis. In vivo comparison of plasma separator
performances.
Blood Purif 6(2): 77-84

Langenecker, S.A.; Felfernig, M.; Werba, A.; Mueller, C.M.; Chiari, A.; Zimpfer, M. (1994):
Anticoagulation with prostacyclin and heparin during continuous venovenous hemofiltration.
Crit Care Med 22(11): 1774-81

Langeron, O.; Doelberg, M.; Ang, E.T.; Bonnet, F.; Capdevila, X.; Coriat, P. (2001):
Voluven, a lower substituted novel hydroxyethyl starch (HES 130/0.4), causes fewer effects
on coagulation in major orthopedic surgery than HES 200/0.5.
Anesth Analg 92(4): 855-62

Laufenburg, A.M. (2002):
Entwicklung eines Minimodells der kontinuierlichen Hämofiltration und Untersuchung der
Biokompatibilität synthetischer Membranmaterialien am Beispiel einer quantitativen
Bestimmung von Interleukin-1 β .
Aachen: Technischen Hochschule, Diss.

Laurent, A.; Durussel, J.J.; Dufaux, J.; Penhouet, L.; Bailly, A.L.; Bonneau, M.; Merland, J.J.
(1999):
Effects of contrast media on blood rheology: comparison in humans, pigs, and sheep.
Cardiovasc Intervent Radiol 22(1): 62-6

- Lee, J.H.; Lee, H.B. (1998):
Platelet adhesion onto wettability gradient surfaces in the absence and presence of plasma proteins.
J Biomed Mater Res 41(2): 304-11
- Lee, P.A.; Weger, G.W.; Pryor, R.W.; Matson, J.R. (1998):
Effects of filter pore size on efficacy of continuous arteriovenous hemofiltration therapy for Staphylococcus aureus-induced septicemia in immature swine.
Crit Care Med 26(4): 730-7
- Li, C.M.; Chen, J.H.; Zhang, P.; He, Q.; Yuan, J.; Chen, R.J.; Cheng, X.J.; Tan, H.Z.; Yang, Y. (2007a):
Continuous veno-venous haemofiltration attenuates myocardial mitochondrial respiratory chain complexes activity in porcine septic shock.
Anaesth Intensive Care 35(6): 911-9
- Li, W.; Yan, X.; Wang, H.; Zhang, Z.; Yu, W.; Ji, D.; Gong, D.; Quan, Z.; Li, J. (2007b):
Effects of continuous high-volume hemofiltration on experimental severe acute pancreatitis in pigs.
Pancreas 34(1): 112-9
- Liebe, V.; Bruckmann, M.; Fischer, K.G.; Haase, K.K.; Borggrefe, M.; Huhle, G. (2002):
Biological relevance of anti-recombinant hirudin antibodies--results from in vitro and in vivo studies.
Semin Thromb Hemost 28(5): 483-90
- Lindhout, T. (1994):
Biocompatibility of extracorporeal blood treatment. Selection of haemostatic parameters.
Nephrol Dial Transplant 9 Suppl 2: 83-9
- Lubin, P. (2001):
Nierenersatztherapie auf Intensivstationen.
intensiv, Fachzeitschrift für Intensivpflege und Anästhesie 9: 15-22
- Lucchi, L.; Ligabue, G.; Marietta, M.; Delnevo, A.; Malagoli, M.; Perrone, S.; Stipo, L.; Grandi, F.; Albertazzi, A. (2006):
Activation of coagulation during hemodialysis: effect of blood lines alone and whole extracorporeal circuit.
Artif Organs 30(2): 106-10
- Lysaght, M.J. (1988):
Hemodialysis membranes in transition.
Contrib Nephrol 61: 1-17
- Lysaght, M.J. (1995):
Evolution of hemodialysis membranes.
Contrib Nephrol 113: 1-10

