

Diplomarbeit

Plasmavolumen und Refilling während der Hämodialyse

Datenbankgestützte grafisch-explorative Analyse der
Indikatordilution mittels Indocyaningrün und nicht-invasiver
optischer Online-Konzentrationsmessung

eingereicht von

Matthias W. Uhlmann

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr.med.univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Lehrstuhl für Physiologie

unter der Anleitung von

A.o. Univ.Prof. Daniel Schneditz, PhD (Lehrstuhl für Physiologie)

**Priv.-Doz. Dr.med.univ. Werner Ribitsch (Universitätsklinik für
Innere Medizin)**

Graz, 25.11.2019

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe. [1]

Graz, am 25.11.2019

Matthias Uhlmann eh.

*Allen, die mich
unterstützt haben.*

Zusammenfassung

Einleitung. Adäquate vaskuläre Reabsorption (*Refilling*) von interstitieller Flüssigkeit zum Ersatz entzogenen Ultrafiltrates aus dem Plasmavolumen ist Voraussetzung für erfolgreiche Volumenstherapie bei Hämodialyse. Zur Optimierung der Ultrafiltrationsrate und zum Vorbeugen intradialytischer Hypotension ist die Bestimmung des *Refillings* hilfreich.

Die vorliegende Diplomarbeit begleitete eine klinische Studie zu verschiedenen Aspekten der Hämodynamik bei der Hämodialyse und sollte Hinweise auf die Validität eingesetzter Methoden zur Bestimmung des *Refillings* liefern. Weitere Aufgaben waren eine experimentelle Mitarbeit sowie die Erstellung einer Datenbank zur Erfassung experimenteller Daten.

Methoden. Die StudienpatientInnen wurden während Routinedialysebehandlungen im Abstand von zwei Wochen je einmal untersucht. Es wurde viermal in stündlichem Abstand mittels Indikatorverdünnungsmethode mit Indocyanin grün und nicht-invasiver optischer kontinuierlicher Konzentrationsmessung (*ICG-Methode*) das Plasmavolumen ermittelt. Von abgenommenen Blutproben wurde mit unterschiedlichen Methoden der Hämatokrit bestimmt. Zur Dokumentation der erhobenen Werte wurde eine *relationale Datenbank* erstellt. Aus diesen Daten sollten mittels statistischer und grafischer Analysemethoden Aussagen zu Hämatokritmessmethoden, Plasmavolumina und *Refilling* getroffen werden.

Ergebnisse. Zwölf DialysepatientInnen (6 weiblich) wurden untersucht. Es bestand eine vernachlässigbare Diskrepanz der Mittelwerte zwischen optischer Hämatokritmessung als Teil der *ICG-Methode* und Referenzmethode nach *Wintrobe* (Abweichung -0.15 ± 1.86 Prozentpunkte). Das während klinischer Routine genutzte Blutgasanalysegerät maß 1.96 ± 1.41 Prozentpunkte niedriger als die Referenzmethode.

Das ermittelte mediane absolute Plasmavolumen nahm stetig ab, das auf Körpergröße und Gewicht normierte relative Plasmavolumen nahm zwischen Dialysebeginn und -ende um 5 Prozentpunkte ab. Volumensüberladung bestand in 92% der Messungen. DiabetikerInnen hatten zu allen Messzeitpunkten ein niedrigeres relatives Plasmavolumen. Das relative *Refilling* betrug unter DiabetikerInnen $84\% \pm 28$ und unter nicht-DiabetikerInnen $80\% \pm 28$. Abhängigkeit des *relativen Refillings* zum Ultrafiltrationsvolumen konnte nicht nachgewiesen werden.

Diskussion. Eine berichtete große Varianz des optisch gemessenen Hämatokrits war nicht reproduzierbar. Es wird ein ungenügendes Resuspendieren von sedimentierten Blutproben vor Vergleichsmessung angenommen. Der Unterschied zwischen Referenzmethode und Blutgasanalysegerät ist durch nicht durchgeführte Korrektur für

trapped plasma erklärbar. Die *ICG-Methode* liefert zur Plasmavolumensbestimmung im Durchschnitt des untersuchten Kollektivs plausible Werte mit großer Streuung. Ein Einsatz zur exakten Bestimmung des Plasmavolumens einzelner PatientInnen kann bei großer Streuung der Werte nicht empfohlen werden; um Aussagen über durchschnittliche Plasmavolumina größerer Kohorten zu machen, könnte die Methode in bestimmten Situationen einsetzbar sein. Vergleiche mit Referenzmethoden sollten zur weiteren Beurteilung durchgeführt werden. Publierte Werte zum *Refilling* liegen unterhalb der hier ermittelten Werte und innerhalb der weiten Fehlergrenzen.

Abstract

Introduction. Vascular reabsorption of interstitial fluid (*refilling*) is essential for successful volume management during hemodialysis (HD). To avoid intradialytic hypotension and to optimize ultrafiltration rate, quantification of vascular refilling could be helpful.

This thesis describes steps taken to achieve better insight into the nature of *refilling* while accompanying a clinical study. Research done on the validity of methods used is presented and vascular refilling is quantified and analyzed.

Methods. Patients were studied twice during regular dialysis treatment within an interval of one week. Plasma volume was determined four times in hourly intervals by dye dilution using *cardio green* and non-invasive continuous concentration measurements (*ICG method*). Hematocrit of blood samples was analyzed using different methods. Vascular refilling was calculated for different time intervals during dialysis.

Results. Twelve Patients were studied (6 female). No appreciable difference was found between hematocrit measured by optical means and *Wintrobe method* (-0.15 ± 1.86 percentage points). The point-of-care device underestimated the hematocrit by 1.96 ± 1.41 percent when compared to the reference *Wintrobe method*.

Median plasma volume decreased steadily during HD. Plasma volume relative to estimated volume using anthropometric methods decreased during HD by 5%. Volume overload was calculated in 92% of measurements. At all times, mean relative plasma volume was lower in diabetic patients. *Relative refilling* was $84\% \pm 28$ in diabetic and 80% in non-diabetic patients. No apparent dependency between ultrafiltration and *relative refilling* was found.

Conclusion. Reported high variance in hematocrit measurements by the optical device was not confirmed. Inappropriate handling of blood samples and omitting proper resuspension of fast sedimenting blood samples was identified as possible source of reported measuring problems. Encountered *bias* between point-of-care device and reference method can be explained by omitting correction for *trapped plasma*. Means of volume determined by *ICG method* are within plausible ranges. Due to high variation it is advised against using the method for determination of plasma volume in single patients. The method may be feasible for larger groups, further research regarding accuracy has to be conducted. *Refilling* estimations in current research publications are lower than the numbers found in this study but within the wide error margin of this method.

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung	1
1.1	Vorwort	1
1.2	Zielsetzung, Fragestellungen	2
1.2.1	Klinische Studie	2
1.2.2	Datenbank	3
1.2.3	Hämatokrit	3
1.2.4	Plasmavolumen	3
1.2.5	Refilling	3
1.3	Konventionen	4
1.3.1	Dezimaltrenner	4
1.3.2	Abkürzungen	4
2	Klinische Größen, Kenngrößen und Laborwerte	6
2.1	Hämatokrit	6
2.2	F-Cell-Ratio	7
2.3	Blutvolumen	7
2.4	Bestimmung des Plasmavolumens per Dilutionsverfahren	8
2.5	Normierung auf Standardvolumina	9
2.6	Bestimmung der relativen Blutvolumensänderung	10
2.7	Refilling während der Hämodialyse	11
2.8	Körperoberfläche	12
3	Material und Methoden	14
3.1	Stichprobe	14
3.2	Geräte, Material und Labor	14
3.2.1	Crit-Line III	14
3.2.2	Indocyaningrün	17
3.2.3	Hämatokritbestimmung per Zentrifuge	21
3.2.4	Hämatokritbestimmung per Cobas 221 b POC System	22
3.3	Protokoll	22
3.4	Datenerfassung	24
3.4.1	Automatisierte Datenerfassung	24
3.4.2	Datenbank	25

3.5	ICG-Konzentrationsberechnung	28
3.6	Berechnung der Plasmavolumens	29
3.7	Datenaufbereitung, Eingangsdaten	33
3.8	Statistische Auswertung	33
4	Ergebnisse	35
4.1	PatientInnenkollektiv	35
4.2	Hämatokritbestimmung	35
4.2.1	Vergleich Labor- und Referenzmethode	36
4.2.2	Vergleich CLM III und Referenzmethode	37
4.3	Veränderung des Plasmavolumens	37
4.4	Refilling	42
4.4.1	Absolutes Refilling	42
4.4.2	Relatives Refilling	44
4.4.3	Relatives Refilling in Abhängigkeit des Ultrafiltrationsvolumens	47
5	Diskussion	49
5.1	Datenbank	49
5.2	Analyse der Hämatokritdaten	50
5.3	Plasmavolumen	52
5.4	Refilling	53
5.5	Conclusio	55
6	Anhang	56
6.1	Statistische Berechnungen	56
6.1.1	Fisher's exact test: Geschlecht und Diabetischer Status	56
6.1.2	Relative Volumina	57

Abbildungsverzeichnis

3.1	Setup CLM III während der Dialyse	15
3.2	Via PC erfasste on-line-Daten des CLM III	16
3.3	Absorptionsspektren von Oxy- und Desoxyhämoglobin	17
3.4	Indocyaningrün – Skelettformel	18
3.5	ICG – Absorptionsspektrum in Wasser	18
3.6	ICG – Absorptionsspektrum in Plasma	19
3.7	ICG-Injektionen während der Dialyse	23
3.8	Visualisierung der Datenbank	26
3.9	Bestimmung des Plasmavolumens	32
4.1	Hämatokrit: Vergleich der Messung per Cobas b 221 mit der Methode nach Wintrobe	36
4.2	Vergleich Hämatokritmessung per CLM III und PCV: Bland-Altman-Diagramm und Zeitreihe	37
4.3	Absolutes Plasmavolumen zu den Messzeitpunkten – Boxplot	38
4.4	Veränderung relatives Plasmavolumen: alle PatientInnen, Boxplot	40
4.5	Veränderung relatives Plasmavolumen: diabetischer Status, Boxplot	41
4.6	Scatterplot – Delta Vp gegen Delta UFV	42
4.7	Scatterplot – absolutes Refilling gegen Ultrafiltratänderung	43
4.8	Absolutes Refilling, diabetischer Status – Regressions-Plot	44
4.9	Boxplot – relatives Refilling	45
4.10	Scatterplot – Refilling relativ gegen Delta-UFV	47
4.11	Refilling relativ gegen Delta-UFV, diabetischer Status, Scatterplot	48

Tabellenverzeichnis

1.1	Abkürzungen	5
4.1	Anthropometrische Daten des PatientInnenkollektivs	35
4.2	Volumensdaten - ICG 1	39
4.3	Volumensdaten - ICG 4	39
4.4	Relatives Refilling	46

1 Einführung

1.1 Vorwort

Die Bestimmung von optimalem Ultrafiltrationsvolumen und optimaler Ultrafiltrationsrate bei chronischer Hämodialyse terminal niereninsuffizienter PatientInnen ist auch zum heutigen Zeitpunkt immer noch nur in Annäherung möglich: Hämodynamische Instabilität und hierdurch ausgelöste hypertone und in wesentlich größerer Häufung hypotone Krisen während der Hämodialyse haben häufig im inadäquaten Volumensmanagement ihre Ursache. Mit je nach Erhebung 6-27% Vorkommenis von hypotonen Krisen während der Hämodialyse [2] ist dieses Forschungsfeld ein Bereich mit potenziell weitreichenden positiven Auswirkungen auf das Kollektiv der DialysepatientInnen.

Neben der offensichtlichen akuten Gefahr durch die insuffiziente Kreislaufsituation bei hypotonen Krisen sind vor allem die Folgen chronisch rezidivierender Blutdruckabstürze zu einem erheblichen Teil mitverantwortlich für die aktuell vorherrschenden Morbiditätsfaktoren bei DialysepatientInnen. Zählten früher Infektionen und vor der Verfügbarkeit synthetisch produzierten Erythropoietins eine schlecht zu kontrollierende Anämie zu den stärkeren Morbiditätsfaktoren, so stehen in der heutigen Zeit immer mehr die Folgen einer chronischen Organschädigung, auch durch Minderperfusion bei rezidivierender hämodynamischer Instabilität, im Fokus [3].

Aufgabe der chronischen Dialysebehandlung bei terminaler Niereninsuffizienz ist neben der Entfernung sog. *harnpflichtiger Substanzen* regelmäßig eine Verringerung der Flüssigkeitsmenge im Körper der PatientInnen. Ziel ist hierbei hauptsächlich die Entfernung interstitieller Flüssigkeit, die sich bei positiver Volumensbilanz aufgrund vorrangig osmotischer Effekte und fehlender bzw. ungenügender Ausscheidung angesammelt hat. Da der Zugang der Hämodialyse über den Blutkreislauf erfolgt, macht man sich hierbei, genau wie es bei der Wassereinlagerung geschieht, osmotische aber auch autoregulatorische Effekte im Körper zunutze: Aus dem Gefäßsystem und somit aus dem Blutvolumen entferntes Ultrafiltrat wird, mit einer gewissen Geschwindigkeit, durch interstitiell eingelagerte Flüssigkeit ersetzt. Dieser Vorgang der vaskulären Reabsorption nennt sich im neudeutschen Dialysejargon *Refilling*.

Wird bei der Hämodialyse die Kapazität zum adäquaten *Refilling* überschritten, so kommt es bei unterschreiten einer von unterschiedlichen Faktoren abhängigen Volumenschwelle zu hypotonen Krisen. Zu erwarten ist, dass es bei Kenntnis von absolutem Blut- und Plasmavolumen sowie *Refilling* und dessen Einflussfaktoren möglich ist, Dialyseparameter so anzupassen, dass diese Schwelle zur hypotonen Krise seltener unterschritten wird. Untersuchungen zum *Refilling* erfolgen im letzten Teil dieser Arbeit.

Die Messung des absoluten Blut- und Plasmavolumens als extensive Größen ist hierbei auch heute noch nicht trivial. Viele Verfahren erfordern einen nicht unerheblichen personellen, apparativen und finanziellen Aufwand. In dieser Arbeit soll eine Methode vorgestellt und deren Ergebnisse beschrieben werden, bei der mittels Indikatorverdünnungsmethode per Bolusinjektion von Indocyaningrün und anschließender optischer Online-Messung des Konzentrationsabfalls das Plasmavolumen ermittelt wird. Da bei dieser Messmethode der Ermittlung des Hämatokrits eine zentrale Bedeutung zukommt, wurden auch hierzu Untersuchungen durchgeführt, bei denen die Bestimmung des Hämatokrits per optischer Messung, per Methode nach *Wintrobe* und per apparativer *Point-of-Care-Messung (POC)* verglichen wurden.

Grundlage für jede experimentelle Forschungsarbeit ist die Erhebung von Daten. Art und Umfang der anfallenden Daten dieser Studie, von der in der vorliegenden Diplomarbeit nur ein Ausschnitt beleuchtet wird, machten diese prädestiniert für die Speicherung in einer Datenbank. Die Erstellung der Datenbank sowie Erhebung von Stammdaten, Bestimmung von Laborwerten und Injektion des Dilutionsfarbstoffs zur Plasmavolumensbestimmung waren wesentliche Bestandteile dieser Arbeit.

Die Analyse soll hierbei durch die Nutzung eines Datenbanksystems und der daraus resultierenden Möglichkeit von Gruppierung und Aufschlüsselung von Daten sowie durch grafische und statistische Aufbereitung der Ergebnisse erfolgen.

1.2 Zielsetzung, Fragestellungen

1.2.1 Klinische Studie

Eigenständige wissenschaftliche Mitarbeit

Es wurde, in Zusammenarbeit mit zwei weiteren Diplomanden, aktiv an einer klinischen Studie mitgearbeitet, von der ein Teil in dieser Diplomarbeit beleuchtet wird. Aufgaben waren Laboranalyse von Blutproben, Betreuung von PatientInnen,

Erstellen der Protokollblätter und Aufnahme von PatientInnen- und Versuchsdaten, ICG-Injektionen, Aufbau und Bedienung der für die Messungen notwendigen Geräte.

1.2.2 Datenbank

Aufbau einer relationalen Datenbank

Die multidimensionale Struktur der erfassten Daten und das Vorkommen im Vorhinein unbekannt vieler Wiederholungsmessungen z. B. an Blutproben erforderten den Einsatz einer *relationalen Datenbank*, die hierfür erstellt wurde.

1.2.3 Hämatokrit

Analyse unterschiedlicher Hämatokritmessmethoden

Der in dieser Studie eingesetzte Monitor zur kontinuierlichen nicht-invasiven Hämatokritmessung (*CLM III*, Kap. 3.2.1) befand sich an der Dialyse im klinischen Einsatz und Berichten zufolge wich der gemessene Hämatokritwert häufig von dem der *Point-of-care-Messung* per *Cobas b 221* ab. Es sollte daher systematisch die Verlässlichkeit der Hämatokritmessung dieses Gerätes untersucht werden.

1.2.4 Plasmavolumen

Liefert die vorgestellte Methode plausible Ergebnisse?

Es sollen die gemessenen Plasmavolumina betrachtet werden und damit Hinweise auf die Validität des eingesetzten Verfahrens erhalten werden.

1.2.5 Refilling

Bestimmung der vaskulären Reabsorption

Das *Refilling* kann nur dann indirekt bestimmt werden, wenn absolutes Plasma- oder Blutvolumen bekannt sind. Anhand der gewonnenen Daten zu Plasmavolumina und den korrespondierenden Ultrafiltrationsvolumina während der Dialyse soll indirekt festgestellt werden, welcher Anteil von entzogenem Ultrafiltrationsvolumen durch *Refilling* ersetzt wird. In einem weiteren Schritt soll festgestellt werden, ob sich dieses zwischen den betrachteten DiabetikerInnen und nicht-DiabetikerInnen unterscheidet. Weiterhin soll grafisch untersucht werden, ob die eingesetzte Methode Hinweise auf eine Änderung des *Refillings* gibt.

1.3 Konventionen

1.3.1 Dezimaltrenner

In dieser Arbeit wird als Dezimaltrennzeichen ein Punkt (.) verwendet. Für diese international gebräuchliche Darstellung wurde sich aus Gründen der Lesbarkeit und Konsistenz entschieden, da alle Eingangsdaten dieser Studie, die teilweise in Tabellen und Abbildungen unverändert eingebunden werden, in ebendieser Form vorliegen.

1.3.2 Abkürzungen

Abkürzung	Bedeutung
Abb.	Abbildung
aquda dest.	aqua destillata
bzgl.	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
BMI	Bodymass Index
CLM III	Crit-Line III-Monitor
cm	Zentimeter
d. h.	das heißt
engl.	englisch
etc.	et cetera
g	Gramm
HF	Herzfrequenz
H ₂ O	Wasser
ICG	Indocyaningrün
i. R. d	im Rahmen der
i. R. e.	im Rahmen einer
Kap.	Kapitel
kg	Kilogramm
LED	Licht emittierende Dioden
L	Liter
lt.	laut
MAD	mittlerer arterieller Druck
mg	Milligramm
min	Minute
mL	Milliliter
mm	Millimeter

Abkürzung	Bedeutung
MW	Mittelwert
nm	Nanometer
Nr.	Nummer
PCV	Packed Cell Volume
pH	potentia hydrogenii
POC	Point-of-Care
Qb	Blutfluss
r ²	Bestimmtheitsmaß
s.	siehe
S.	Seite
SD	Standardabweichung
sec	Sekunde
sic	Sic erat scriptum
s. o.	siehe oben
sog.	sogenannt
UFR	Ultrafiltrationsrate
UFV	Ultrafiltrationsvolumen
v. a.	vor allem
vgl.	vergleiche
z. B.	zum Beispiel
ZVK	Zentraler Venenkatheter
z. T.	zum Teil

Tabelle 1.1: Abkürzungen

2 Klinische Größen, Kenngrößen und Laborwerte

Viele physiologische und klinische Größen sind experimentell nicht leicht zugänglich (so z. B. das absolute Blutvolumen oder die glomeruläre Filtrationsrate), stehen jedoch häufig in Beziehung mit anderen leichter messbaren Größen. Mittels statistischer Methoden können diese Beziehungen analysiert werden und so können viele dieser nur schwer messbaren Größen mit anderen anthropometrischen Daten (Körpergewicht etc.) aus den publizierten und an einem Vergleichskollektiv erhobenen Daten geschätzt werden. Das spielt vor allem für *extensive* Variablen (Variablen, die von der Extension, d. h. Größe des Systems abhängen) eine Rolle. Andere Größen sind *intensive* Größen, die unabhängig sind von der Ausdehnung eines Systems. So ist im Menschen z. B. der Hämatokrit im Prinzip nicht von der Körpergröße oder dem Blutvolumen abhängig.

Im Folgenden sollen die in dieser Arbeit verwendeten Formeln für anthropometrische Abschätzungen dargelegt werden, Hintergrundwissen vermittelt werden und bestimmte speziell in dieser Arbeit verwendete Kenngrößen definiert werden.

2.1 Hämatokrit

Der Hämatokrit wird sowohl in Literatur als auch in klinischer Praxis unterschiedlich definiert. Einige AutorInnen (vgl. [4]) definieren den Volumensanteil aller zellulärer Bestandteile am Gesamtblut als Hämatokrit und den Anteil der Erythrozyten am Gesamtblut als Erythrokrit. Andere AutorInnen (vgl. [5] und [6]) definieren den Anteil des Volumens aller Erythrozyten am Gesamtblut als Hämatokrit. Auch unter dem Gesichtspunkt, dass bei keinem der betrachteten PatientInnen ein leukämisches Blutbild vorlag und damit der Unterschied von Erythrokrit und Hämatokrit vernachlässigbar gering wäre, soll der Hämatokrit hier wie folgt definiert werden:

Für eine bestimmte Menge Blut X mit dem Volumen $V_{B,X}$ und dem Erythrozytenvolumen $V_{E,X}$ gilt folgender Zusammenhang zum Hämatokrit H_X :

$$H_X = \frac{V_{E,X}}{V_{B,X}} \quad (2.1)$$

2.2 F-Cell-Ratio

Aufgrund des sog. *Fåhræus-Effekts* ist der Hämatokrit des strömenden Blutes im Kapillarbett und den Mikrogefäßen geringer als der des restlichen Intravasalraums [7]. Der Hämatokrit der großen und mittelgroßen Gefäße (zentraler Hämatokrit, H_Z) ist folglich höher als der Hämatokrit des Gesamtblutes (Gesamtkörperhämatokrit, H). Um bei bekanntem zentralen Hämatokrit den Gesamtkörperhämatokrit zu bestimmen, muss mit einem Faktor F_{Cell} (*fraction of cells*) korrigiert werden [8], so dass

$$H = H_Z \times F_{\text{Cell}} \quad (2.2)$$

In der vorliegenden Arbeit wird dieser Faktor als konstant [6] angenommen mit

$$F_{\text{Cell}} = 0.9 \quad (2.3)$$

Man beachte, dass in der vorliegenden Arbeit zwischen Hämatokrit als tatsächlichem Verhältnis von Gesamterythrozytenvolumen zu Blutvolumen innerhalb eines Raumes (in dem die Erythrozyten nicht zwangsläufig gleichverteilt sind) und dem gemessenen Hämatokrit mittels einer genommenen Probe an einer Stelle dieses Raumes genau unterschieden wird.

2.3 Blutvolumen

Da das Blutvolumen einer direkten Bestimmung am lebenden Menschen nicht zugänglich ist, ist die Bestimmung dieser extensiven Größe nicht trivial. Nach Forschungen von Nadler und Hidalgo [9] kann das Blutvolumen eines Menschen mit Körpergröße $h[m]$ und Körpergewicht $w[kg]$ nach folgender anthropometrischer Formel abgeschätzt werden:

$$\text{Männer: } V_{\text{B,Nadl}} = 0.3669 \times h^3 + 0.3219 \times w + 0.6041 \quad (2.4a)$$

$$\text{Frauen: } V_{\text{B,Nadl}} = 0.3561 \times h^3 + 0.3308 \times w + 0.1833 \quad (2.4b)$$

Für eine exakte Bestimmung des Gesamtblutvolumens werden bei den meisten Verfahren Erythrozytengesamtvolumen (*red cell volume*) V_E und Plasmavolumen V_P getrennt ermittelt [10]. Die Bestimmung des Erythrozytenvolumen erfolgt bei diesen Verfahren in der Regel durch Entnahme von Vollblut, Markierung von Erythrozy-

ten (z. B. mittels radioaktiver Indikatoren wie $^{99}\text{Tcm}^1$), Rückführung der markierten Erythrozyten und nach ausreichender Durchmischung der markierten Erythrozyten im Blutkreislauf erneuter Blutabnahme mit anschließender Bestimmung der Konzentration dieser markierter Erythrozyten und hieraus die Errechnung des Gesamterythrozytenvolumens. Die Ermittlung des Plasmavolumen erfolgt durch einen entsprechenden Plasma-Indikator, der in den Blutkreislauf eingebracht und nach Durchmischung dessen Konzentration ermittelt wird (Kap. 2.4). Sind beide Fraktionen bestimmt, errechnet sich das Gesamtblutvolumen V_B zu

$$V_B = V_P + V_E \quad (2.5)$$

Bei bekanntem Plasmavolumen, F_{Cell} und zentralem Hämatokrit kann das Blutvolumen wie folgt berechnet werden:

Mit (2.5)

$$V_B = V_P + V_E \iff V_E = V_B - V_P \quad (2.6)$$

eingesetzt in (2.1) ergibt sich

$$H = \frac{V_B - V_P}{V_B} \iff V_B = \frac{V_P}{1 - H} \quad (2.7)$$

Setzt man nun die Berechnung des Gesamtkörperhämatokrits $H = H_Z \times F_{\text{Cell}}$ ein, so erhält man für die Berechnung des Blutvolumens

$$V_B = \frac{V_P}{1 - (H_Z \times F_{\text{Cell}})} \quad (2.8)$$

Analog folgt die Berechnung des Plasmavolumens bei bekanntem Blutvolumen, F_{Cell} und zentralem Hämatokrit durch Umstellung:

$$V_P = V_B \times (1 - (H_Z \times F_{\text{Cell}})) \quad (2.9)$$

2.4 Bestimmung des Plasmavolumens per Dilutionsverfahren

Bei der Bestimmung des Plasmavolumens per Dilutionsverfahren wird den PatientInnen ein Indikator in den Intravasalraum injiziert und nach homogener Mischung im gesamten Plasma dessen Konzentration bestimmt. Es gilt allgemein für die Kon-

¹meta-stabiles Technetium-Isotop

zentration C und Masse m eines Stoffes, der homogen in einer Flüssigkeit mit dem Volumen V gemischt ist:

$$C = \frac{m}{V} \quad (2.10)$$

hieraus lässt sich bei bekannter Masse und Konzentration das Volumen berechnen mit:

$$V = \frac{m}{C} \quad (2.11)$$

Die Bestimmung des Plasmavolumens per Dilutionsverfahren setzt voraus, dass der injizierte Indikator sich bis zur Messung der Konzentration tatsächlich homogen verteilt hat, strikt intravasal bleibt und weder abgebaut, noch ausgeschieden wird. Alternativ können bei bekanntem mathematischen Modell des Abbaus bzw. dessen Ausscheidung auch Indikatoren mit sehr kurzer Halbwertszeit genutzt werden und bei gemessenem Konzentrationsabfall die virtuelle Konzentration auf Zeitpunkt der Injektion durch Extrapolation errechnet werden [11]. Hierdurch können durch die kurze Halbwertszeit des Indikators auch wiederholte Messungen innerhalb kürzerer Zeit durchgeführt werden. Dies ist insbesondere in Situationen mit sich veränderndem Plasmavolumen wie blutverlustreichen Operationen oder während der Hämodialyse vorteilhaft. In der hier beschriebenen Studie wird diese Eigenschaft des Indikatorfarbstoffs *Indocyaningrün* zur wiederholten Messung des absoluten Plasmavolumens genutzt.

2.5 Normierung auf Standardvolumina

Extensive Größen besitzen keine einheitlichen Normwerte. So kann man z. B. kein „normales“ Gewicht definieren, das für alle Menschen gilt. Will man eine extensive Größe interindividuell vergleichbar machen, muss man diese Größe in eine vergleichbare intensive Größe überführen, für die der gleiche Normwert für alle beobachteten Individuen innerhalb einer Kohorte gilt. Für das Gewicht wird hierfür häufig der sog. *Bodymass Index* herangezogen, bei dem die gleichen Normwerte für den größten Teil der Bevölkerung gelten. Eine Form dieser Überführung ist das Normieren mittels Division des tatsächlichen Wertes durch den durch eine anthropometrische Formel für das jeweilige Individuum abgeschätzten Wert. Da die anthropometrische Formel dafür entwickelt wurde, den zu erwartenden Wert in einem Standardkollektiv wiederzugeben, erhält man durch division die relative Abweichung von diesem individuellen Normalwert. In dieser Arbeit soll das *relative Blutvolumen* das tatsächliche Blutvolumen normiert durch Division auf das individuelle per Formel von Nadler und Hidalgo $V_{B,Nadl}$ [9] abgeschätzte Blutvolumen sein, analog das *relative Plasmavolumen* dasjenige, das in selber Weise (unter Zuhilfenahme des Hämatokrits)

per Division auf ein mittels Formel von Nadler und Hidalgo errechnetes „normales Plasmavolumen“ $V_{P,Nadl}$.

Relatives Blutvolumen

Das relative Blutvolumen V_B^* wird definiert als:

$$V_B^* = \frac{V_B}{V_{B,Nadl}} \quad (2.12)$$

Relatives Plasmavolumen

Das relative Plasmavolumen V_P^* wird definiert als:

$$V_P^* = \frac{V_P}{V_{P,Nadl}} \quad (2.13)$$

Mit (2.3) $V_{P,Nadl} = V_{B,Nadl} \times (1 - H)$ folgt:

$$V_P^* = \frac{V_P}{V_{B,Nadl} \times (1 - H)} \quad (2.14)$$

und bei bekannter *F-Cell-ratio*:

$$V_P^* = \frac{V_P}{V_{B,Nadl} \times (1 - (H_Z \times F_{Cell}))} \quad (2.15)$$

2.6 Bestimmung der relativen Blutvolumensänderung

Die relative Änderung des Blutvolumens $_{rel}\Delta V_B$ zwischen einem Referenzzeitpunkt t_0 und einem Vergleichszeitpunkt t_1 errechnet sich zu

$$_{rel}\Delta V_B = \frac{V_B(t_1)}{V_B(t_0)} \quad (2.16)$$

Für Vollblut mit dem Volumen $V_B(t_0)$ zu einem Referenzzeitpunkt t_0 , dem Volumen $V_B(t_1)$ zum Vergleichszeitpunkt t_1 , dessen Volumen sich nur durch Entzug von Plasmaflüssigkeit ändert, mit dem zu beiden Zeitpunkten konstanten Erythrozytenvolumen V_E gilt ceteris paribus für die Berechnung der relativen Volumensänderung $_{rel}\Delta V_B$ durch Einsetzen von Gleichung 2.1 in Gleichung 2.16:

$$\text{rel}\Delta V_B = \frac{V_B(t_1)}{V_B(t_0)} = \frac{\frac{V_E}{H(t_1)}}{\frac{V_E}{H(t_0)}} = \frac{V_E}{H(t_1)} \frac{H(t_0)}{V_E} = \frac{H(t_0)}{H(t_1)} \quad (2.17)$$

Diese Gleichung behandelt im Menschen jedoch nur den Bezug zum (im Regelfall unbekanntem) *Gesamtkörperhämatokrit* zu den jeweiligen Zeitpunkten. Den Bezug zum zentralen Hämatokrit erhält man per Korrektur durch F_{Cell} (Gleichung 2.2):

$$\text{rel}\Delta V_B = \frac{H_Z(t_0) \times F_{\text{Cell}}(t_0)}{H_Z(t_1) \times F_{\text{Cell}}(t_1)} \quad (2.18)$$

Man beachte, dass hieraus

$$\text{rel}\Delta V_B = \frac{H_Z(t_0)}{H_Z(t_1)} \quad (2.19)$$

nur für konstant bleibendes $F_{\text{Cell}}(t_0) = F_{\text{Cell}}(t_1)$ gilt. Weiterhin beschreiben $H_Z(t_0)$ und $H_Z(t_1)$ den Gesamthämatokrit des Raumes der Makrozirkulation. Dass eine genommene Probe aus diesem Raum, wie zur Feststellung des Hämatokrits üblich, den gleichen Hämatokrit abbildet, setzt eine uniforme Verteilung der Erythrozyten voraus und vernachlässigt die Akkumulation von Erythrozyten z. B. in der Milz oder die hämatologisch bedingte relative Zunahme von Plasma in der kapillären und venösen Mikrozirkulation (sog. *Pooling-Effekte*) [12].

2.7 Refilling während der Hämodialyse

Während der Hämodialyse wird den PatientInnen durch Ultrafiltration aus dem Plasma Flüssigkeit entzogen. Die zu entziehende Flüssigkeit berechnet sich in der Klinik aus der Differenz des Gewichts der PatientInnen bei Dialysebeginn und einem sog. *Trockengewicht*, dem geschätzten Gewicht, das die PatientInnen hätten, wenn eine ausgeglichene Volumensbilanz vorliegen würde. Wie in der Einleitung beschrieben, ist das Ziel hierbei nicht primär die Reduktion des Blutvolumens, sondern der Entzug von interstitieller Flüssigkeit, die sich durch eine als Folge von durch Anurie unausgeglichener Flüssigkeitsbilanz angesammelt hat. [13]

Das Ultrafiltrationsvolumen wird von (protein-freiem) Ultrafiltrat am Dialysator zuerst aus dem Plasmavolumen entfernt. Zahl und Volumen der Erythrozyten sind dabei während einer Dialysebehandlung weitgehend konstant. Durch den Entzug von Ultrafiltrat verringert sich initial das Plasmavolumen bei gleichbleibender Proteinmenge: Dadurch steigt die Plasmaproteinkonzentration und auch der kolloidosmotische Druck. Anstieg des kolloidosmotischen Drucks und Abfall des hydrostatischen Drucks durch Volumensabnahme stimulieren die Reabsorption von

Flüssigkeit in der Mikrozirkulation und aus dem Lymphsystem. Dieser Effekt nennt sich im Dialysejargon *Refilling* [14].

Wir bezeichnen die absolute Menge an Flüssigkeit, die eine Menge an entzogenem Ultrafiltrat $\text{abs}\Delta V_{\text{Uf}}$ zwischen einem Referenzzeitpunkt t_0 und einem Vergleichszeitpunkt t_1 durch *Refilling* ersetzt, als $V_{\text{R,P}}$.

Es wird angenommen, dass fehlendes Plasmavolumen ausschließlich durch *Refilling* ersetzt wird und dass eine Volumenskontraktion durch Mischung unterschiedlicher Flüssigkeiten oder Dichteänderung hierbei vernachlässigbar klein ist. Daraus folgt nach dem Gesetz der Massenerhaltung, dass sich das Plasmavolumen $V_{\text{P}}(t_1)$ zum späteren Zeitpunkt t_1 zusammensetzt aus dem nach Entzug des Ultrafiltrationsvolumens verbleibenden Plasmavolumens ($V_{\text{P}}(t_0) - \text{abs}\Delta V_{\text{Uf}}$) gemischt mit dem durch *Refilling* nachgezogenen Volumen $V_{\text{R,P}}$:

$$V_{\text{P}}(t_1) = (V_{\text{P}}(t_0) - \text{abs}\Delta V_{\text{Uf}}) + V_{\text{R,P}} \quad (2.20)$$

Aufgelöst nach dem *Refilling*-Volumen erhält man:

$$\iff V_{\text{R,P}} = V_{\text{P}}(t_1) - V_{\text{P}}(t_0) + \text{abs}\Delta V_{\text{Uf}}$$

mit $V_{\text{P}}(t_1) - V_{\text{P}}(t_0) = \text{abs}\Delta V_{\text{P}}$ folgt:

$$\iff V_{\text{R,P}} = \text{abs}\Delta V_{\text{P}} + \text{abs}\Delta V_{\text{Uf}} \quad (2.21)$$

Es lässt sich also das absolute *Refilling*-Volumen zwischen zwei Zeitpunkten durch den Unterschied des Plasmavolumens und dem in dieser Zeitspanne ultrafiltrierten Volumen errechnen.

Als *relatives Refilling* soll in dieser Arbeit der Anteil des durch Volumen aus dem Interstitium ersetzten Ultrafiltrates innerhalb eines Zeitraumes definiert werden:

$$V_{\text{R,P}}^* = \frac{\text{abs}\Delta V_{\text{P}} + \text{abs}\Delta V_{\text{Uf}}}{\text{abs}\Delta V_{\text{Uf}}} \quad (2.22)$$

2.8 Körperoberfläche

Die Körperoberfläche ist ein typisches Beispiel, bei dem eine schwer messbare Größe mittels leichter zu bestimmenden Größen durch eine Näherungsformel abgeschätzt wird. Die hier benutzte Abschätzung der Körperoberfläche nach Dubois und Dubois

wurde mittels 12 vermessener, nach heutigem Standard nicht repräsentativer, Individuen entwickelt, [9] indem die von diesen ermittelten Körpergewichts- und Körpergrößenwerte mit der Körperoberfläche korreliert wurden. Die Formel hat, obwohl sie auf einer kleinen Stichprobe mit mangelnder Repräsentativität basiert, eine große Bedeutung z. B. in der Onkologie, wo nach ihr Dosierschemata bei Chemotherapie angepasst werden. Die Verwendung dieser Formel ist nicht unumstritten [9] und zeigt, dass anthropometrische Formeln eben nur statistisch ermittelte Näherungsformeln sind, deren Validität stark von der Repräsentativität des untersuchten Kollektivs abhängig sind.

Abschätzung der Körperoberfläche K mittels Körpergewicht w und Körpergröße h nach Dubois und Dubois:

$$K[cm^2] = \left(\frac{w}{kg}\right)^{0.425} \times \left(\frac{h}{cm}\right)^{0.725} \times 71.87 \quad (2.23)$$

3 Material und Methoden

3.1 Stichprobe

Einschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren ein PatientInnenalter > 18 Jahre und der Beginn einer chronischen Hämodialysebehandlung vor > 6 Monaten.

Ausschlusskriterien waren mangelnde Möglichkeit zur Kooperation der StudienpatientInnen bzgl. Essens- und Bewegungsrestriktion während der Versuche, Leberfunktionsstörungen, hämodynamische Instabilität während Dialysebehandlungen und (auch vermutete) Hypersensibilität auf Jod (Hilfsstoff im Indocyanin-Farbstoff).

3.2 Geräte, Material und Labor

3.2.1 Crit-Line III

Das *Crit-Line III System*, bestehend aus *Crit-Line III Monitor (CLM III)*, Sensorclip und Messkammer [15], ist ein System zur nicht-invasiven und kontinuierlichen Erfassung von Sauerstoffsättigung, Hämatokrit und relativer Blutvolumensänderung während der Hämodialysebehandlung. Die Crit-Line-Technik wurde von *In Line Diagnostics*, Kaysville (UT, USA) entwickelt [16], das Gerät wird von *Fresenius Medical Care*, Bad Homburg (Deutschland) vertrieben. Es ist hauptsächlich für den Einsatz während der Hämodialyse konzipiert, kann aber (z. T. zusätzliches Zubehör erforderlich) auch in anderen Bereichen eingesetzt werden.

Die in dieser Studie eingesetzte Konfiguration besteht aus folgenden Komponenten (Abb. 3.1):

- *CLM III* + Stromversorgung
- Einer optisch transparenten Messkammer, die vor der Dialyse zwischen arterieller Leitung und Dialysator in Reihe eingebaut wird.
- Einem mit dem *CLM III* verbundenen optischen Mess-Clip, der an diese Messkammer angeschlossen wird, mit integrierten Licht emittierenden Dioden (LED) und Sensoren für Messung im Transmissionsmodus.



Abbildung 3.1: Setup CLM III während der Dialyse
 Zu sehen sind Monitor mit Bildschirm und Messclip unten links, der am arteriellen Senkel des Dialysators angebracht ist. Bildrechte: Fresenius [17]

- Einem PC, der zur Online-Datenerfassung bzw. zum Daten-Download via serieller Schnittstelle mit dem *CLM III* verbunden ist.