- Maeda, N.; Shiga, T. (1986):
Opposite effect of albumin on the erythrocyte aggregation induced by immunoglobulin G and fibrinogen.
Biochim Biophys Acta 855(1): 127-35
- Mahiout, A.(2000):
In vitro und in vivo Untersuchungen einer neuen PEPA-Membran: Blut-Reinigungs- und Biokompatibilitätseigenschaften.
Institute of Cell Protein Engineering, Medical Park Hannover
- Malchesky, P.S.; Wojcicki, J.; Moorman, M.; Pentermann, E.J.; Lewandowski, J.; Nose, Y. (1984):
Blood cell effects in membrane plasma separation.
Trans Am Soc Artif Intern Organs 30: 313-9
- Masaki, T.; Gilson, J.; Leyboldt, J.K.; Cheung, A.K. (1999):
Effect of permeability on indices of haemodialysis membrane biocompatibility.
Nephrol Dial Transplant 14(5): 1176-81
- Mattioli-Belmonte, M.; Giavaresi, G.; Biagini, G.; Virgili, L.; Giacomini, M.; Fini, M.; Giantomassi, F.; Natali, D.; Torricelli, P.; Giardino, R. (2003):
Tailoring biomaterial compatibility: in vivo tissue response versus in vitro cell behavior.
Int J Artif Organs 26(12): 1077-85
- Monkhouse, F.C. (1959):
Relationship between antithrombin and thrombin levels in plasma and serum.
Am J Physiol 197: 984-8
- Morisaki, H.; Aoyama, Y.; Shimada, M.; Ochiai, R.; Takeda, J. (1998):
Leucocyte distribution during sevoflurane anaesthesia.
Br J Anaesth 80(4): 502-3
- Morsch, G.; Maywald, F.; Wanner, C. (1995):
In vitro and in vivo studies with different precipitate filter cartridges for H.E.L.P.-LDL-apheresis. Optimization of precipitate filter cartridges.
Bioseparation 5(1): 11-8
- Mueller, X.M.; Tevaearai, H.T.; Jegger, D.; Tucker, O.; Von Segesser, L.K. (2001):
Are standard human coagulation tests suitable in pigs and calves during extracorporeal circulation?
Artif Organs 25(7): 579-84
- Naka, T.; Egi, M.; Bellomo, R.; Cole, L.; French, C.; Wan, L.; Fealy, N.; Baldwin, I. (2005):
Low-dose citrate continuous veno-venous hemofiltration (CVVH) and acid-base balance.
Int J Artif Organs 28(3): 222-8
- Ng, K.F.; Lam, C.C.; Chan, L.C. (2002):
In vivo effect of haemodilution with saline on coagulation: a randomized controlled trial.
Br J Anaesth 88(4): 475-80

- Olsson, P.; Lagergren, H.; Larsson, R.; Radegran, K. (1977):
Prevention of platelet adhesion and aggregation by a glutardialdehyde-stabilized heparin surface.
Thromb Haemost 37(2): 274-82
- Packham, M.A. (1988):
The behavior of platelets at foreign surfaces.
Proc Soc Exp Biol Med 189(3): 261-74
- Palsson, R.; Niles, J.L. (1999):
Regional citrate anticoagulation in continuous venovenous hemofiltration in critically ill patients with a high risk of bleeding.
Kidney Int 55(5): 1991-7
- Parzer, S.; Balcke, P.; Mannhalter, C. (1993):
Plasma protein adsorption to hemodialysis membranes: studies in an in vitro model.
J Biomed Mater Res 27(4): 455-63
- Pedrini, L.A.; De Cristofaro, V.; Pagliari, B.; Sama, F. (2000):
Mixed predilution and postdilution online hemodiafiltration compared with the traditional infusion modes.
Kidney Int 58(5): 2155-65
- Pichaiwong, W.; Leelahavanichkul, A.; Eiam-Ong, S. (2006):
Efficacy of cellulose triacetate dialyzer and polysulfone synthetic hemofilter for continuous venovenous hemofiltration in acute renal failure.
J Med Assoc Thai 89 Suppl 2: S65-72
- Pineda, A.A. (1986):
Plasmaperfusion and immuniadsorption.
Plasma Ther Transfus Technol(7): 43-5
- Pressmar, D.(2003):
Vasopressin zur Therapie eines penetrierenden Lebertraumas mit unkontrolliertem hämorrhagischem Schock im Tiermodell.
Dissertation aus der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm, Abteilung Kardioanästhesiologie. Eigenverlag. Ulm, Ulm, Universität
- Prien, T.; Backhaus, N.; Pelster, F.; Pircher, W.; Bunte, H.; Lawin, P. (1990):
Effect of intraoperative fluid administration and colloid osmotic pressure on the formation of intestinal edema during gastrointestinal surgery.
J Clin Anesth 2(5): 317-23
- Proctor, M.C.; Cho, K.J.; Greenfield, L.J. (2003):
Development and evaluation of investigational vena caval filters: the complementary roles of in vitro and in vivo studies.
J Surg Res 110(1): 241-54