Im Online-Modus misst bzw. berechnet das Gerät im 2-Sekunden-Takt folgende Parameter und gibt diese an den PC weiter (Abkürzung in runden, Einheit in eckigen Klammern): Zeit (t_{CLM}) [s], Hämatokrit (H_{CLM}) [Vol-%], Sauerstoffsättigung (sO_{2CLM}) [%], Relative Änderung des Blutvolumens ($_{rel}\Delta V_{B,CLM}$) [%] und zwei weitere Werte (hier benannt mit x_1 und x_2), die laut offizieller Dokumentation mit „Temp.V.“ und „Batt.V.“ bezeichnet und nicht für klinische Zwecke bestimmt sind (Abb. 3.2). Die ersten fünf Datenfelder sind hierbei mit jeweils drei Leerzeichen voneinander getrennt (ASCII-Code [032 032 032]_{dec}), das sechste Datenfeld ist mit nur zwei Leerzeichen abgesetzt (ASCII-Code [032 032]_{dec}).¹ Ein Datensatz wird mit [CR] [LF] abgeschlossen (ASCII-Code [013 010]_{dec}).

Die Messung von Hämatokrit und sO_2 erfolgt optisch durch Absorptions- und Streuungseigenschaften des Blutes. Hierzu wird die Absorption bei drei unterschiedlichen Wellenlängen gemessen: Bei 810 nm, nahe einem isosbestischen Punkt von Oxy-/ Desoxyhämoglobin, dessen Absorption an dieser Stelle daher unabhängig von der Sauerstoffsättigung ist (Abb. 3.3). Zudem bei 640 nm und 1300 nm. Mittels eines nicht veröffentlichten Algorithmus werden hieraus Hämatokrit (H_{CLM}) und Sauerstoffsättigung berechnet.

¹ASCII: *American Standard Code for Information Interchange*, [CR]: *carriage return*, [LF]: *line feed*, [x]_{dec}: x dargestellt im Dezimalsystem (statt im Hexadezimalsystem). Für weiterführende Erklärungen siehe Fachbücher der Informatik.

t_{CLM}	H_{CLM}	sO_{2CLM}	$\Delta relVb_{CLM}$	x_1	x_2
:					
9687	35.1549	94.3298	-3.8726	2.053336	12.05495
9689	35.1625	94.3084	-3.8959	2.053286	12.05495
9691	35.1729	94.2848	-3.9243	2.053252	12.05495
9693	35.1869	94.2613	-3.9624	2.053214	12.05369
9695	35.1965	94.2369	-3.9887	2.053185	12.05453
9697	35.2074	94.2102	-4.0181	2.053161	12.05495
9699	35.2201	94.1833	-4.0528	2.053137	12.05453
9701	35.2362	94.1608	-4.0968	2.053106	12.05369
9703	35.2487	94.1475	-4.1308	2.05308	12.05369
:					

Abbildung 3.2: Via PC erfasste on-line-Daten des *CLM III*
(Spaltenüberschriften in Originaldatei nicht vorhanden)

Die Errechnung der relativen Blutvolumensveränderung erfolgt wie in Gleichung (2.17) beschrieben unter Annahme gleichbleibender F-cell-ratio durch die Formel

$$\text{rel}\Delta V_{B,CLM} = \frac{H_{CLM}(t_0)}{H_{CLM}(t_1)} \quad (3.1)$$

wobei $H_{CLM}(t_0)$ der mittels *CLM III* gemessene Hämatokrit zum Startzeitpunkt ist und $H_{CLM}(t_1)$ der Hämatokrit zum jeweiligen Messzeitpunkt. Dass der Basis-Hämatokrit in dieser Formel im Zähler steht, kann der Intuition widersprechen, ist jedoch korrekt (Herleitung Kap. 2.6).

Die Errechnung der Hämoglobinkonzentration (Hb_{CLM} , nur auf dem Geräte-Display angezeigt) erfolgt lt. Hersteller nach der Formel

$$Hb_{CLM} = \frac{H_{CLM}[\%]}{2.94} \cdot \frac{g}{dL} \quad (3.2)$$

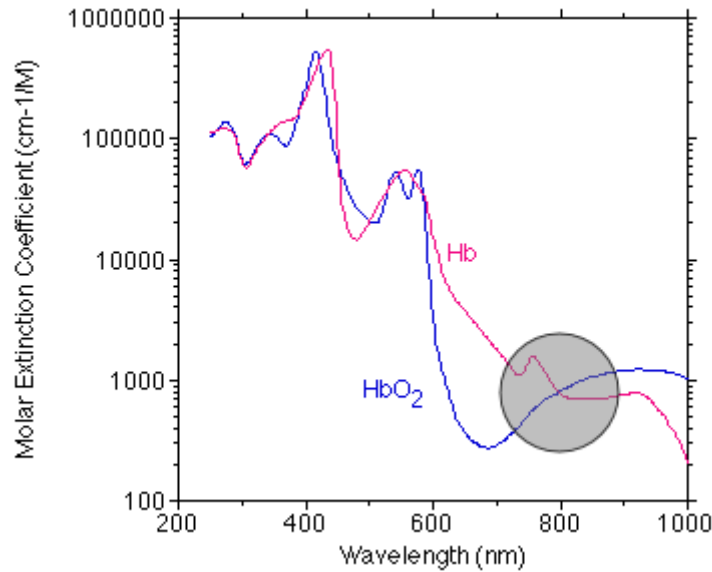


Abbildung 3.3: Absorption von Oxy- und Desoxyhämoglobin [18]
 Markierung: Isosbestischer Punkt bei ~810 nm

Die Toleranzen und Grenzen sind laut Hersteller wie folgt angegeben [15]:

Hämatokrit [%]:	± 1 Prozentpunkt im Hämatokritbereich von 10 %–60 %
Sauerstoffsättigung [%]:	± 2 sO ₂ -Prozentpunkte im Bereich einer Sättigung von 55 % - 100 % für $H > 18$ %.
Hb _{CLM} [g/dL]:	Für den abgeschätzten Hämoglobinwert sind keine Toleranzbereiche angegeben.
rel $\Delta V_{B,CLM}$:	Für die Berechnung der relativen Blutvolumensveränderung sind keine Toleranzbereiche angegeben.

3.2.2 Indocyaningrün

Indocyaningrün (ICG) ist ein grün-bläulicher Farbstoff, der aktuell in der Herz-Kreislauf-Diagnostik, der Leberfunktionsdiagnostik und der Mikrozirkulationsdiagnostik (hier v. a. in der ophthalmologischen Angiographie) Verwendung findet. Der Stoff gehört der Gruppe der Cyanin-Farbstoffe an und besitzt somit eine Ammoniumgruppe sowie eine tertiäre Aminogruppe, die einen starken bathochromen Effekt ausüben. Hierdurch absorbiert das Molekül in einem verglichen mit der Größe seines π -Elektronensystems sehr langwelligen Bereich. Die Absorptionsspektren unterschiedlicher Konzentrationen von ICG in Wasser und Plasma finden sich in Abbildung 3.5 bzw. 3.6. Das Absorptionsmaximum niedrigmolarer ICG-Konzentrationen in Plasma bei ~810 nm interferiert mit der isosbestischen Absorption von Hämoglobin und

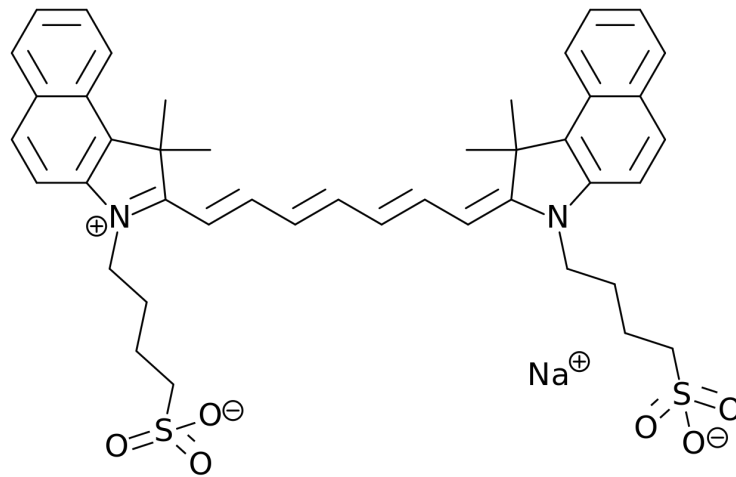


Abbildung 3.4: Indocyaningrün – Skelettformel [19]

Oxyhämoglobin, die von vielen transkutanen und nicht-invasiven Blutanalysegeräten und Pulsoximetern verwendet wird, so auch vom *CLM III* (Kap. 3.2.1). Die sich hieraus ergebende Überschätzung des Hämatokrits infolge zusätzlicher Absorption durch ICG des *CLM III* bildet die Basis der in dieser Forschungsarbeit untersuchten Methode zur Blutvolumensbestimmung, da hiermit nicht-invasiv und kontinuierlich die Indocyaninkonzentration im Blut bestimmt werden kann [20].

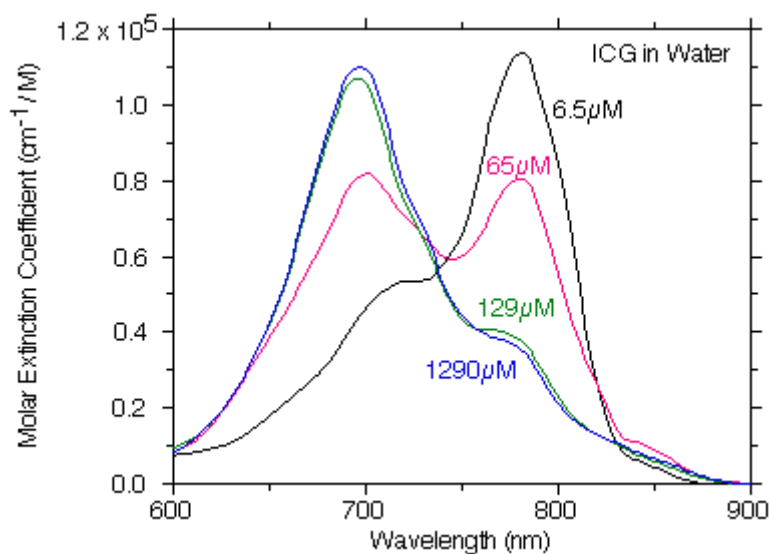


Abbildung 3.5: ICG – Absorptionsspektrum in Wasser, Plot: [21], Datenherkunft: [22]

Zu bemerken ist, dass ICG-Lösungen in Plasma aufgrund von Aggregatbildungen bei Konzentrationen über $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($\approx 19,4 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) nicht mehr dem Lambert-Beer'schen Gesetz folgen [22] (Abb. 3.6). Für die vorliegende Studie hat diese Eigenschaft jedoch aufgrund der eingesetzten Messmethode und der niedrigen Plasmakonzentrationen keine Bedeutung.

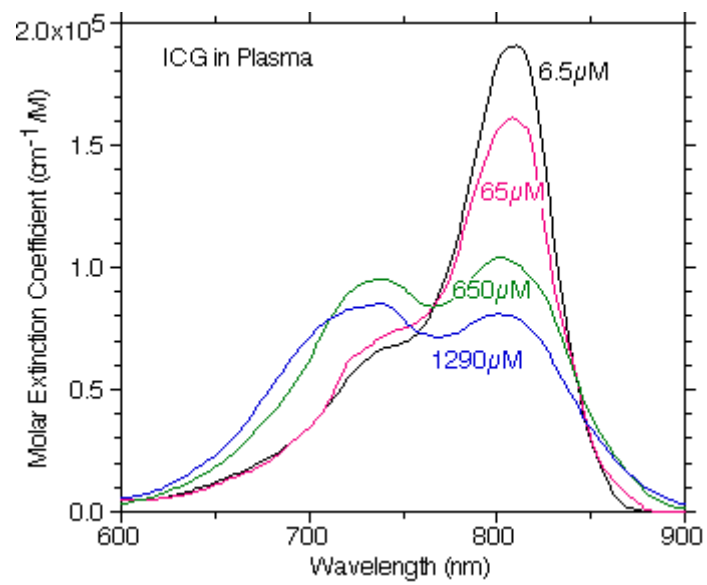


Abbildung 3.6: ICG – Absorptionsspektrum in Plasma, Plot: [23], Datenherkunft: [22]

Pharmakokinetische Eigenschaften lt. Herstellerinformation [24]:

Verteilung

Nach intravenöser Injektion unterliegt Indocyaningrün keinem signifikanten extrahepatischen oder enterohepatischen Kreislauf; die gleichzeitige Bestimmung in arteriellem und venösem Blut zeigte eine vernachlässigbare Aufnahme des Farbstoffes in die Niere, das periphere Gewebe oder die Lunge. Bei gesunden Probanden kann Indocyaningrün weder im Urin noch in der Zerebrospinalflüssigkeit nachgewiesen werden. Indocyaningrün ist nicht plazentagängig. Das Verteilungsvolumen entspricht dem Blutvolumen. Nach oraler oder rektaler Verabreichung wird Indocyaningrün nicht im Magen-Darm-Trakt resorbiert.

Proteinbindung

Nach intravenöser Injektion bindet Indocyaningrün schnell an die Plasmaproteine, von denen beta-Apolipoprotein B der bevorzugte Träger (95%) ist.

Metabolismus.

Indocyaningrün wird nicht metabolisiert.

Ausscheidung

Die Elimination des Farbstoffes aus dem Blut erfolgt biphasisch mit einer initialen Eliminationshalbwertszeit $t_{1/2}$ von 3-4 min und einer zweiten dosisabhängigen $t_{1/2}$ von ca. 60 – 80 Minuten.. (sic!) Indocyaningrün wird aus dem Plasma nahezu ausschließlich durch die Leberparenchymzellen aufgenommen mit einer maximalen Aufnahmerate (Transportmaximum: T_m von ca. 0,1 mg/Minute/kg) und ausschließlich über die Galle unmetabolisiert und unkonjugiert ausgeschieden. Das Konzentrationsmaximum in der Galle wird – je nach injizierter Menge – nach ca 1/2 – 2 Stunden erreicht. Nach biliärer Obstruktion erscheint Indocyaningrün in der Leberlymphe, unabhängig von der Galle, woraus geschlossen werden kann, dass die Gallengangsmucosa ausreichend intakt ist, um eine Diffusion des Indocyaningrüns zu verhindern und dennoch eine Diffusion von Bilirubin zu ermöglichen. Da Indocyaningrün im Darm nicht rückresorbiert wird, kommt es zu keinem enterohepatischen Kreislauf.

In dieser Studie wurde *ICG-Pulsion* (*Pulsion Medical Systems SE*, Feldkirchen, Deutschland) verwendet, vertrieben als 25 mg Pulver in einer Durchstechflasche aus Braunglas zur Rekonstitution mit Aqua dest. Neben Indocyaningrün, das als Mononatriumsalz vorliegt, enthält dieses Produkt zur Löslichkeitsvermittlung Natriumiodid in einer nicht näher spezifizierten Menge, was zum Ausschlusskriterium „Jodallergie“ führte. Die zulässige Gesamttagesdosis ist vom Hersteller mit 5 mg ICG pro kg Körpergewicht (\approx 375 mg bei 75 kg KG) beim erwachsenen Menschen angegeben und wurde während der Studie nicht überschritten.

Innerhalb 30 min vor Injektion wurde das Pulver in 5 mL H₂O gelöst. Es wurden 4 mL Lösung (entsprechend 20 mg ICG) auf eine Spritze aufgezogen und für die Injektion bereitgelegt, der Rest wurde verworfen.

3.2.3 Hämatokritbestimmung per Zentrifuge

Zur Bestimmung des sogenannten *packed cell volume* (PCV, *Micro-Hämatokrit*) wurden in leichter Modifikation der Bestimmungsmethode nach *Wintrobe* [6, S. 478] von jeder Blutprobe drei heparinisierte Micro-Hämatokritröhrchen gefüllt und für 10 min bei einer Radialbeschleunigung (RZB) von ca. $16\,000\text{ g}^2$ zentrifugiert. Anschließend wurden Gesamt-Flüssigkeitssäule und Erythrozytensäule mit einem Lineal ausgemessen und durch Division der Hämatokrit ermittelt. Es wurden arithmetisches Mittel und Standardabweichung berechnet. Bei einer Standardabweichung > 0.02 wurden die Hämatokritröhrchen verworfen und die Messung an dieser Blutprobe wiederholt. In der Zentrifuge gebrochene oder ausgelaufene Röhrchen wurden einzeln ersetzt und vermessen. Eine Korrektur für *trapped plasma* [5] wurde nicht durchgeführt. Folgendes Material wurde zur Micro-Hämatokrit-Bestimmung verwendet:

Hämatokritröhrchen

Produkt:	<i>Assistent Mikro-Haematokrit-Kapillaren</i>
Hersteller:	<i>Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co KG, Sondheim/Rhön (Deutschland)</i>
Länge:	$75 \pm 0.5\text{ mm}$
Innendurchmesser:	$1.15 \pm 0.05\text{ mm}$
Außendurchmesser:	$1.55 \pm 0.05\text{ mm}$
Markierung:	Farbring bei 60 mm

Zentrifuge

Modell:	<i>Micro 20</i>
Hersteller:	<i>Hettich AG, Tuttlingen (Deutschland)</i>
Kapazität:	24 Hämatokrit-Röhrchen (in der hier beschriebenen Konfiguration)
Radius:	8.5 cm
max. Rotationsgeschwindigkeit:	13000 min^{-1}
max. RZB:	16249 g

²hier: Erdbeschleunigung

3.2.4 Hämatokritbestimmung per Cobas 221 b POC System

Zur zusätzlichen Hämatokritmessung wurde das auch sonst in der klinischen Routine eingesetzte *Cobas 221 b POC System (Cobas b 221, POC-System)* der Firma Roche (Mannheim, Deutschland) verwendet. Das Gerät bestimmt den Hämatokrit indirekt per Leitfähigkeitsmessung und ist daher potentiell anfälliger für Fehler durch nicht regelrechte Elektrolytverhältnisse [25]. Zusätzlich wurden, auch im Rahmen der klinischen Routine, folgende Parameter bestimmt:

Vollblut, arteriell: Natrium-, Chlorid-, Kalium-, Glucose-, Hämoglobin-Konzentration

Dialysat: Chlorid-, Natrium-, Kalium-, Kalzium- Glucose-Konzentration, pH

3.3 Protokoll

Alle Untersuchungen wurden an PatientInnen der Dialysestation der *Medizinischen Universität Graz* parallel zur klinischen Routine und im Rahmen einer Studie mit mehreren Fragestellungen durchgeführt. Während zwei Dialysebehandlungen im Abstand von 7 Tagen fanden pro PatientIn insgesamt 2 Untersuchungen statt. Versuchstag 1 und die Wiederholung in der Folgewoche waren im Ablauf identisch.

Die Zustimmung der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz zur Studie wurde im Vorhinein eingeholt. PatientInnen wurden in angemessener Zeit vor dem ersten Test über die geplante Studie aufgeklärt. Es wurde eine schriftliche Einwilligung eingeholt und die PatientInnen wurden informiert, dass sie diese zu jedem Zeitpunkt ohne Angabe von Gründen zurückziehen können. Bestandsdaten wurden über die Klinikdatenbank und PatientInneninterviews erhoben und mit Studientag und -nummer pseudonymisiert in die Datenbank eingegeben. Die in dieser Diplomarbeit beschriebene Studie wurde vor Inkrafttreten der Datenschutzverordnung *Verordnung (EU) 2016/679 des Europäischen Rates („DSGVO“)* genehmigt und durchgeführt.

Am Versuchstag selbst wurden vor Beginn alle nötigen Geräte aufgebaut. Die Messkammer für die optische Hämatokritmessung wurde beim Aufbau des Dialysesystems zwischen der arteriellen Blutleitung und der dem Dialysator zuführenden Seite (*arterieller Eingang*) eingebaut und Materialien für Injektionen und Blutentnahmen bereitgelegt. Zum Empfang und zur zeitlich unverzögerten Visualisierung der kontinuierlich erfassten Hämatokrit-Daten via *CLM III* wurde dieses über eine serielle Schnittstelle mit einem PC verbunden.