Quellhorst, E.; Schuenemann, B.; Borghardt, J. (1978):
Clinical and technical aspects of hemofiltration.
Artif Organs 2(4): 334-8

Ramlow, W.; Emmrich, J.; Ahrenholz, P.; Sparmann, G.; Kashiwagi, N.; Franz, M.; Yokoyama, T.; Yoshikawa, T. (2005):
In vitro and in vivo evaluation of Adacolumn cytopheresis in healthy subjects.
J Clin Apher 20(2): 72-80

Reimann, P.M.; Mason, P.D. (1990):
Plasmapheresis: technique and complications.
Intensive Care Med 16(1): 3-10

Reimers, R.C.; Sutura, S.P.; Joist, J.H. (1984):
Potentiation by red blood cells of shear-induced platelet aggregation: relative importance of chemical and physical mechanisms.
Blood 64(6): 1200-6

Reinhart, W.H.; Usami, S.; Schmalzer, E.A.; Lee, M.M.; Chien, S. (1984):
Evaluation of red blood cell filterability test: influences of pore size, hematocrit level, and flow rate.
J Lab Clin Med 104(4): 501-16

Reiter, K.; Bordoni, V.; Dall'olio, G.; Ricatti, M.G.; Soli, M.; Ruperti, S.; Soffiati, G.; Galloni, E.; D'intini, V.; Bellomo, R.; Ronco, C. (2002):
In vitro removal of therapeutic drugs with a novel adsorbent system.
Blood Purif 20(4): 380-8

Renaux, J.L.; Thomas, M.; Crost, T.; Loughraieb, N.; Vantard, G. (1999):
Activation of the kallikrein-kinin system in hemodialysis: role of membrane electronegativity, blood dilution, and pH.
Kidney Int 55(3): 1097-103

Rieckhoff, K. (2003):
Anwendung von Hydroxyethylstärke 200/0.5 (Infukoll HES 10%) bei gesunden Pferden und bei Pferden mit Kolik oder akuter Kolitis.
Leipzig: Univ. Leipzig,

Rimmele, T.; Assadi, A.; Cattenoz, M.; Desebbe, O.; Lambert, C.; Boselli, E.; Goudable, J.; Etienne, J.; Chassard, D.; Bricca, G.; Allaouchiche, B. (2009):
High-volume haemofiltration with a new haemofiltration membrane having enhanced adsorption properties in septic pigs.
Nephrol Dial Transplant 24(2): 421-7

Robertson, B.C.; Zydney, A.L. (1987):
Polarization and adsorption effects on sieving in membrane protein filtration.
ASAIO Trans 33(3): 118-22

- Rogiers, P.Z., H.; Nagler, J.; Vincent, J.-L. (1998):
Hemofiltration in sepsis and septic shock: Where do we stand?
Intensivmed (35): 228-234
- Ronco, C.; Brendolan, A.; Cappelli, G.; Ballestri, M.; Inguaggiato, P.; Fortunato, L.; Milan, M.; Pietribiasi, G.; La Greca, G. (1999a):
In vitro and in vivo evaluation of a new polysulfone membrane for hemodialysis. Reference methodology and clinical results. (Part 1: in vitro study).
Int J Artif Organs 22(9): 604-15
- Ronco, C.; Brendolan, A.; Cappelli, G.; Ballestri, M.; Inguaggiato, P.; Fortunato, L.; Milan, M.; Pietribiasi, G.; La Greca, G. (1999b):
In vitro and in vivo evaluation of a new polysulfone membrane for hemodialysis. Reference methodology and clinical results. (Part. 2: in vivo study).
Int J Artif Organs 22(9): 616-24
- Rosen, S.; Heyman, S.N. (2001):
Difficulties in understanding human "acute tubular necrosis": limited data and flawed animal models.
Kidney Int 60(4): 1220-4
- Ruttmann, T.G.; James, M.F.; Viljoen, J.F. (1996):
Haemodilution induces a hypercoagulable state.
Br J Anaesth 76(3): 412-4
- Ruttmann, T.G.; James, M.F.; Finlayson, J. (2002):
Effects on coagulation of intravenous crystalloid or colloid in patients undergoing peripheral vascular surgery.
Br J Anaesth 89(2): 226-30
- Salmon, J.; Cardigan, R.; Mackie, I.; Cohen, S.L.; Machin, S.; Singer, M. (1997):
Continuous venovenous haemofiltration using polyacrylonitrile filters does not activate contact system and intrinsic coagulation pathways.
Intensive Care Med 23(1): 38-43
- Samtleben, W.; Randerson, D.H.; Blumenstein, M.; Habersetzer, R.; Schmidt, B.; Gurland, H.J. (1984):
Membrane plasma exchange: principles and application techniques.
J Clin Apher 2(2): 163-9
- Samtleben, W.; Blumenstein, M. (1999):
Indications for and selection of dialysis methods in acute and chronic renal failure including continuous methods.
Internist (Berl) 40(1): 3-12
- Schaefer, R.M.; Heidland, A.; Horl, W.H. (1987):
Effect of dialyzer geometry on granulocyte and complement activation.
Am J Nephrol 7(2): 121-6