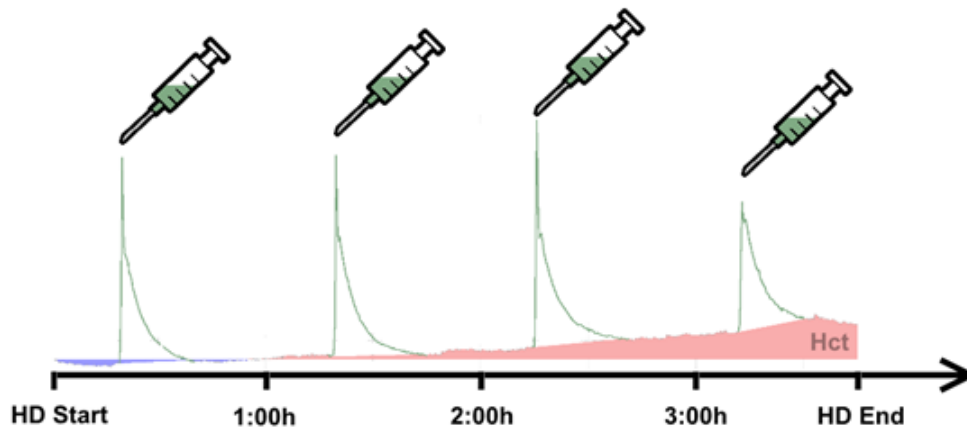


Abbildung 3.7: Zeitlicher Ablauf der ICG-Injektionen

Ab Dialysestart verringerter Hämatokrit blau, erhöhter Hämatokrit rot. Grüne Kurve: durch ICG verursachte Hämatokrit-Peak-Messungen mittels *CLM III* (Kap. 3.6)

Bei Ankunft der PatientInnen wurde das Ziel-Ultrafiltrationsvolumen ermittelt aus Gewicht vor der Behandlung und klinisch bestimmtem Trockengewicht, das dieser zum Ende der Dialyse erreichen sollte. Es wurde der periphere arteriovenöse Shunt punktiert bzw. eine Patientin des Studienkollektivs über einen zentralvenösen *Shaldon-Katheter* / ZVK an die Dialysemaschine angeschlossen. Als Dialysemethode wurden Hämodialyse oder Hämodiafiltration im Post-Dilutions-Modus eingesetzt. Die Dialysattemperatur betrug bei allen Versuchen 37°C , die Natriumkonzentration im Dialysat wurde für iso-naträmische Behandlungsbedingungen und zur Minimierung von Tonizitätsänderungen an die Na^{+} -Konzentration der PatientInnen angepasst. Blutfluss, Infusionsvolumina und weitere Zusammensetzung des Dialysats wurden entsprechend der Standardtherapie der PatientInnen beibehalten. Direkt vor Dialysebeginn wurde im Rahmen der Shuntpunktion eine Blutprobe entnommen, deren Analyse per *Cobas b 221 POC System* und Zentrifuge erfolgte. Zum Start der Dialysebehandlung wurde eine Stoppuhr gestartet. Der Sensor des *Crit-Line III System* wurde an die dazugehörige Messkammer geklemmt, sobald sich die zunächst im Dialysesystem befindende Flüssigkeit hinreichend mit dem PatientInnenblut vermischt hatte. Zusätzlich erfolgte eine erste Erhebung und Protokollierung der Dialyse- und Vitalparameter.

In weiterer Folge wurden nun 4 Bolusinjektionen mit jeweils 20 mg Indocyaningrün (ICG) ad aqua dest. zu den Zeitpunkten 0:15 h, 1:15 h, 2:15 h, 3:15 h Dialysezeit durchgeführt (Abb. 3.7). Der Ablauf einer einzelnen ICG-Injektion war jeweils exakt gleich:

Innerhalb 30 min vor Injektion wurde die Injektionslösung vorbereitet und bereitgelegt. Unmittelbar vor jeder ICG-Injektion erfolgte eine Erhebung der Dialyse-

und Vitalparameter. Es wurde eine Blutprobe aus dem arteriellen Schenkel des extrakorporalen Kreislaufs entnommen, auf einem Schwenktisch gelagert und die Blutentnahmezeit protokolliert.

Die Injektion der ICG-Lösung erfolgte in den venösen Schenkel des extrakorporalen Kreislaufs, der über den peripheren arteriovenösen Zugang direkt in das venöse System der PatientInnen führt. Hierzu wurde die für Injektionen vorgesehene Membran am Dialysesystem durchstoßen und die ICG-Lösung zügig innerhalb einer Sekunde appliziert. Direkt zum Injektionszeitpunkt wurde mittels *CLM III* eine Marke gesetzt, nach der im Weiteren in den entsprechenden Textdateien gesucht werden kann. Darüber hinaus wurden exakte Injektionszeit und Chargennummer des injizierten ICG protokolliert.

Die Analyse der Blutprobe erfolgte direkt im Anschluss: Es wurde eine Analyse mit dem in der klinischen Routine genutzten *POC-System* durchgeführt (Bestimmung der Konzentration von Na^+ , K^+ , Glucose, Hämoglobin, sowie Hämatokrit). Zusätzlich wurde der Hämatokrit mittels Mikrozentrifugation ermittelt.

Zur Verringerung von möglichen Bewegungsartefakten wurden die PatientInnen aufgefordert, innerhalb 15 min nach ICG-Injektion möglichst ruhig zu liegen. Weiterhin sollte in dieser Zeit weder gegessen noch getrunken werden. Abweichungen hiervon sowie weitere Nahrungs- und Flüssigkeitseinnahme und auch jegliche sonstige Ereignisse wurden in einem Ereignisprotokoll festgehalten.

Direkt vor Dialyseende wurden abschließend noch einmal Vital- und Dialyseparameter dokumentiert. Nach Abschluss der Dialyse erfolgte die zusätzliche Übertragung des internen Gerätespeichers des *CLM III* auf den Computer, dessen Auslesefrequenz der Daten bei nur $(20 \text{ sec})^{-1}$ liegt.

3.4 Datenerfassung

3.4.1 Automatisierte Datenerfassung

Jeder durch den *CLM III* im 2-Sekunden-Takt erfasste Datensatz wird zeitgleich per serieller Schnittstelle ausgegeben. Diese Daten können mittels PC erfasst und in eine Textdatei gespeichert werden. Hierzu war der *CLM III* in dieser Versuchsreihe über ein serielles Kabel mit einem PC verbunden. Empfangen und aufgezeichnet wurde der Datenstrom mit dem Programm *HyperTerminal 5.1* (*Microsoft Corporation*, Redmond WA, USA, 2007). Weiterhin zeichnet der Monitor alle gemessenen Daten in einem internen Speicher auf. Speichertakt ist 20 Sekunden — Ein Daten-

satz dieses Speichers entspricht hierbei dem Durchschnitt von 10 Datensätzen der Online-Ausgabe.

Zum Aufbau einer seriellen Datenverbindung zwischen *CLM III* und Computer sind folgende Einstellungen im *HyperTerminal* vorzunehmen:

Baud Rate	9600
Data Bits	8
Stop Bits	1
Parity	NONE
Flow Control	Xon/Xoff

Nachdem eine Ziel-Textdatei erstellt wurde, in die in weiterer Folge alle empfangenen Daten gespeichert werden, wird mit dem Befehl „raw“ die Weitergabe der Online-Daten an den PC gestartet. Nach Abschluss der Dialysebehandlung wurde die Verbindung terminiert und eine neue Ziel-Textdatei erstellt. Die Verbindung wurde erneut aufgebaut und mit dem Befehl „log“ der interne (20-Sekunden-) Speicher ausgelesen.

3.4.2 Datenbank

Die viel-dimensionale Datenstruktur (mehrere PatientInnen mit Messwiederholung und wiederholten Messungen während einer Studie) benötigt für die Datenanalyse eine Datenbankstruktur. Art und Umfang der angefallenen PatientInnen- und Versuchsdaten sind ein typischer Fall, bei dem auch in der Literatur der Einsatz einer relationalen Datenbank empfohlen wird. [26] Um diese geordnete strukturierte Erfassung der Daten möglich zu machen, wurde mittels *Access 2010* (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA, 2010) eine Datenbank aufgebaut. Im Folgenden soll eine vollständige Beschreibung dieses Aufbaus der Datenbank folgen. Eine Schematische Darstellung findet sich in Abb. 3.8

In der Tabelle „Patienten“ werden unter Berücksichtigung des Datenschutzes relevante PatientInnen-Basisdaten erfasst. Primärschlüssel ist das Feld „Patienten-ID“. „Patient ausgeschlossen“ ist ein ja/nein-Feld. Hierdurch kann ein kompletter Patient oder eine komplette Patientin und alle verknüpften Daten von der weiteren Analyse ausgeschlossen werden. Weitere Felder sind Geschlecht, das Alter beim ersten Versuch, Sollgewicht beim ersten Versuch, Körpergröße und Restdiurese. Es wird angegeben, ob der Patient oder die Patientin Raucher ist, wie viele *Pack-Years* er/sie hat und seit wie vielen Jahren er/sie nicht mehr raucht.

Sollte der Patient oder die Patientin nie geraucht haben, wird in den letzteren beiden Feldern „0“ eingetragen. Ja/nein-Felder bezüglich Pathologien sind: „War



Abbildung 3.8: Visualisierung der Datenbank

Hypertoniker“, „ist Hypertoniker“, „Pathologien an Leber“, „Pathologien an Gefäßen“, „Pathologien am Herz“. Im Feld „HbA1c“ ist der zuletzt gemessene HbA_{1c}-Wert eingetragen, der auch bei nicht-diabetischen DialysepatientInnen routinemäßig in regelmäßigen Abständen erhoben wird. „Renale Grunderkrankung“ bezeichnet die Erkrankung, die zur Dialysepflichtigkeit geführt hat und das Memo-Feld „Liste aller Erkrankungen“ listet für weitere, z. T. noch nicht geplante Analysen alle derzeitigen Erkrankungen des Patienten oder der Patientin auf. Medikamente werden durch die ja/nein-Felder „Bekommt Antidiabetika“, „Bekommt Antihypertensiva“, „Bekommt ACE-Hemmer“, „Bekommt sonstige Antihypertensiva“ und das Memo-Feld „Vollständige Medikamentenliste“ erfasst. Dieses Design mit einer teilweisen Überschneidung der Gruppen war zur Vereinfachung weiterer Analysen durch weitere Forschungsgruppen nötig. „Shuntfluss“ bezeichnet den zuletzt gemessenen Shuntfluss und „Shuntposition“ beschreibt dessen Lokalisierung.

Tabelle „Versuche“ enthält alle Versuchs-Basisdaten. „Versuchs-ID“ bezeichnet die intern vergebene Versuchs-ID. Diese enthält Redundanzen zur besseren Identifizierung aller zugehörigen Dateien, weswegen als Primärschlüssel die fortlaufende Versuchsnummer über alle Dialyseversuche festgelegt wurde. Weiterhin wurde das Versuchsdatum und die Versuchsnummer für den jeweiligen Patienten oder die jeweilige Patientin angegeben. „Patienten-ID“ ist n:1 mit der PatientInnen-ID aus der Tabelle „Patienten“ verknüpft. Weitere erhobene Versuchsdaten sind: Dialysebeginn, Dialyseende, Dialysedauer, Shuntart (peripher/zentral) und das gesamte Ultrafiltrationsvolumen während der Dialysebehandlung. Die Shuntposition wurde redundant aufgrund analysetechnischer Vorteile als Feld hinzugefügt.

Tabelle „ICG-Injektionen“ enthält Daten zu jeder der mindestens 4 ICG-Injektionen pro Messtag. Primärschlüssel ist hier die Kombination aus Versuchs-ID (n:1 verknüpft mit Tabelle „Versuche“) und „Injektions-Nummer“, einer fortlaufenden Nummer aller ICG-Injektionen innerhalb einer Dialysebehandlung. Zum Zeitpunkt jeder ICG-Injektion wurden folgende Dialyse- und PatientInnendaten gesondert erhoben: Systolischer und diastolischer Blutdruck sowie (errechneter) mittlerer arterieller Druck (MAD), Herzfrequenz (HF), Blutfluss (Q_b), arterieller und venöser Leitungsdruck, Ultrafiltrationsrate (UFR) und kumuliertes Ultrafiltrationsvolumen (UFV). Der Zeitpunkt der ICG-Injektion wurde in „CritLine-Zeit“ erfasst, d. h. in jener Zeit, die der *CLM III* zum Injektionszeitpunkt anzeigt. Erhobene Daten zum Dialysestart und -ende wurden unter den generischen ICG-Nummern „0“ bzw. „99“ erfasst.

In der Tabelle „Blut“ werden sämtliche Blutabnahmen erfasst. Primärschlüssel ist die Kombination aus Versuchs-ID und Entnahme-Nummer. Versuchs-ID ist n:1 verknüpft mit der Tabelle „Versuche“. Entnahme-Nummer ist die fortlaufende Nummerierung jeder in dieser Dialysebehandlung genommenen Blutprobe unabhängig

von ihrem Zweck. Jede Blutabnahme enthält weiterhin eine eindeutige Identifikationsnummer, anhand derer sie (1:n) mit allen weiteren mit ihr durchgeführten Analysen verknüpft wird. Weiterhin werden der Blutprobe mit ja/nein-Feldern Eigenschaften zugewiesen: gehört die Blutprobe zu einer ICG-Injektion? Ist sie eine Anfangsentnahme? Ist sie eine Abschlussentnahme? Ist sie zusätzlich bzw unabhängig zu dieser Studie erfolgt z. B. im Rahmen der klinischen Routine? Sollte eine Blutentnahme im Rahmen einer ICG-Injektion vorgenommen worden sein, wird deren Nummer (mit Tabelle „ICG-Injektionen“ 1:1 verknüpft) im Feld „zugehörige ICG-Injektions-Nummer“ eingetragen.

Der Hämatokrit des gewonnenen Blutes wurde per Zentrifuge analysiert. Blut aus einer Blutprobe wurde in Hämatokrit-Röhrchen zentrifugiert und anschließend der Hämatokrit ausgemessen (Kap. 3.2.3). Die Daten eines Hämatokrit-Röhrchens bilden jeweils einen Datensatz in der Tabelle „Zentrifugen-Messungen“. Im Feld „Blut-ID“ wird (n:1 verknüpft) die ID der Blutprobe eingetragen. „Röhrchen-Nummer“ bezeichnet fortlaufend das von der jeweiligen Probe gezogene Hämatokrit-Röhrchen. Zusammen bilden diese beiden Werte den Primärschlüssel. Sollte eine Probe gebrochen oder offensichtlich unkorrekt sein, gibt es die Möglichkeit, diese über das Feld „Probe ungültig? (y/n)“ auszutragen. Sie ist damit von weiterer Analyse ausgeschlossen. „Gesamtlänge Flüssigkeitssäule“ bezeichnet die Länge der mittels Lineal ermittelte Flüssigkeitssäule nach dem Zentrifugieren und „Länge Erythrozytensäule“ die dazugehörige Erythrozytensäule. Aus den zwei letztgenannten Werten berechnet das Programm den Hämatokrit und trägt ihn im Feld „Hkt [berechnet]“ ein.

In der Tabelle „Messungen CritLine“ wird der zum Zeitpunkt der Blutentnahme per *CLM III* erfasste Hämatokrit dokumentiert. Primärschlüssel ist die (1:1 verknüpfte) Blut-ID. Im zweiten Feld wird oben beschriebener Hämatokrit eingetragen. Jede gewonnene Blutprobe wurde mit dem Gerät *Cobas b 221 POC System* analysiert. Beim Design dieser Tabelle musste der Tatsache Rechnung getragen werden, dass Analysen regelmäßig zum Teil aufgrund von Gerätefehlern wiederholt werden müssen. Primärschlüssel ist daher die Kombination aus „Blut-ID“ (n:1 verknüpft) und „Analyse-Nr dieser Blutprobe“.

3.5 ICG-Konzentrationsberechnung

Schneditz et. al. haben gezeigt, dass mit dem *CLM III* im zirkulierenden Blut eines Patienten oder einer Patientin während der Hämodialyse die Blut- und Plasmakonzentration von ICG ohne Blutabnahme bestimmt werden kann [20]. Bei Anwesenheit von ICG im strömenden Blut misst der *CLM III* aufgrund der optischen Absorpti-

onseigenschaften von ICG einen falsch hohen Hämatokrit H_{CLM}^* . Die relative Hämatokritänderung $\text{rel}\Delta H_{\text{CLM}}^*$ zwischen diesem in Anwesenheit von ICG gemessenen Hämatokrit H_{CLM}^* und einem Basis-Hämatokrit $H_{\text{CLM}}(t_0)$, der kurz vor ICG-Injektion gemessen wurde, ist hierbei proportional zur ICG-Konzentration C_{ICG} .

$$\text{rel}\Delta H_{\text{CLM}}^* = k \times C_{\text{ICG}} \quad (3.3)$$

mit

$$k = a \times e^{b \cdot H_{\text{CLM}}} \quad (3.4)$$

und

$$\text{rel}\Delta H_{\text{CLM}}^* = \frac{H_{\text{CLM}}^*}{H_{\text{CLM}}(t_0)} \quad (3.5)$$

Nach umstellen und einsetzen von Gleichung 3.3 bis 3.5 erhält man als Formel zur Konzentrationsberechnung:

$$C_{\text{ICG}} = \frac{H_{\text{CLM}}^*}{(H_{\text{CLM}}(t_0)) \times (a \times e^{b \cdot H_{\text{CLM}}(t_0)})} \quad (3.6)$$

die Parameter a und b wurden experimentell ermittelt und betragen für Blutplasma

$$a = 0.176 \quad (3.7a)$$

$$b = -0.0398 \quad (3.7b)$$

Diese Konzentrationsbestimmung bildet die Basis für die Ermittlung des Blut- und Plasmavolumens per Indikatorverdünnungsmethode in der vorliegenden Arbeit.

3.6 Berechnung der Plasmavolumens

Die Konzentration C eines Indikators mit Masse m , der homogen im Plasma V_{P} des Intravasalraums verteilt ist, berechnet sich nach Gleichung 2.10 zu:

$$C = m / V_{\text{P}} \quad (3.8)$$

Kann V_P im Beobachtungszeitraum als konstant angenommen werden, m und C aufgrund von Eliminationsvorgängen jedoch als zeitabhängig, so gilt:

$$C(t) = \frac{m(t)}{V_P} \quad (3.9)$$

Da für die Volumensbestimmung per Indikatorverdünnungsmethode eine Voraussetzung die homogene Mischung des Indikators im zu messenden Volumen ist, ICG aber aufgrund seiner geringen Halbwertszeit zum Zeitpunkt der vollständigen Durchmischung bereits zu einem Teil eliminiert ist, ist die Masse zum Zeitpunkt einer Messung nicht mehr die Anfangsmasse, sondern hat sich um einen unbekanntem Betrag verringert.