- Schaefer, R.M.; Barenbrock, M.; Teschner, M.; Bahner, U. (2000):
Extracorporeal renal replacement therapies in acute renal failure.
Med Klin (Munich) 95(5): 273-8
- Schlatter, E.; Lustenberger, N.; Schutz, R.; Biela, D.; Stolte, H. (1980):
Experimental in vivo and in vitro studies in haemodialysis and haemofiltration.
Contrib Nephrol 19: 201-10
- Schmaldienst, S.; Goldammer, A.; Spitzauer, S.; Derfler, K.; Horl, W.H.; Knobl, P. (2000):
Local anticoagulation of the extracorporeal circuit with heparin and subsequent neutralization
with protamine during immunoadsorption.
Am J Kidney Dis 36(3): 490-7
- Schmidt, B. (1994):
Experimental test systems for the assessment of the blood compatibility of materials used in
extracorporeal circuits.
Nephrol Dial Transplant 9 Suppl 2: 77-82
- Schnoor, J.; Schreck, R.; Baumert, J.H.; Grosse-Siestrup, C.; Rossaint, R.; Unger, J.K. (2004):
Influence of differences in body weight and volume management on experimental results in
porcine models.
Int J Artif Organs 27(11): 924-34
- Schuerholz, T.; Sumpelmann, R.; Piepenbrock, S.; Leuwer, M.; Marx, G. (2004):
Ringer's solution but not hydroxyethyl starch or modified fluid gelatin enhances platelet
microvesicle formation in a porcine model of septic shock.
Br J Anaesth 92(5): 716-21
- Siragusa, S. (2003):
Plasma D-dimer test accuracy can be affected by heparin administration.
Arch Intern Med 163(2): 246; author reply 247
- Spencer, P.C.; Schmidt, B.; Samtleben, W.; Bosch, T.; Gurland, H.J. (1985):
Ex vivo model of hemodialysis membrane biocompatibility.
Trans Am Soc Artif Intern Organs 31: 495-8
- Stefanidis, I.; Heintz, B.; Frank, D.; Mertens, P.R.; Kierdorf, H.P. (1999):
Influence of hematocrit on hemostasis in continuous venovenous hemofiltration during acute
renal failure.
Kidney Int Suppl(72): 51-5
- Stengl, M.; Sykora, R.; Krouzecky, A.; Chvojka, J.; Novak, I.; Varnerova, V.; Kuncova, J.;
Nalos, L.; Svirglerova, J.; Matejovic, M. (2008):
Continuous hemofiltration in pigs with hyperdynamic septic shock affects cardiac
repolarization.
Crit Care Med 36(12): 3198-204
- Strauss, R.G.; Stump, D.C.; Henriksen, R.A.; Saunders, R. (1985):
Effects of hydroxyethyl starch on fibrinogen, fibrin clot formation, and fibrinolysis.
Transfusion 25(3): 230-4

- Su, B.H.; Fu, P.; Li, Q.; Tao, Y.; Li, Z.; Zao, H.S.; Zhao, C.S. (2008):
Evaluation of polyethersulfone highflux hemodialysis membrane in vitro and in vivo.
J Mater Sci Mater Med 19(2): 745-51
- Sumpelmann, R.; Zander, R. (2001):
Gelatin protects erythrocytes in vivo and in vitro against mechanical stress.
Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 36 Suppl 1: S62-8
- Sundaram, S.; Lim, F.; Cooper, S.L.; Colman, R.W. (1996):
Role of leucocytes in coagulation induced by artificial surfaces: investigation of expression of Mac-1, granulocyte elastase release and leucocyte adhesion on modified polyurethanes.
Biomaterials 17(10): 1041-7
- Thorsen, T.; Klausen, H.; Lie, R.T.; Holmsen, H. (1993):
Bubble-induced aggregation of platelets: effects of gas species, proteins, and decompression.
Undersea Hyperb Med 20(2): 101-19
- Tocantins, L.M.; Carroll, R.T.; Holburn, R.H. (1951):
The clot accelerating effect of dilution on blood and plasma. Relation to the mechanism of coagulation of normal and hemophilic blood.
Blood 6(8): 720-39
- Treib, J.; Haass, A.; Pindur, G. (1997):
Coagulation disorders caused by hydroxyethyl starch.
Thromb Haemost 78(3): 974-83
- Unger, J.K.; Horn, N.A.; Kashefi, A.; Blumberg, A.; Klosterhalfen, B.; Rossaint, R. (2001a):
The influence of hypoalbuminemia on maximal flow rates and transmembrane pressure during plasmapheresis--an in vitro study.
Blood Purif 19(4): 408-16
- Unger, J.K.; Janssen, V.R.; Kashefi, A.; Haltern, C.; Klosterhalfen, B.; Fischer, Y.; Gressner, A.M.; Rossaint, R. (2001b):
Enhancing filtration rates by the use of blood flow around the capillaries of plasmafilters: an in vitro study.
Int J Artif Organs 24(11): 821-31
- Unger, J.K.; Haltern, C.; Dohmen, B.; Rossaint, R. (2002):
Maximal flow rates and sieving coefficients in different plasmafilters: effects of increased membrane surfaces and effective length under standardized in vitro conditions.
J Clin Apher 17(4): 190-8
- Unger, J.K.; Haltern, C.; Dohmen, B.; Rossaint, R. (2003):
Influence of different heparin concentrations on the results of in vitro investigations in plasmaseparation technology using capillary membrane filters.
Artif Organs 27(7): 649-57
- Unger, J.K.; Eger, L.; J.B., K.; A., K.; C., G.-S. (2005a):
Aussagekraft von in vitro Ergebnissen - Schweineblut vs. Schweinmodell in der Hämokompatibilitätsforschung GV-SOALS, 2005, Conference of Conference, Location

Unger, J.K.; Haltern, C.; Dohmen, B.; Gressner, A.; Grosse-Siestrup, C.; Groneberg, D.A.; Rossaint, R. (2005b):

Albumin and hydroxyethyl starch 130 kDa/0.4 improve filter clearance and haemocompatibility in haemo- and plasmafiltration--an in vitro study.
Nephrol Dial Transplant 20(9): 1922-31

Unger, J.K.; L., E.; Haltern, C.; Kobela, J.B.; Knopf, A.; Grosse-Siestrup, C. (2005c):

Akute Hämokompatibilitäts-Interaktion von Kolloiden und Hämofiltration: in vitro vs. in vivo.
Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung II: 190

Unger, J.K.; Haltern, C.; Kobela, J.B.; Francis, R.; Rossaint, R.; Grosse-Siestrup, C. (2006a):

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 25(5): 533-45

Unger, J.K.; Haltern, C.; Portz, B.; Dohmen, B.; Gressner, A.; Rossaint, R. (2006b):

Relation of haemofilter type to venous catheter resistance is crucial for filtration performance and haemocompatibility in CVVH--an in vitro study.
Nephrol Dial Transplant 21(8): 2191-201

Unger, J.K. (2008):

Membrane-Clogging bei intensivmedizinisch angewandten Aphereseverfahren: Identifizierung der ätiologischen Trias mit Strategieentwicklung zur First-Level Prävention von Filterblockade und Gerinnungsaktivierung.
Berlin: Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin der Humboldt Universität und der Freien Universität, Habilitationsschrift

Van Bommel, E.F.; Leunissen, K.M.; Weimar, W. (1994):

Continuous renal replacement therapy for critically ill patients: an update.
J Intensive Care Med 9(6): 265-80

Vienken, J.; Baurmeister, U. (1987):

Improved biocompatibility of dialyzers by reduced membrane surface area.
Artif Organs 11(3): 272-3

Vizcaino-Salazar, G. (1994):

Platelet physiology. Advances in platelet reactivity. Review.
Invest Clin 35(1): 41-62

Vogel, P. (2002):

Untersuchung der Hämolyse und Blutzellschädigung von Schweineblut durch verschiedene Blutpumpen im Modell eines künstlichen Kreislaufes.
Berlin: Mensch & Buch Verl. - 3898204626 9783898204620 -

Voß, G. (2007):

Regionale Zitrat-Antikoagulation bei der kontinuierlichen veno-venösen Hämodialyse Berlin: Freie Universität, Medizinische Fakultät Charité, Diss.

Warkentin, T.E.; Barkin, R.L. (1999):

Newer strategies for the treatment of heparin-induced thrombocytopenia.
Pharmacotherapy 19(2): 181-95

Wendel, H.P.; Ziemer, G. (1999):

Coating-techniques to improve the hemocompatibility of artificial devices used for extracorporeal circulation.
Eur J Cardiothorac Surg 16(3): 342-50

Wessel-Aas, T.; Berg, K.J.; Wideroe, T.E.; Wirum, E.; Nilsen, T. (1984):

Toxicity of plasma from hemodialysis patients treated with heparin or prostacyclin.
Acta Med Scand 216(1): 93-9

Wetzels, E.; Colombi, A.; Dittrich, P.; Gurland, H.; Kassel, M.; Klinkmann, H. (1986):