Es wird angenommen, dass eine Volumeneinheit Plasma $V(T)$, die im Blutstrom der Pfortader und Leberarterien im Zeitraum T durch die Leber fließt, komplett von ICG gereinigt wird (erste Eliminationsphase, Kap. 3.2.2). Diese Volumeneinheit berechnet sich bei konstantem Leberfluss Q_L zu

$$V(T) = Q_L \times T \quad (3.10)$$

Nach Gl. (2.10) gilt für die in dieser Volumeneinheit enthaltene Indikatormasse $m'(T)$ bei einer Konzentration $C(t)$ zum Zeitpunkt t :

$$m'(T) = C(t) \times V(T) \quad (3.11)$$

Die im gesamten Plasmavolumen enthaltene Indikatormasse $m(t + \epsilon)$ zu einem Zeitpunkt $t + \epsilon$ berechnet sich aus der Indikatormasse zum Zeitpunkt t abzüglich der durch die Leber im Zeitraum ϵ eliminierten Masse $m'(\epsilon)$

$$m(t + \epsilon) = m(t) - m'(\epsilon) \quad (3.12)$$

Bei einer Konzentration $C(t)$ in der im Zeitraum ϵ gereinigten Plasmamenge $V(\epsilon)$ ergibt sich durch Einsetzen von Gleichung 3.11:

$$m(t + \epsilon) = m(t) - C(t) \times V(\epsilon) \quad (3.13)$$

und mit Einsetzen von Gleichung 3.10:

$$m(t + \epsilon) = m(t) - C(t) \times Q_L \times \epsilon \quad (3.14)$$

Durch Einsetzen von $m(t) = C(t) \times V_P$ (Gl. 2.10) erhält man:

$$C(t + \epsilon) \times V_P = C(t) \times V_P - Q_L \times C(t) \times \epsilon \quad (3.15)$$

Durch Umstellen ergibt sich hieraus

$$\Leftrightarrow c(t + \epsilon) = c(t) - \frac{Q_L}{V_P} \times \epsilon \times C(t) \quad (3.16)$$

$$\Leftrightarrow \frac{-c(t) + c(t + \epsilon)}{\epsilon} = -\frac{Q_L}{V_P} \times C(t) \quad (3.17)$$

für sehr kleine Beobachtungszeiträume $\epsilon \rightarrow 0$ gilt bei Annahme eines Einkompartimentmodells, bei dem die Konzentration im beobachteten Raum zu jedem Zeitpunkt an jeder Stelle gleich ist:

$$\lim_{\epsilon \rightarrow 0} \left(\frac{-c(t) + c(t + \epsilon)}{\epsilon} \right) = \frac{\partial C(t)}{\partial t} \quad (3.18)$$

Eingesetzt in Gl. 3.16 erhält man

$$\frac{\partial C(t)}{\partial t} = -\frac{Q_L}{V_P} \times C(t) \quad (3.19)$$

Nach Lösen der Differenzialgleichung ergibt sich:

$$C(t) = C(0) \times e^{-\frac{Q_L}{V_P} \times t} \quad (3.20)$$

Nach beidseitigem Logarithmieren erhält man:

$$\ln(C(t)) = \ln(C(0) \times e^{-\frac{Q_L}{V_P} \times t}) \quad (3.21)$$

$$\Leftrightarrow \ln(C(t)) = \ln(C(0)) + \ln(e^{-\frac{Q_L}{V_P} \times t}) \quad (3.22)$$

$$\Leftrightarrow \ln(C(t)) = \ln(C(0)) - \frac{Q_L}{V_P} \times t \quad (3.23)$$

Durch Regressionsanalyse der Wertepaare $[t, \ln(C(t))]$ der nach vollständiger Durchmischung per *CLM III* bestimmten ICG-Konzentrationen lässt sich die Konzentration ermitteln, die ICG bei homogener Verteilung im Plasmavolumen zum

Zeitpunkt $t = 0$ gehabt hätte (Abb. 3.9). Als $t = 0$ wird in dieser Studie die *appearance time* gewählt: der Zeitpunkt, an dem nach ICG-Injektion das erste Mal hierdurch verursachte per *CLM III* gemessene Hämatokritmessungen sichtbar sind. Als $H_{\text{CLM}}(t_0)$ wird der Durchschnittshämatokrit im Zeitraum von 2 Minuten bis eine Minute vor *appearance time* gewählt. Die Regressionsanalyse wird mit Wertepaaren innerhalb 2 min bis 6 min nach *appearance time* durchgeführt.

Das Blutvolumen errechnet sich mit dem so ermittelten $C(0)$ nach Gl. 3.9 und der Masse $m = 20\text{mg}$:

$$C(0) = \frac{20\text{mg}}{V_P} \iff V_P = \frac{20\text{mg}}{C(0)} \quad (3.24)$$

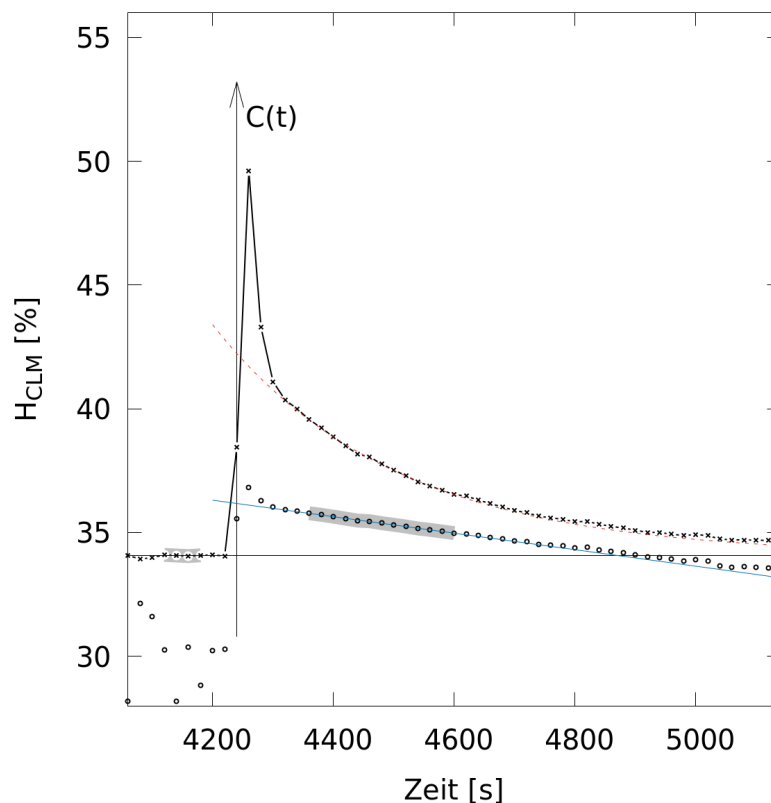


Abbildung 3.9: Bestimmung des Plasmavolumens: Extrapolation der ICG-Konzentration auf die *appearance time*, Beispiel anhand Messreihe 20, Dilutionsmessung 2
 H_{CLM} : per *CLM III* gemessener Hämatokrit, grau hinterlegter Bereich links: Bestimmungsbereich Basis-Hämatokrit, horizontale Linie: Basis-Hämatokrit, Achse $C(t)$: ICG-Konzentration als Transformation von Hämatokritachse und Basis-Hämatokrit (Gl. 3.6), x: Hämatokritmessungen per *CLM III* bzw. ICG-Konzentration bezogen auf Achse $C(t)$, o: $\ln(C)$ (Bezugsachse $C(t)$), durchgezogene blaue Linie: Regressionsgerade durch $[t, \ln(C)]$, unterbrochene rote Linie: exponentieller *fit* an den gemessenen Hämatokrit bzw an die ICG-Konzentration, grau hinterlegter Bereich Mitte: Punkte, die in die Regressionsanalyse einfließen

3.7 Datenaufbereitung, Eingangsdaten

Alle erhobenen Daten wurden in die oben beschriebene Datenbank eingepflegt. Ausnahme bildeten die durch das *CLM III* erhaltenen Messdaten: Diese wurden jeweils in zwei Textdateien (Größe: bis 20 000 bzw. 1 000 Datensätze) abgelegt.

Zur Berechnung der Plasmavolumina wie oben beschrieben wurden relevante Daten aus der Datenbank und die jeweiligen Ausgabedateien des *CLM III* mittels *MS Access 2010* exportiert und in *MS Excel 2010* zusammengeführt und ausgewertet. Ausgabe dieser Berechnungen, zusammengeführt mit erhobenen Dialyse- und PatientInnen-daten bilden die Datenbasis, anhand der die in dieser Arbeit beschriebenen Analysen durchgeführt wurden.

Da hierfür das Statistikprogramm *R* [27] und das Plot-Programm *gnuplot* [28] zum Einsatz kamen, wurden Plasmavolumens- und Dialysedaten sowie PatientInnen-daten zunächst in eine *sqlite*-Datenbank importiert bzw. als csv-Datei exportiert und dann mit genannten Programmen analysiert bzw. Ausgabedaten grafisch dargestellt.

3.8 Statistische Auswertung

Aggregierte Werte werden grundsätzlich als arithmetisches Mittel \pm Standardabweichung (SD) angegeben. Ausnahme hiervon bildet die Darstellung im sog. *Bland-Altman-Diagramm*: Hier werden die Grenzen als arithmetisches Mittel ± 1.96 SD angegeben, so dass im Durchschnitt 95% aller Punkte in den angegebenen Bereich fallen.

In den in dieser Arbeit verwendeten *Boxplots* wird das mittlere 50%-Quantil (obere Grenze des ersten Quartils bis untere Grenze des letzten Quartils) als „Box“ dargestellt, der Median als Querlinie in dieser Box. Die sog. *Whiskers* stellen in der hier verwendeten Darstellung den Bereich der mittleren 90% der Werte dar (Median $\pm 45\%$ aller Werte). *Ausreißer* außerhalb dieses Bereichs werden als einzelne Punkte eingezeichnet.

Die Vergleichbarkeit der Gruppen „DiabetikerInnen“ und „nicht-DiabetikerInnen“ bezüglich ihrer Verteilung auf die Geschlechter wird per *Fisher's Exact Test* ermittelt.

Die Darstellung von Messwerten zweier Methoden im *Bland-Altman-Diagramm* dient zum Vergleich auf Gleichwertigkeit dieser Methoden. In dem hierzu von Bland und Altman veröffentlichten Artikel im *Lancet* 1986 [29] wird argumentiert, dass zwei Messmethoden, die dasselbe messen, erwartungsgemäß eine enge Korrelation haben, diese Korrelation aber für die klinische Beurteilung nicht ausreicht. Daher werden

in dieser Darstellungsart die Differenz zweier Methoden gegen ihren Mittelwert aufgetragen.

Die Darstellung der absoluten Plasmavolumina erfolgt als Boxplot zur grafischen Übersichtsdarstellung.

Der Vergleich von Mittelwerten zu verschiedenen Zeitpunkten erfolgt per *Student-t-Test für verbundene Stichproben* und im Falle der nicht erfüllten Voraussetzung von Normalverteilung der Messwerte per *Wilcoxon Signed Rank Test*. Auf Normalverteilung wird per *Shapiro-Test* getestet. H_0 : Die Variable blieb während der Dialyse gleich oder hat zugenommen. H_1 : Die Variable hat abgenommen. H_0 wird ab einem Signifikanzniveau von 0.05 verworfen.

Zur Analyse vermuteter Abhängigkeiten wird ein *Trend* mittels Regressionsanalyse (Methode der kleinsten Quadrate) ermittelt.

Der Vergleich des *relativen Refillings* zwischen DiabetikerInnen und nicht-DiabetikerInnen erfolgt grafisch mittels *Boxplot*.

Die Analyse einer Abhängigkeit zwischen ultrafiltriertem Volumen und relativem *Refilling* wird grafisch anhand eines *Scatterplots* durchgeführt.

Alle Analysen werden mittels Statistiksoftware *R* [27] oder *gnuplot* [28] durchgeführt, zur grafischen Datenpräsentation wird *gnuplot* verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 PatientInnenkollektiv

Es wurden Daten von 12 PatientInnen zur Analyse herangezogen (6 weiblich). Von ursprünglich 14 rekrutierten PatientInnen (M:F 7:7) war ein Patient bezüglich der vorgegebenen Essensrestriktion nicht kooperativ und eine Patientin beidseitig beinamputiert. Aufgrund deutlich unterschiedlicher Messergebnisse im Vergleich zum restlichen Kollektiv bzw. fehlender Anwendbarkeit standardisierter anthropometrischer Berechnungsmethoden wurden diese beiden PatientInnen im Nachhinein von der Analyse ausgeschlossen. Die Auswahl der Studientage erfolgte wie in 3.3 beschrieben, Ausnahme hiervon bildete eine Patientin, deren Erstmessung aufgrund fehlerhafter Werte zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt werden musste.

Unter den 12 verbleibenden PatientInnen befanden sich 4 Diabetikerinnen (33,3 %) und ein Diabetiker (8,33 %). Die relative Anzahl von DiabetikerInnen zwischen männlichen und weiblichen ProbandInnen war vergleichbar (Fisher's exact $p = 0,24$ siehe Anhang 6.1.1). Anthropometrische Daten des PatientInnenkollektivs finden sich in Tabelle 4.1.

Gruppe	n	Alter [y]	Gewicht [kg]	Größe [cm]	BMI [kg/m ²]	K [m ²]
Männer	6	52 ± 13	83 ± 11	176 ± 7	26.7 ± 4.1	1.99 ± 0.41
Frauen	6	56 ± 17	61 ± 8	165 ± 6	22.6 ± 2.1	1.67 ± 0.12
DM_y	5	61 ± 14	63 ± 10	165 ± 10	23.1 ± 4.2	1.70 ± 0.19
DM_n	7	49 ± 14	78 ± 15	174 ± 7	25.7 ± 4.6	1.92 ± 0.12
Gesamt	12	54 ± 15	72 ± 15	179 ± 9	24.7 ± 4.4	1.83 ± 0.21

Tabelle 4.1: Anthropometrische Daten des PatientInnenkollektivs

DM_y DiabetikerInnen, DM_n nicht-DiabetikerInnen, n Anzahl, BMI Bodymassindex, K Körperoberfläche. Angaben als Arithmetisches Mittel ± Standardabweichung

4.2 Hämatokritbestimmung

Zu jeder Plasmavolumensbestimmung wurde auch der Hämatokrit mit unterschiedlichen Methoden ermittelt. Die Bestimmung des Hämatokrits erfolgte über die Be-

stimmung des *packed cell volume* nach Wintrobe [5], per *Cobas b 221* und per *CLM III* (Kapitel 3.2). So wurden insgesamt über 340 Messpunkte erhalten, die jeweils zu einem Drittel (abzüglich verworfener Messungen) auf die drei Methoden verteilt sind.

4.2.1 Vergleich Labor- und Referenzmethode

Der Vergleich der Hämatokritmessung per *Cobas b 221* mit der Methode nach Wintrobe zeigt einen *bias* von -1.61 ± 1.98 Prozentpunkten ($MW \pm 1.96SD$) unabhängig vom Messbereich (siehe Abb. 4.1). Es wurden von analysierten Blutproben also mit der Methode nach Wintrobe ein im Durchschnitt um 1.61 Prozentpunkte höherer Hämatokrit gemessen. Eine Abhängigkeit zum Mittelwert des ermittelten Hämatokrits der Messmethoden lässt sich nicht erkennen, das Auftragen der Werte in einem *Bland-Altman-Diagramm* verdeutlicht dies. Beim Auftragen der Unterschiede der Messmethoden als Zeitreihe lassen sich keine Muster erkennen. 2 Ausreißer in der dritten und vierten aufgetragenen Hämatokritmessung, die sich auch in der Analyse Wintrobe – *CLM III* finden (siehe nächste Analyse), lassen auf eine Fehlmessung per Zentrifuge schließen.

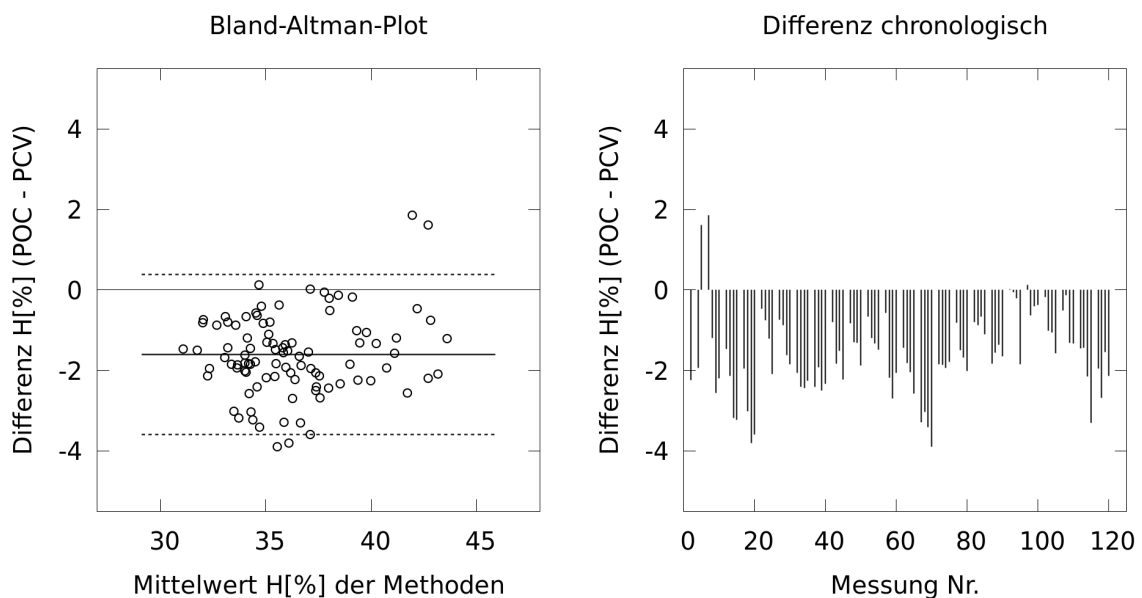


Abbildung 4.1: Hämatokrit: Vergleich der Messung per *Cobas b 221* (POC) mit der Methode nach Wintrobe (PCV) und Zeitreihendarstellung. Durchgezogene Linie Mittelwert gestrichelte Linie $\pm 1.96 \times$ Standardabweichung

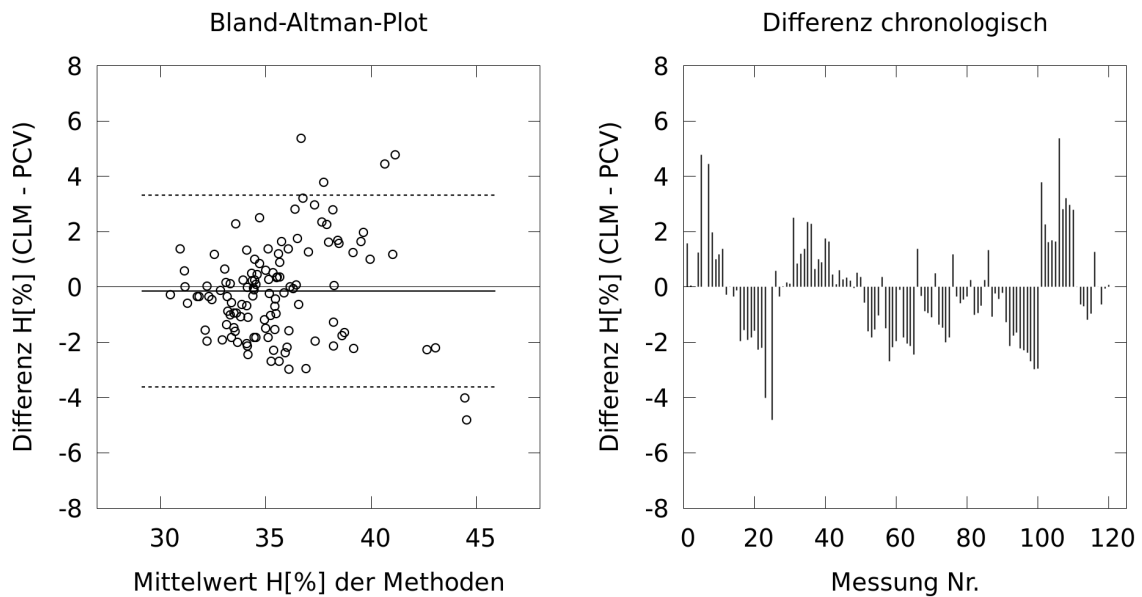


Abbildung 4.2: Vergleich der Hämatokritmessungen per *CLM III* (CLM) mit der Methode nach Wintrobe (PCV): *Bland-Altman-Diagramm* und *Zeitreihendarstellung*. Durchgezogene Linie: Mittelwert; gestrichelte Linie $\pm 1.96 \times$ Standardabweichung

4.2.2 Vergleich CLM III und Referenzmethode

Der Vergleich der Hämatokritmessung per *CLM III* mit der Referenzmethode nach Wintrobe zeigt im *Bland-Altman-Plot* eine deutliche Varianz, jedoch einen kleinen *bias* mit -0.15 ± 3.47 Prozentpunkte (MW $\pm 1.96SD$, Abb. 4.1). In der *Zeitreihendarstellung* findet sich ein teils zufälliges Bild der Unterschiede und teilweise eine augenscheinliche Blockbildung, innerhalb derer einige Messungen hintereinander eine Methode regelmäßig höher gemessen hat. Eine Abhängigkeit zum Messbereich kann nicht erkannt werden.

4.3 Veränderung des Plasmavolumens

Das absolute Plasmavolumen V_P wurde wie in den Methoden beschrieben zu den Zeitpunkten $t = 1, 2, 3, 4$ per Indikator dilution ermittelt und außerdem mithilfe der Analyse der Hämatokritveränderung zwischen Dialysestart ($t = 0$) und $t = 1$ auf den Zeitpunkt $t = 0$ extrapoliert. Im *Boxplot* zeigt sich bei breitem Interquartilsabstand eine stetige Abnahme des medianen Plasmavolumens (Abb. 4.3).

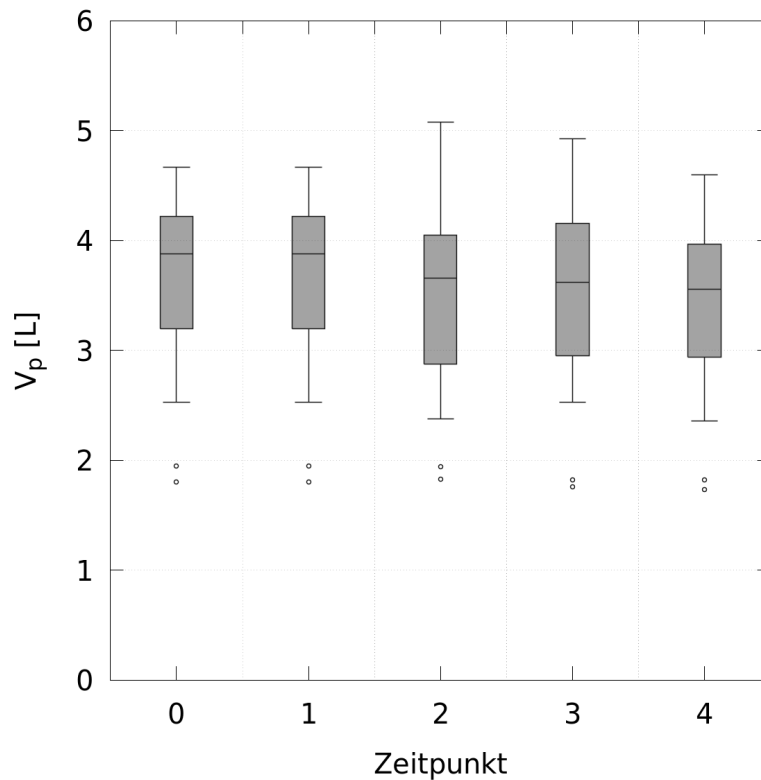


Abbildung 4.3: Veränderung des absoluten Plasmavolumens V_p zu den Messzeitpunkten: PatientInnen aggregiert
 Zeitpunkt 0: auf Dialysebeginn mittels Hämatokritveränderung extrapoliertes Plasmavolumen, Zeitpunkte 1,2,3,4: Dilutionsmessung 1,2,3,4

Im Folgenden soll das Plasmavolumen der ersten Indikatorerdilution ($t = 1$) mit der letzten ($t = 4$) innerhalb einer Dialysebehandlung verglichen werden. Hierbei wird auch nach diabetischem Status aufgeschlüsselt. Besonders im Fokus soll das relative Plasmavolumen V_p liegen, das die relative Abweichung vom individuell zu erwartenden Wert angibt und dadurch auch Individuen unterschiedlicher Konstitution vergleichbar macht. (siehe hierzu auch Kap. 2.5)

Tabellen 4.2 und 4.3 zeigen eine durchschnittliche Volumensüberladung zu beiden Messzeitpunkten (V_B^* und $V_p^* > 1$) mit Abnahme des durchschnittlichen Volumens zwischen den Messzeitpunkten 1 und 4 in jeder Aufschlüsselung. Eine statistisch signifikante Abnahme zeigte sich dabei weder in den nach diabetischem Status aufgeschlüsselten Kohorten noch im gesamten Studienkollektiv (einseitiger t-Test bzw. in der Gruppe der nicht-DiabetikerInnen einseitiger Wilcoxon-Test bei fehlender Normalverteilung; detaillierte Statistik siehe Anhang 6.1.2).

Gruppe	n	H_{POC}	V_{B}	$V_{\text{B,Nadl}}$	V_{P}	$V_{\text{P,Nadl}}$	V_{B}^*	V_{P}^*
DM_n	14	34.9 ± 1.7	6.281 ± 0.753	4.947 ± 0.719	4.091 ± 0.416	3.389 ± 0.408	1.28 ± 0.15	1.22 ± 0.15
DM_y	10	37.4 ± 3.6	4.701 ± 1.161	3.99 ± 0.739	3.032 ± 0.817	2.663 ± 0.595	1.18 ± 0.22	1.14 ± 0.21
Gesamt	24	35.9 ± 2.9	5.623 ± 1.217	4.548 ± 0.859	3.650 ± 0.802	3.086 ± 0.635	1.24 ± 0.19	1.19 ± 0.18

Tabelle 4.2: Volumensdaten, 1. ICG-Injektion

Gruppe	n	H_{POC}	V_{B}	$V_{\text{B,Nadl}}$	V_{P}	$V_{\text{P,Nadl}}$	V_{B}^*	V_{P}^*
DM_n	14	37.4 ± 1.7	5.946 ± 0.854	4.947 ± 0.719	3.791 ± 0.487	3.218 ± 0.468	1.21 ± 0.15	1.17 ± 0.14
DM_y	10	39.9 ± 3.5	4.553 ± 1.134	3.990 ± 0.739	2.856 ± 0.788	2.572 ± 0.586	1.14 ± 0.19	1.11 ± 0.19
Gesamt	24	38.4 ± 2.7	5.365 ± 1.186	4.548 ± 0.859	3.401 ± 0.773	2.986 ± 0.620	1.18 ± 0.17	1.14 ± 0.16

Tabelle 4.3: Volumensdaten, 4. ICG-Injektion

n Anzahl der Messungen

H_{POC} Hämatokrit, gemessen per *Cobas b 221*

V_{B} Blutvolumen

V_{P} Plasmavolumen

$V_{\text{B,Nadl}}$ Geschätztes Blutvolumen nach der Nadler-Formel

$V_{\text{P,Nadl}}$ Geschätztes Plasmavolumen, berechnet mittels H_{POC} zum jeweiligen Zeitpunkt und Nadler-Formel

V_{B}^* Blutvolumen, normiert auf $V_{\text{B,Nadl}}$ zum jeweiligen Zeitpunkt

V_{P}^* Blutvolumen, normiert auf $V_{\text{P,Nadl}}$ zum jeweiligen Zeitpunkt

DM_n Nicht-DiabetikerInnen

DM_y DiabetikerInnen

Im Folgenden wird beispielhaft gezeigt, wie mittels graphischer Analyse in einem unbekanntem Datenset Zusammenhänge sichtbar werden. Es wird zunächst der Durchschnitt der Hämatokritwerte $\bar{H}_{\text{POC}} = \sum_{t=1}^4 H_{\text{POC},t}/4$ für jede betrachtete Dialysebehandlung gebildet und mit nach Gleichung (2.15) das relative Plasmavolumen V_{P}^* errechnet:

$$V_{\text{P}}^*(t) = \frac{V_{\text{P,ICG}}(t)}{V_{\text{B}} \times (1 - (\bar{H}_{\text{POC}} \times F_{\text{Cell}}))} \quad (4.1)$$

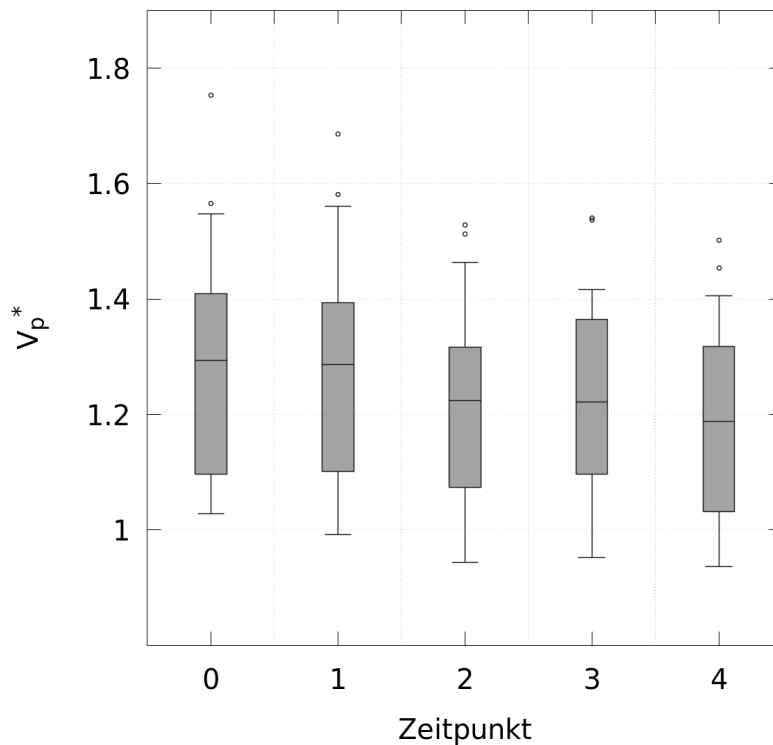


Abbildung 4.4: Darstellung der aggregierten relativen Plasmavolumina (V_{P}^* , normiert auf per Durchschnittshämatokrit \bar{H}_{POC} errechnetem *Standardplasmavolumen*) aller PatientInnen nach Bestimmungszeitpunkten
 Zeitpunkt 0: auf Dialysebeginn mittels Hämatokritveränderung extrapoliertes Plasmavolumen, Zeitpunkte 1,2,3,4: Dilutionsmessung 1,2,3,4

In der Boxplot-Darstellung der (auf ein über die Zeitpunkte konstantes *Standardplasmavolumen*) genormten Plasmavolumina V_p^* zeigt sich auch hier eine Abnahme zwischen den Zeitpunkten $t = 1$ und $t = 4$, jedoch findet sich zum Zeitpunkt der 2. ICG-Dilution (also in der Messung nach der ersten Stunde der Dialyse, einer Zeit in der Lageveränderungen am häufigsten sind) ein verstärkter Abfall (Abb. 4.3). Schlüsselte man die aggregierten relativen Volumina nach diabetischem Status auf, so sieht man, dass der Median der Volumensüberladung zu jedem Zeitpunkt in der Gruppe der nicht-DiabetikerInnen größer war (Abb. 4.5).

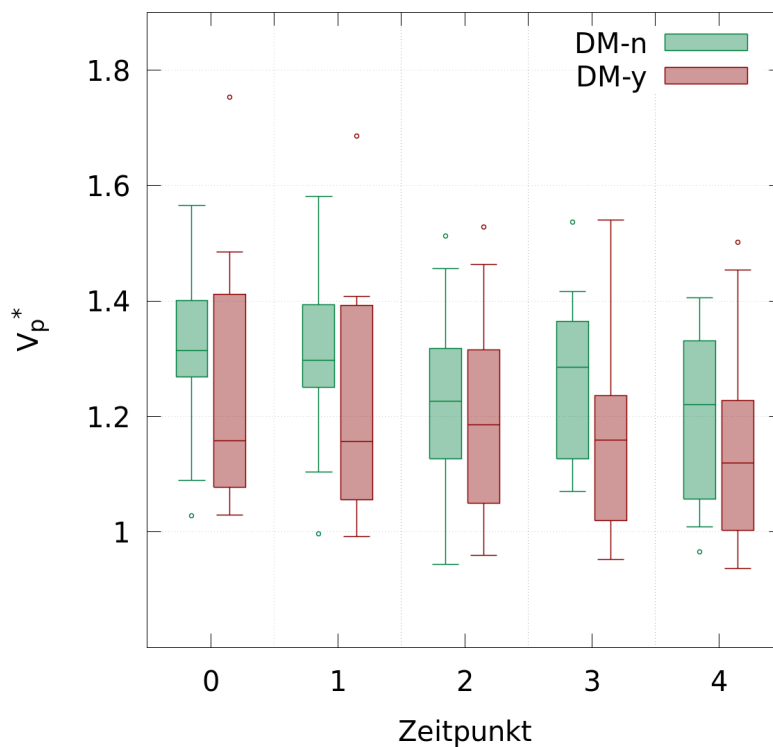


Abbildung 4.5: Darstellung der nach diabetischem Status aggregierten relativen Plasmavolumina V_p^* (normiert mittels Durchschnittshämatokrit) nach Bestimmungszeitpunkten. DM-n: nicht-diabetische PatientInnen, DM-y: diabetische PatientInnen

4.4 Refilling

4.4.1 Absolutes Refilling

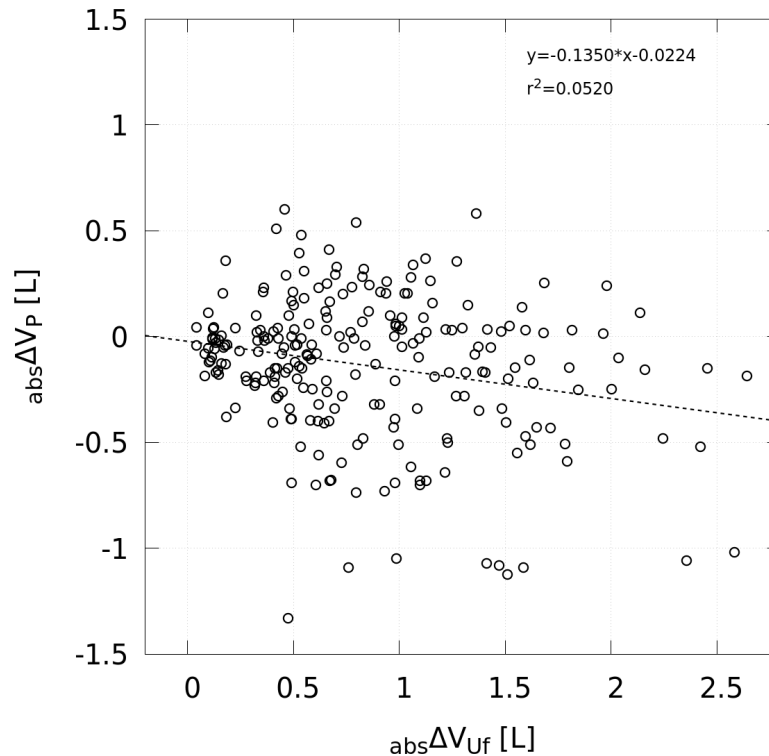


Abbildung 4.6: Scatterplot – absolute Änderung des Plasmavolumens ($_{\text{abs}}\Delta V_{\text{P}}$) gegen absolute Änderung des Ultrafiltrationsvolumens ($_{\text{abs}}\Delta V_{\text{Uf}}$)

Das *Refilling* kann in Theorie für beliebige Messintervalle, für die eine Plasmavolumenänderung berechnet werden kann, nach Gleichung 2.21 bestimmt werden. Bei 5 Plasmavolumenbestimmungen sind somit 10 verschiedene Intervallkombinationen möglich für die gilt, dass der Vergleichspunkt zeitlich nach dem Bezugspunkt liegt: $10 = 4 + 3 + 2 + 1$: Zeitpunkt 0 kann mit Zeitpunkt 1,2,3,4 verglichen werden, Zeitpunkt 1 mit 2,3,4 usw.

Trägt man zunächst die ermittelten Kombinationen von $_{\text{abs}}\Delta V_{\text{P}}$ gegen $_{\text{abs}}\Delta V_{\text{Uf}}$ in einem Scatterplot auf (Abb. 4.6), so sieht man im Bereich kleiner Volumensänderungen eine Häufung bedingt durch die kombinatorisch erzeugten Messpaare mit kurzem Ultrafiltrationsintervall.

Die Regressionsanalyse zeigt einen negativen Zusammenhang zwischen $_{\text{abs}}\Delta V_{\text{Uf}}$ und $_{\text{abs}}\Delta V_{\text{P}}$: pro entzogenem Liter Ultrafiltrat verringert sich das Plasmavolumen um durchschnittlich 135 mL. Der Zusammenhang ist schwach und da in dieser

Darstellung je 10 Punkte voneinander abhängig sind, überschätzt das angegebene r^2 die Korrelation.

Berechnet man nun aus diesen Werten das absolute *Refilling-Volumen* nach $V_{R,P} = \text{abs}\Delta V_P + \text{abs}\Delta V_{Uf}$ (2.21) und trägt diese Werte gegen die Änderung des Ultrafiltrationsvolumens auf, so erhält man das in Abb. 4.7 gezeigte Scatterplot. Eine Regressionsanalyse zeigt, dass im Durchschnitt pro entzogenem Liter Ultrafiltrat 865 mL durch Gewebsflüssigkeit ersetzt wurden (*relatives Refilling*).

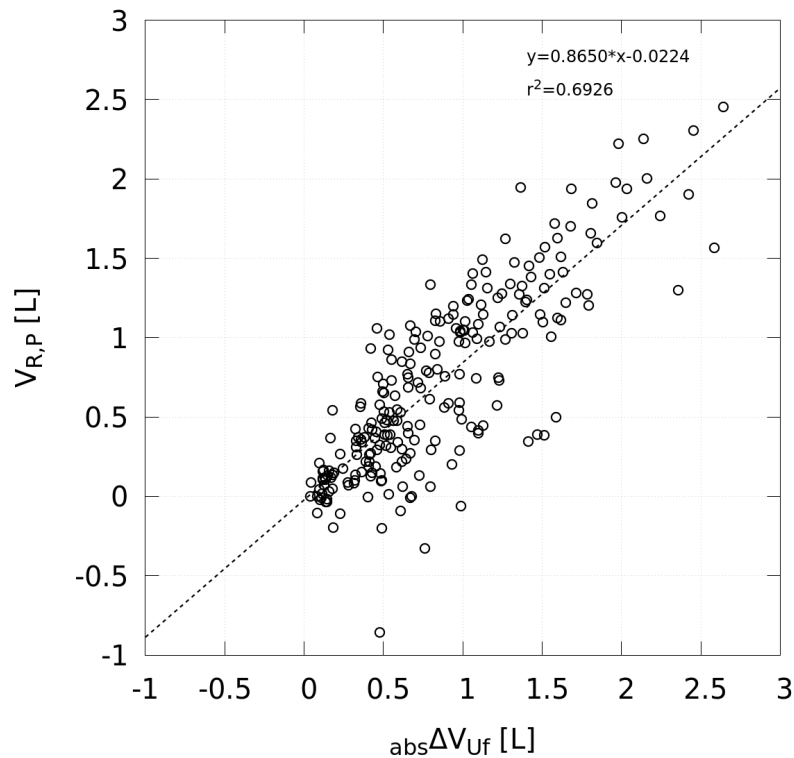


Abbildung 4.7: Absolutes *Refilling-Volumen* $V_{R,P}$ in Abhängigkeit des in dieser Zeit entzogenen Ultrafiltrationsvolumens $\text{abs}\Delta V_{Uf}$

Die Aufschlüsselung dieser Darstellung nach PatientInnen mit diabetischer und nicht-diabetischer Stoffwechsellage ergibt leichte Unterschiede im durch Regressionsanalyse ermittelten relativen Refilling und eine augenscheinlich geringere Streuung bei PatientInnen mit diabetischer Stoffwechsellage bei jedoch aufgrund der Auswahl der Punkte durch Rekombination nicht verwertbarem r^2 .