Hämodialyse, Peritonealdialyse, Membranplasmapherese und verwandte Verfahren.
Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer Verl. - 354016104X -

Wu, X.; Chen, H. (2002):

Clinical study of heparin-free hemodialysis with the inside of hollow fibers in dialyzer coated by human albumins.
Nephron 92(4): 925-8

Yang, M.C.; Lin, C.C. (2000):

In vitro characterization of the occurrence of hemolysis during extracorporeal blood circulation using a mini hemodialyzer.
Asaio J 46(3): 293-7

Zingg, W.; Neumann, A.W.; Strong, A.B.; Hum, O.S.; Absolom, D.R. (1981):

Platelet adhesion to smooth and rough hydrophobic and hydrophilic surfaces under conditions of static exposure and laminar flow.
Biomaterials 2(3): 156-8

Zingg, W.; Neumann, A.W.; Strong, A.B.; Hum, O.S.; Absolom, D.R. (1982):

Effect of surface roughness on platelet adhesion under static and under flow conditions.
Can J Surg 25(1): 16-9

Zusman, R.M.; Rubin, R.H.; Cato, A.E.; Cocchetto, D.M.; Crow, J.W.; Tolkoff-Rubin, N. (1981):

Hemodialysis using prostacyclin instead of heparin as the sole antithrombotic agent.
N Engl J Med 304(16): 934-9

11 DANKSAGUNG

Frau PD Dr. Juliane Unger danke ich für die interessante Themenstellung, die wissenschaftliche Betreuung sowie die stets gewährte persönliche Unterstützung.

Gleichermaßen gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Helmut Hartmann für die Durchsicht der Arbeit sowie die Übernahme und Vorlage der Dissertation am Fachbereich Veterinärmedizin.

Für die Korrekturen der nicht wissenschaftlichen Fehler möchte ich Knut Eger, Wilhelm Eger und Simone Schmidt danken.

Ein großer Dank gilt meinen Eltern, die es mir ermöglicht haben, diese Arbeit durchführen zu können.

Oliver danke ich für seine unendliche Geduld, seine Kraft und Aufmunterung, diese Arbeit zu Ende zu schreiben.

SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Hamm, den 28.07.2010

Lisa Eger

12 PUBLIKATIONEN

Eger, L.; Knopf, A.; Kobela, J.B.; Haltern, C.; Grosse-Siestrup, C.; Unger, J.K. (2005):
Albumin substitution may reduce heparin dosage for CVVH in pigs – confirmation of in-vitro
investigations.

Int J Artif Organs 2005; 28:521, presentation on the EWM 2005

Kobela, J.B.; Eger, L.; Knopf, A.; Boemke, W.; Grosse-Siestrup, C.; Unger, J.K. (2005):
HES 130/0.4 und Albumin unterstützen die Hämokompatibilität und reduzieren den
Heparinverbrauch bei CVVH im Schweinmodell.

Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung. II. 2005; S.168

Unger, J.K.; Eger, L.; Haltern, C.; Kobela, J.B.; Knopf, A.; Grosse-Siestrup, C. (2005):
Akute Hämokompatibilitätsreaktion von Kolloiden und Hämofiltration: in-vitro vs. in-vivo.

Journal für Anästhesie und Intensivbehandlung. II. 2005; S.190

Unger, J.K.; Eger, L.; Kobela, J.B.; Knopf, A.; Grosse-Siestrup, C. (2005):
Aussagekraft von in-vitro Ergebnissen – Schweineblut vs. Schweinmodell in der
Hämokompatibilitätsforschung.

GV – SOALS 2005; Kongressband S.123

Kobela, J.B.; Knopf, A.; Eger, L.; Grosse-Siestrup, C.; Unger, J.K. (2005):
HES 130/0.4 improves in-vivo hemocompatibility during CVVH when compared to HES
200/0.5.

Int J Artif Organs 2005, 28:521