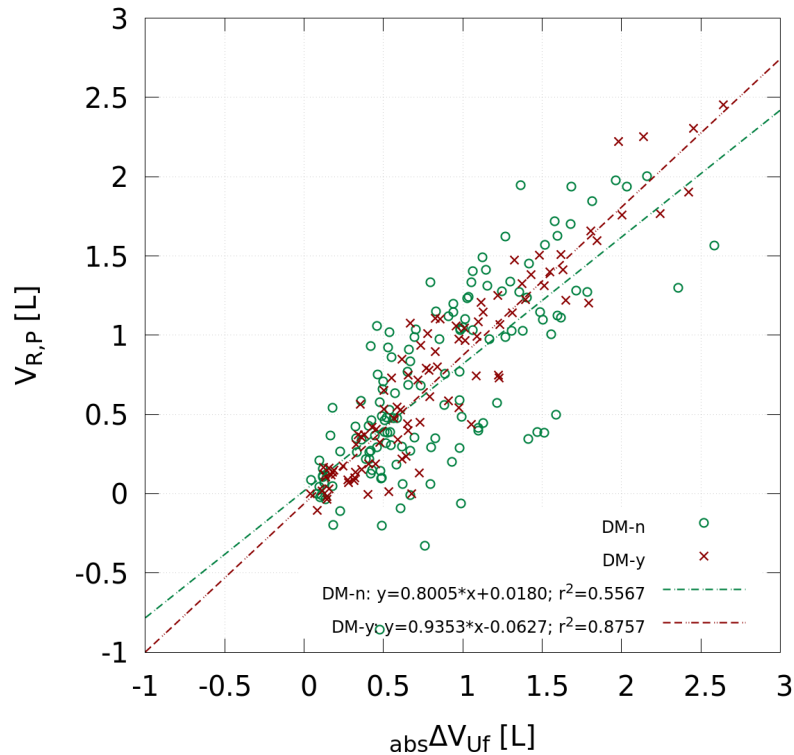


Abbildung 4.8: Absolutes *Refilling* $V_{R,P}$ aufgetragen gegen $\text{abs}\Delta V_{Uf}$ (Ultrafiltrationsvolumen im Betrachteten Zeitraum), unterschieden nach diabetischer Stoffwechsellage. DM-n: nicht-DiabetikerInnen, DM-y: DiabetikerInnen

4.4.2 Relatives Refilling

Das *relative Refilling* $V_{R,P}^*$ ist die Menge an durch *Refilling* ersetzttem Plasmawasser pro Einheit entzogenem Ultrafiltrat. Der Durchschnitt des in dieser Studie erfolgten *relativen Refillings* wird durch die Steigung der Regressionsgeraden in den vorangegangenen Plots 4.7 und 4.8 beschrieben.

Im Boxplot (Abb. 4.9) sieht man die Aggregation der ermittelten Werte, die die Kombination aller Zeitpunkte innerhalb einer Messreihe darstellen, aufgeschlüsselt nach diabetischem Status.

Zur weiteren Analyse soll nun das *Refilling* zwischen den Zeitpunkten 1 und 4 der Plasmavolumensbestimmung durch Indikatorerdilution verglichen werden. Tabelle 4.4 gibt einen Überblick über die ermittelten Werte. Der Vergleich des Mittelwertes der *Refilling*-Daten ergibt ein um 5.1% höher gemessenes relatives *Refilling* bei Versuchen mit DiabetikerInnen als bei denen mit nicht-DiabetikerInnen: Ein Unterschied des durchschnittlichen relativen *Refillings* zwischen den beiden Gruppen kann nicht angenommen werden

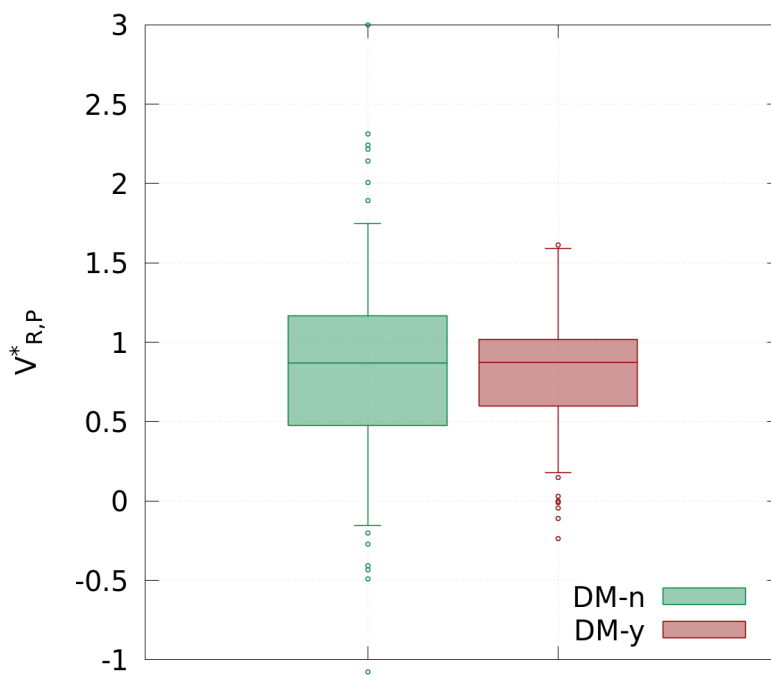


Abbildung 4.9: Boxplot relatives *Refilling* bei Kombination aller Messzeitpunkte, aufgeschlüsselt nach nicht-DiabetikerInnen und DiabetikerInnen.

Gruppe	n	$V_P(1)$	$V_P(4)$	$V_{UF}(1)$	$V_{UF}(4)$	$\text{abs}\Delta V_P$	$\text{abs}\Delta V_{UF}$	$V_{R,P}^*$
DM_n	14	4.091 ± 0.416	3.791 ± 0.487	0.120 ± 0.042	1.595 ± 0.476	-0.301 ± 0.451	1.475 ± 0.436	0.803 ± 0.284
DM_y	10	3.032 ± 0.817	2.856 ± 0.788	0.143 ± 0.057	1.663 ± 0.669	-0.176 ± 0.232	1.521 ± 0.633	0.844 ± 0.284
Gesamt	24	3.650 ± 0.802	3.401 ± 0.773	0.129 ± 0.049	1.623 ± 0.550	-0.249 ± 0.347	1.494 ± 0.515	0.820 ± 0.251

Tabelle 4.4: Refilling zwischen Dilutionsmessung 1 und 4

- n Anzahl der Messungen
- $V_P(t)$ Absolutes Plasmavolumen zum jeweiligen Zeitpunkt
- $V_{UF}(t)$ Absolutes Ultrafiltrationsvolumen zum jeweiligen Zeitpunkt
- $\text{abs}\Delta V_P$ Absolute Plasmavolumensänderung zwischen Dilutionsmessung 1 und 4
- $\text{abs}\Delta V_{UF}$ Absolutes ultrafiltriertes Volumen zwischen Dilutionsmessung 1 und 4
- $V_{R,P}^*$ *relatives Refilling* zwischen Dilutionsmessung 1 und 4
- DM_n Nicht-DiabetikerInnen
- DM_y DiabetikerInnen

4.4.3 Relatives Refilling in Abhängigkeit des Ultrafiltrationsvolumens

Schließlich werden die Veränderung des *Refillings* in Abhängigkeit des zwischen zwei Messpunkten entzogenen Ultrafiltrats als Ansatz für weitere Forschung untersucht.

Trägt man die kombinatorisch ermittelten Werte gegen die zugehörige Änderung des Ultrafiltrationsvolumens zum Messzeitpunkt auf, so lässt sich in dieser Art der Analyse keine Abhängigkeit der Parameter feststellen, wohl aber eine breite Streuung bei sehr geringen Ultrafiltrationsmengen (Abb. 4.11). Mit zunehmendem Beobachtungsintervall (und Ultrafiltrationsvolumen) nimmt die Streuung deutlich ab. Im Bereich gängiger Ultrafiltrationsvolumina von 2 L beträgt das relative *Refilling* in dieser Analyse ungefähr 1, zwischen 1.5 und 2 L knapp 1 – das heißt, dass fast die gesamte durch Ultrafiltration entzogene Flüssigkeitsmenge durch vaskuläre Reabsorption von interstitieller Flüssigkeit ersetzt wurde.

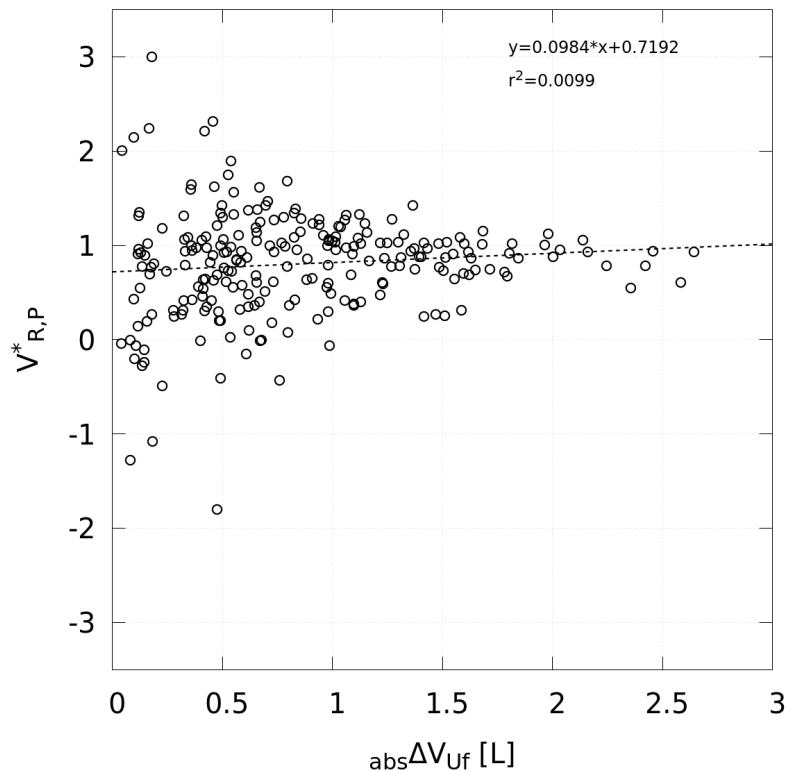


Abbildung 4.10: Scatterplot – relatives Refilling $V_{R,P}^*$ gegen $\text{abs}\Delta V_{Uf}$

Eine Unterscheidung in nicht-DiabetikerInnen und DiabetikerInnen zeigt wie auch im Boxplot eine geringere Streuung in der Gruppe der DiabetikerInnen, jedoch auch hier nur ein kleines r^2 trotz Verbundenheit der Stichproben (Abb. 4.11).

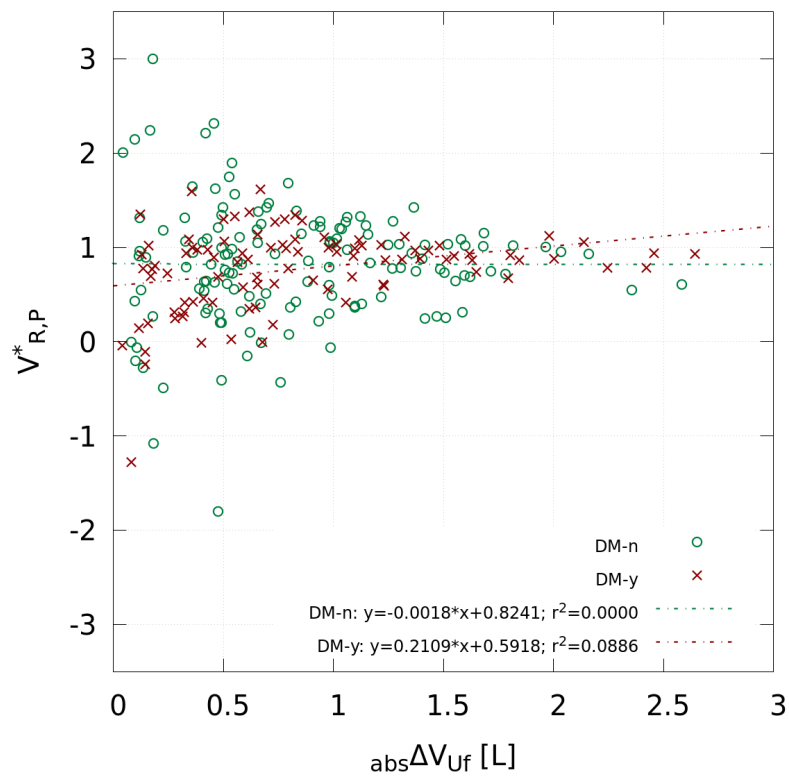


Abbildung 4.11: Scatterplot – $V_{R,P}^*$ gegen $\text{abs}\Delta V_{Uf}$ aufgeschlüsselt nach diabetischer Stoffwechselslage DM-n: nicht-DiabetikerInnen, DM-y: DiabetikerInnen

5 Diskussion

Die vorliegende Arbeit hatte vier wesentliche Ziele: Die Bereitstellung eines Systems zur geordneten Datenerfassung, die Ermittlung von Unterschieden verschiedener Hämatokrit-Messmethoden, die Betrachtung der durch die *ICG-Methode* ermittelten Plasmavolumensveränderungen und die Analyse der hieraus gewonnenen Daten bezüglich *Refilling*. Die erstellte Datenbank erwies sich hierbei als suffizientes und hilfreiches System für Datenspeicherung und -auswahl zur Analyse. Der Vergleich der Hämatokritdaten liefert keine Reproduzierbarkeit der berichteten starken regelmäßigen Diskrepanzen zwischen *CLM III* und einer Referenzmethode. Das im klinischen Allteag zur Hämatokritmessung verwendete Gerät *Cobas b 221* zeigt einen zu erwartenden *bias* zur Referenzmethode bei fehlender Korrektur für *trapped plasma* bei geringer Streuung. Das eingesetzte Verfahren zur Plasmavolumensbestimmung liefert bei Betrachtung der Mittelwerte glaubhafte Ergebnisse, ist jedoch für Aussagen über die einzelnen PatientInnen aufgrund starker Streuung in dieser Form noch nicht einsatzfähig. Bei großer Kohorte sind konsistentere Ergebnisse zu erwarten, jedoch müsste gleichzeitig mit einer Referenzmethode geprüft werden, ob systematische Fehler vorliegen. In der aktuellen Literatur beschriebene Werte für das *relative Refilling* liegen unter dem mit dieser Methode ermittelten Wert, jedoch innerhalb der weiten Fehlergrenzen.

5.1 Datenbank

Eine zentrale Aufgabe war die Erstellung einer relationalen Datenbank zur Erfassung der gesammelten Daten. Ein wesentlicher Punkt, der zum Entschluss des Einsatzes eines Datenbanksystems führte, war die Abhängigkeit vieler Werte in Baumstruktur zueinander. So waren PatientInnen Grundeigenschaften zugeordnet wie Alter und Geschlecht, das für beide Messtage als konstant angenommene Gewicht, aber auch allgemeine Daten wie Vorerkrankungen und Medikation. Zu allen PatientInnen sind nun je zwei Studien zugeordnet, die selbst Eigenschaften besitzen wie z.B. Datum der Durchführung und gesamtes Ultrafiltrationsvolumen. Zu jeder dieser Studien wurden Dilutionsmessungen durchgeführt, denen wiederum Hämatokritmessungen zugeordnet sind.

Der Vorteil eines relationalen Datenbanksystems ist hierbei, dass ein Wert nur seiner jeweiligen übergeordneten Gruppe zugeordnet werden muss und alle weiteren Eigenschaften der höheren Instanzen *erbt*: Die Dilutionsmessung gehört zu einer Dilutionsmessreihe, diese zu einem Patienten oder einer Patientin und ist hiermit z.B. mit der Eigenschaft „Gewicht“ des Patienten oder der Patientin verbunden. Das wurde sich zunutze gemacht, als zu den jeweiligen Dilutionsmessungen das relative Plasmavolumen ermittelt wurde: Aufgrund der Zugehörigkeit über den „Umweg“ der Dilutionsreihe konnte jeder Plasmavolumensmessung Gewicht und Körpergröße zugeordnet werden, aus denen zusammen mit dem der Dilutionsmessung zugeordneten Hämatokrit per *Cobas b 221* ein Standardplasmavolumen errechnet werden konnte. Ein weiterer Vorteil, den eine Datenbank bietet, ist die einfache Auswahl von Daten nach unterschiedlichen Kriterien. Anhang 6.1.1 veranschaulicht hier, wie PatientInnen mit der Eigenschaft „nicht ausgeschlossen“ ausgewählt wurden und sich in der Auswahl gleichzeitig nur auf bestimmte Attribute eingeschränkt wurde (hier „Geschlecht“ und „diabetischer Status“).

Die entwickelte Datenbank ist sicher nicht vollständig im Einklang mit allgemeiner *best practice* professioneller Datenbankerstellung – so sind z. B. zu viele Redundanzen vorhanden – den an sie gestellten Ansprüchen genügte sie jedoch.

Die Einarbeitung in den Umgang mit Datenbanken ist im Selbststudium mühsam aber insbesondere mit Blick auf die zu erwartende Entwicklung, mit immer größeren Datenmengen, lohnend. Zu wünschen wäre hier ein größeres Angebot an Fortbildungsmöglichkeiten im Rahmen der medizinischen Ausbildung, um die Vorteile, die diese Fertigkeit mit sich bringt, nutzen zu können.

5.2 Analyse der Hämatokritdaten

Im Durchschnitt wies das untersuchte PatientInnenkollektiv einen per *Cobas b 221* gemessenen Hämatokrit von $37.2\% \pm 2.9$ auf: die männlichen Patienten hatten einen Hämatokrit von $36.0\% \pm 1.71$, die Patientinnen einen Hämatokrit von $38.3\% \pm 3.4$. Die männliche Kohorte lag damit unterhalb des Normalbereichs (40% – 52%), die weibliche Kohorte lag innerhalb des Normbereichs (37% – 47%) [30].

Der Vergleich der Hämatokritmessmethode nach *Wintrobe* mit den Ergebnissen des *Cobas b 221* zeigt einen durchgängigen *bias* von -1.61 Prozentpunkten. Das Blutgasanalysegerät maß regelmäßig um 1.61 Prozentpunkte niedriger. Wird Blut mikrozentrifugiert, verbleibt immer ein kleiner Teil Plasma innerhalb der Erythrozytensäule (sog. *trapped plasma*). Der Korrekturfaktor hierfür wird in der Literatur mit höchstens

2 Prozentpunkten angegeben [4] und lässt das in dieser Versuchsreihe ermittelte Ergebnis plausibel erscheinen.

Zwei offensichtliche Ausreißer zu Beginn der Studie sind hierbei der Handhabung der Blutproben geschuldet. Erst nach Bemerkungen der Diskrepanzen dieser zwei Messungen wurde genauestens darauf geachtet, die Proben vor Messung gründlich zu resuspendieren. Die Resuspendierung erfolgt dabei durch das Einbringen einer Luftblase in die Entnahmespritze und dem mehrfachen Drehen um die kurze Achse, so dass diese Luftblase in der Spritze hin- und herschwimmt und so sedimentierte Erythrozyten aufschwemmt. Ein einfacher Schwenktisch, wie auf der Dialysestation vorhanden, reicht hierbei im Regelfall nicht aus, die Sedimentation der Erythrozyten und die Trennung vom Plasma zu verhindern. Dies ist insbesondere dann von Bedeutung, wenn zwischen Probenentnahme und -analyse längere Zeit vergeht oder bei niedrigem Hämatokrit und erhöhter Blutkörperchengeschwindigkeit, was beides bei DialysepatientInnen häufig ist.

Dies verdeutlicht sehr gut, dass Laborwerte nicht nur Zahlen auf einem Zettel sind, sondern durch unterschiedliche, häufig auch immer noch manuelle Arbeiten voraussetzende, Methoden ermittelt werden. Mit teils unterschiedlicher Qualität. Wissen über die Methoden, die den verschiedenen Analysewerten zugrunde liegen, ist hiermit ein Vorteil in der Interpretation dieser Werte. Die in dieser Studie gemessenen Hämatokritdiskrepanzen bei Einhalten der Resuspendierung vor Probenanalyse wären in der klinischen Routine in dieser Höhe für die akute Behandlung nicht relevant gewesen, da insbesondere in den niedrigen Hämatokritbereichen die Streuung gering und somit ist eine Vergleichbarkeit der Methoden gegeben war.

Der Vergleich *CLM III* – *Wintrobe* zeigt eine durchschnittliche Vergleichbarkeit mit den per Mikrozentrifugation ermittelten Werten (*bias* -0.15 Prozentpunkte), jedoch eine größeren Streuung als der Vergleich zum Blutgasanalysegerät. Geht man davon aus, dass die mittels Mikrozentrifugation ermittelten Werte wegen der fehlenden Korrektur für *trapped plasma* tatsächlich zu hoch sind, so zeigt sich, dass auch der *CLM III* den Hämatokrit zu hoch schätzt. Aufgrund der biphasischen Eliminationskurve von Indocyaningrün mit zweiter (dosisabhängiger) Eliminationshalbwertszeit von 60-80 Minuten (Kap. 3.2.2) ist es denkbar, dass residuales ICG diese Überschätzung verursacht.

Zur weiteren Analyse auf Muster der Unterschiede zwischen der Methode nach *Wintrobe* und dem *CLM III* könnten die Hämatokritunterschiede zu den einzelnen Messpunkten miteinander verglichen werden. Die Speicherung der Rohdaten in einer Datenbank vereinfacht hierbei die Auswahl der Datenpunkte. In *Pseudocode* wäre dieser Prozess beispielhaft: „wähle aus Tabelle 'Hämatokritmessungen' diejenigen

Messungen aus, für die gilt 'gehört zu Dilutionsmessung 1' und zeige mir zu diesen die Werte H_{CLM} , H_{POC} und H_{PCV} " und analog für Dilution 2-4. Die so exportierten Tabellen können nun mittels Statistikanwendung oder grafisch analysiert werden.

Die berichtete starke durchgängige Diskrepanz zwischen *CLM III* und *Cobas b 221* hat sich in den durchgeführten Versuchen nicht reproduziert. Ein Zusammenhang mit oben beschriebenen Schwenktisch und lange Wartezeiten sowie unzureichendes Resuspendieren vor Analyse per *Cobas b 221* könnte die in der Routine beobachteten Diskrepanzen der Hämatokritwerte erklären. Abseits des Protokolls wurde aus Interesse eine nach Messung bis zum Versuchsende liegengelassene Probe nach Resuspendierung erneut untersucht und es ergaben sich nur marginalen Änderung des Hämatokrits (innerhalb der Toleranzgrenzen). Als Erkenntnis der durchgeführten Messungen kann man hieraus ziehen, dass eine konsequente Resuspendierung Falschmessungen vorbeugt und (anekdotisch), dass eine zeitweilige Sedimentierung durch Resuspendierung vollständig reversibel ist.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass verwendeten Methoden zur Hämatokritbestimmung für den klinischen Gebrauch vergleichbar gute Werte liefern. Die systematischen Unterschiede sind gering.

5.3 Plasmavolumen

Um Hinweise auf die Validität des Verfahrens der Blutvolumensbestimmung per ICG-Dilutionsmessung mit nichtinvasiver kontinuierlicher optischer Konzentrationsmessung zu erhalten, sollten absolute und relative gemessene Plasmavolumina sowie deren Zeitverlauf betrachtet werden.

Der Durchschnitt aller gemessenen Plasmavolumina beträgt $3.560L \pm 0.801$. Die Betrachtung des relativen Plasmavolumens zu allen Messzeitpunkten zeigt ein im Median um den Faktor 1.25 vergrößertes Plasmavolumen (arithmetisches Mittel 1.241 ± 0.18), verglichen mit einem per Formel von *Nadler und Hidalgo* unter Zuhilfenahme des PatientInnenhämatokrits abgeschätzten Volumens. Bei weiterer Analyse ergibt sich, dass in 91.6% der Bestimmungen des Plasmavolumens eine Volumensüberladung gemessen wurde.

Die ermittelte durchschnittliche Volumensexpansion der DialysepatientInnen entspricht den Erwartungen und spricht für die Validität der Methode. Die Streuung von $SD=18$ Prozentpunkten unter den Messungen um diesen erhöhten Mittelwert ist glaubhaft.

Die Betrachtung des Plasmavolumens im Zeitverlauf zeigt im Boxplot eine stetige Abnahme des medianen Plasmavolumens (Abb. 4.3). Die Streuung ist im Vergleich zur Abnahme groß, weswegen im nächsten Schritt das normierte relative Plasmavolumen im Boxplot dargestellt wurde. Auch im Boxplot der relativen Plasmavolumina sieht man eine breite Streuung mit jedoch nicht stetiger Abnahme des medianen relativen Plasmavolumens und zu allen Zeitpunkten und stärkerer Volumensexpansion der PatientInnen ohne Diabetes mellitus (Abb. 4.5).

Im Vergleich der ersten und letzten Indikator dilutionsmessung zu Beginn und am Ende der Behandlung ergibt sich bei Durchführung eines Student-t-Tests eine geringe und nicht signifikante Abnahme der relativen Plasmavolumina der PatientInnen (-3.15 Prozentpunkte ± 9.98).

Im Hinblick auf die Mittelwerte liefert die verwendete Methode glaubhafte Ergebnisse. Die fehlende statistische Signifikanz der ermittelten Abnahme des relativen Plasmavolumens zeigt jedoch, dass die Präzision (*precision*) für Aussagen zu EinzelpatientInnen nicht ausreicht. Bei großen PatientInnengruppen ist eine Verkleinerung dieses statistischen Fehlers möglich.

Um Aussagen über die Genauigkeit (*accuracy*) treffen zu können, müsste gleichzeitig mit einem etablierten Messverfahren gemessen und die Ergebnisse verglichen werden.

5.4 Refilling

Mithilfe des Vergleichs der absoluten Plasmavolumina mit den korrespondierenden Ultrafiltrationsvolumina werden Aussagen zum *Refilling* getroffen.

Für eine vorwiegend grafische Analyse wurden pro Dialysebehandlung aus 5 Zeitpunkten, zu denen das Plasmavolumen ermittelt wurde, das *Refilling* für alle möglichen Intervallkombinationen gebildet.

Bei Betrachten der Wertepaare zeigt sich eine Abhängigkeit des absoluten *Refilling*-Volumens zur durch Ultrafiltration in einer Zeitspanne entzogenen Flüssigkeit: Je mehr Flüssigkeit aus dem Plasma entzogen wird, desto mehr Flüssigkeit muss aus der Peripherie rekrutiert werden, um diese zumindest teilweise zu ersetzen. In der Regressionsanalyse der Punktwolke zeigt sich ein relatives *Refilling* von 80.1% für nicht-DiabetikerInnen und 93.5% für DiabetikerInnen. DiabetikerInnen haben hier also ein stabileres Plasmavolumen als nicht-DiabetikerInnen obwohl DiabetikerInnen ein höheres Risiko für intradialytische Komplikationen und Hypotonien aufweisen [31]. Diese könnte aber primär auf die diabetischen Neuropathie und die

dadurch beeinträchtigten Vasokonstriktion zurückzuführen sein, und weniger auf die Volämie. Das Bestimmtheitsmaß (r^2) als Indikator für die Stärke des Zusammenhangs ist aufgrund der Abhängigkeit der Punkte untereinander nicht aussagekräftig. Der Vergleich der Boxplots zeigt keinen Unterschied des relativen *Refillings* zwischen den Gruppen im Median, jedoch eine größere Streuung innerhalb der Gruppe der nicht-DiabetikerInnen. Das Auftragen der Werte des relativen *Refillings* gegen das Ultrafiltrationsvolumen lässt keinen Zusammenhang der Werte erkennen.

Diese grafische Analyse der Daten hat sowohl Vor-, als auch Nachteile: Durch die Generierung vieler Intervalle gehen keine Informationen im Gegensatz zur reinen Betrachtung des Intervalls Dialysestart–Dialyseende oder des reinen Vergleichs mit nur einem einzigen Bezugspunkt (z. B. beim Bilden von Intervallen nur mit Dialysestart als Beginn) verloren. Hierdurch bedingt ist eine Überrepräsentation kurzer Intervalle. Ein weiterer Punkt, der die Analyse ungenau macht, ist die Entscheidung, auch die auf Dialysestart extrapolierten Werte in die Analyse miteinzubeziehen (Bestimmungspunkt 0 in Abb. 4.3). Da diese lediglich 15 min von Dilutionsmessung 1 entfernt sind und als Basis für das berechnete Plasmavolumen ebendiese Dilutionsmessung haben, wird der Messung hierdurch mehr Gewicht gegeben als Dilutionsmessung 2, 3 und 4. Im vorliegenden Fall war das Ziel der grafischen Analyse, nach möglichen Hinweisen auf Zusammenhänge zu suchen und nicht, belastbare Ergebnisse zu generieren. Die durch Art der Generierung der Punkte bedingte Ungenauigkeit wurde dabei bewusst in Kauf genommen. Dies zeigt sich sehr gut in der Betrachtung eines möglichen Zusammenhangs zwischen Ultrafiltrationsvolumen und relativem *Refilling*: Das relative *Refilling* berechnet sich mit $V_{R,P}^* = \frac{\text{abs}\Delta V_P + \text{abs}\Delta V_{Uf}}{\text{abs}\Delta V_{Uf}}$ (Gl. 2.22). Je kleiner das betrachtete Zeitintervall, desto kleiner das entzogene Ultrafiltrationsvolumen $\text{abs}\Delta V_{Uf}$ und desto kleiner die Plasmavolumensänderung. Der fortgepflanzte Fehler einer Kennzahl, die sich durch Division zweier fehlerhafter Messmethoden errechnet, wird dabei umso größer, je kleiner die durcheinander dividierten Werte sind. Da die hier verwendete Methode zur Plasmavolumenmessung einem großen Rauschen unterliegt, ist mit einer sehr großen Variabilität der errechneten Werte für das relative *relative Refilling* in kurzen Intervallen mit geringer Ultrafiltrationsmenge zu rechnen.

Eine rein rechnerische Analyse des Intervalls zwischen erster und letzter Dilutionsmessung wird zur Generierung belastbarer Ergebnisse durchgeführt. Es zeigt sich ein relatives *Refilling* von $82.0\% \pm 25.1$. Dieser Mittelwert weicht deutlich von aktuell angenommenem, von Volumensüberladung unabhängigen, *relativen Refilling* von $\sim 70\%$ ab [32, 33].

Grund für diese Abweichung könnte einerseits eine Fehleinschätzung des relativen *Refillings* innerhalb der Fehlergrenzen der Methode oder andererseits ein systematischer Fehler sein. Aufgrund des großen Rauschens müsste hier, wie auch

bei Bestimmung des Plasmavolumens, in einer deutlich größeren Kohorte sowohl mit dieser als auch mit einer Referenzmethode gemessen werden, um die Validität der Methode genauer abschätzen zu können.

5.5 Conclusio

Die Methode der Plasmavolumensbestimmung per ICG-Indikator dilution mit anschließender Konzentrationsmessung per *CLM III* bei HämodialysepatientInnen scheint prinzipiell geeignet, in speziellen Fragestellungen das absolute Plasmavolumen zu messen, um hieraus weitere Parameter abzuleiten. Die Methode ist mit ca. 25€ pro Injektion kostengünstig und es ist prinzipiell möglich, die Blutvolumenanalyse nach ICG-Bolusinjektion zu automatisieren sowie aufgrund der kurzen Halbwertszeit von ICG in Intervallen von einer Stunde Messungen zu wiederholen. In ihrer aktuellen Form scheint die Methode noch nicht geeignet, verlässliche Aussagen über Plasmavolumen oder *Refilling* eines einzelnen Patienten oder einer einzelnen Patientin zu treffen – hier muss nach Ursachen für die breite Streuung der Ergebnisse gesucht werden. Um eine verlässliche Aussage zur Validität im Einsatz in der Analyse größerer Kohorten zu treffen, sind weitere Vergleichsstudien nötig.

6 Anhang

6.1 Statistische Berechnungen

6.1.1 Fisher's exact test: Geschlecht und Diabetischer Status

Zur Verdeutlichung der Vorgehensweise werden nur an dieser Stelle exemplarisch alle Arbeitsschritte angegeben. „[...]“ Auslassung der *startup message*, „XX“ schwärzung von Daten, „...“ Auslassungen der Terminalausgabe aufgrund der Seitenbreite.

```
R version 3.4.4 (2018-03-15) -- "Someone to Lean On"
[...]
> library(DBI)
> studydataDB <- dbConnect(RSQLite::SQLite(), 'studydata.sqlite')
> dbListTables(studydataDB)
[1] "alldata" "patients"
> patdataDF <- dbGetQuery(studydataDB, 'SELECT * FROM patients
                                     WHERE patExcluded = "n"')
> head(patdataDF)
  patID patSex patAge patHeight patWeight patBMI patBSA patVbNadler patDiabe...
1     XX     F     XX      157         48  19.47   1.46         3.149      ...
2     XX     F     XX      173         59  19.71   1.70         3.979      ...
3     XX     F     XX      158         61  24.44   1.62         3.606      ...
4     XX     F     XX      164         70  26.03   1.76         4.070      ...
5     XX     M     XX      173         92  30.74   2.06         5.465      ...
6     XX     M     XX      181         96  29.30   2.17         5.870      ...
> patSexDM <- dbGetQuery(studydataDB, 'SELECT patSex, patDiabetic FROM patients
                                     WHERE patExcluded = "n"')
> head(patSexDM)
  patSex patDiabetic
1      F             y
2      F             n
3      F             y
4      F             y
5      M             n
6      M             n
> summary(patSexDM)
  patSex      patDiabetic
Length:12      Length:12
Class :character Class :character
Mode :character Mode :character
> patSexDM$patSex <- as.factor(patSexDM$patSex)
> patSexDM$patDiabetic <- as.factor(patSexDM$patDiabetic)
> head(patSexDM)
  patSex patDiabetic
1      F             y
2      F             n
3      F             y
4      F             y
5      M             n
6      M             n
> summary(patSexDM)
  patSex patDiabetic
F:6      n:7
M:6      y:5
```

```

> levels(patSexDM$patSex)
[1] "F" "M"
> levels(patSexDM$patDiabetic)
[1] "n" "y"
> tblSexDM <- table(patSexDM$patSex, patSexDM$patDiabetic,
                    dnn = c('Sex', 'Diabetic'))
> tblSexDM
  Diabetic
Sex n y
F 2 4
M 5 1
> fisher.test(tblSexDM, conf.int=TRUE, conf.level=0.95)

      Fisher's Exact Test for Count Data

data:  tblSexDM
p-value = 0.2424
alternative hypothesis: true odds ratio is not equal to 1
95 percent confidence interval:
 0.001708811 2.320721717
sample estimates:
odds ratio
 0.1257002

```

6.1.2 Relative Volumina

ICG1, alle PatientInnen

	volDet_globalNr	patient_Nr	study_localNr	volDet_localNr	pat_DM	pat_Va
2	2	1	1	2	DM	3.15
7	7	1	2	2	DM	3.15
12	12	2	1	2	ND	3.98
17	17	2	2	2	ND	3.98
22	22	3	1	2	DM	3.61
27	27	3	2	2	DM	3.61
32	32	4	1	2	DM	4.07
37	37	4	2	2	DM	4.07
42	42	5	1	2	ND	5.48
47	47	5	2	2	ND	5.48
52	52	6	1	2	ND	5.89
57	57	6	2	2	ND	5.89
62	62	7	1	2	ND	4.12
67	67	7	2	2	ND	4.12
72	72	8	1	2	DM	5.25
77	77	8	2	2	DM	5.25
82	82	9	1	2	ND	4.48
87	87	9	2	2	ND	4.48
92	92	10	1	2	ND	5.49
97	97	10	2	2	ND	5.49
102	102	11	1	2	DM	3.87
107	107	11	2	2	DM	3.87
112	112	12	1	2	ND	5.19
117	117	12	2	2	ND	5.19
	H_POC	vB_ICG	vP_ICG	vB_spec	vP_Nadl	vP_spec
2	0.405	3.16	1.95	1.0031746	2.001825	0.9741111
7	0.410	2.92	1.80	0.9269841	1.987650	0.9055920
12	0.318	4.73	3.28	1.1884422	2.840924	1.1545539
17	0.333	5.97	4.01	1.5000000	2.787194	1.4387230
22	0.424	5.09	2.84	1.4099723	2.232424	1.2721598
27	0.324	4.94	3.36	1.3684211	2.557324	1.3138734
32	0.372	3.85	2.53	0.9459459	2.707364	0.9344883
37	0.358	4.10	2.76	1.0073710	2.758646	1.0004908
42	0.356	6.90	4.53	1.2591241	3.724208	1.2163660
47	0.353	6.39	4.20	1.1660584	3.739004	1.1232938
52	0.334	5.80	3.81	0.9847199	4.119466	0.9248772
57	0.348	7.27	4.67	1.2342954	4.045252	1.1544398

```

62 0.339 6.37 4.19 1.5461165 2.862988 1.4635060
67 0.375 5.54 3.63 1.3446602 2.729500 1.3299139
72 0.343 5.70 3.77 1.0857143 3.629325 1.0387607
77 0.324 6.23 4.24 1.1866667 3.719100 1.1400608
82 0.336 5.97 3.95 1.3325893 3.125248 1.2638997
87 0.351 6.29 4.13 1.4040179 3.064768 1.3475735
92 0.371 7.22 4.38 1.3151184 3.656889 1.1977394
97 0.346 7.27 4.57 1.3242259 3.780414 1.2088623
102 0.392 4.94 3.12 1.2764858 2.504664 1.2456761
107 0.383 6.08 3.95 1.5710594 2.536011 1.5575642
112 0.350 6.69 4.40 1.2890173 3.555150 1.2376412
117 0.381 5.52 3.53 1.0635838 3.410349 1.0350847
'data.frame': 24 obs. of 12 variables:
 $ volDet_globalNr: int 2 7 12 17 22 27 32 37 42 47 ...
 $ patient_Nr : int 1 1 2 2 3 3 4 4 5 5 ...
 $ study_localNr : int 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 ...
 $ volDet_localNr : int 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 ...
 $ pat_DM : Factor w/ 2 levels "DM","ND": 1 1 2 2 1 1 1 1 2 2 ...
 $ pat_Va : num 3.15 3.15 3.98 3.98 3.61 3.61 4.07 4.07 5.48 5.48 ...
 $ H_POC : num 0.405 0.41 0.318 0.333 0.424 0.324 0.372 0.358 ...
 $ vB_ICG : num 3.16 2.92 4.73 5.97 5.09 4.94 3.85 4.1 6.9 6.39 ...
 $ vP_ICG : num 1.95 1.8 3.28 4.01 2.84 3.36 2.53 2.76 4.53 4.2 ...
 $ vB_spec : num 1.003 0.927 1.188 1.5 1.41 ...
 $ vP_Nadl : num 2 1.99 2.84 2.79 2.23 ...
 $ vP_spec : num 0.974 0.906 1.155 1.439 1.272 ...
 volDet_globalNr patient_Nr study_localNr volDet_localNr pat_DM
Min. : 2.00 Min. : 1.000 Min. : 1.0 Min. : 2 DM:10
1st Qu.: 30.75 1st Qu.: 3.750 1st Qu.: 1.0 1st Qu.: 2 ND:14
Median : 59.50 Median : 6.500 Median : 1.5 Median : 2
Mean : 59.50 Mean : 6.542 Mean : 1.5 Mean : 2
3rd Qu.: 88.25 3rd Qu.: 9.250 3rd Qu.: 2.0 3rd Qu.: 2
Max. : 117.00 Max. : 13.000 Max. : 2.0 Max. : 2
 pat_Va H_POC vB_ICG vP_ICG
Min. : 3.150 Min. : 0.3180 Min. : 2.920 Min. : 1.80
1st Qu.: 3.953 1st Qu.: 0.3382 1st Qu.: 4.940 1st Qu.: 3.24
Median : 4.300 Median : 0.3520 Median : 5.885 Median : 3.88
Mean : 4.548 Mean : 0.3594 Mean : 5.622 Mean : 3.65
3rd Qu.: 5.308 3rd Qu.: 0.3765 3rd Qu.: 6.375 3rd Qu.: 4.21
Max. : 5.890 Max. : 0.4240 Max. : 7.270 Max. : 4.67
 vB_spec vP_Nadl vP_spec
Min. : 0.927 Min. : 1.988 Min. : 0.9056
1st Qu.: 1.080 1st Qu.: 2.670 1st Qu.: 1.0378
Median : 1.268 Median : 2.964 Median : 1.2033
Mean : 1.239 Mean : 3.086 Mean : 1.1866
3rd Qu.: 1.351 3rd Qu.: 3.672 3rd Qu.: 1.2826
Max. : 1.571 Max. : 4.119 Max. : 1.5576

```

ICG4, alle PatientInnen

	volDet_globalNr	patient_Nr	study_localNr	volDet_localNr	pat_DM	pat_Va
5	5	1	1	5	DM	3.15
10	10	1	2	5	DM	3.15
15	15	2	1	5	ND	3.98
20	20	2	2	5	ND	3.98
25	25	3	1	5	DM	3.61
30	30	3	2	5	DM	3.61
35	35	4	1	5	DM	4.07
40	40	4	2	5	DM	4.07
45	45	5	1	5	ND	5.48
50	50	5	2	5	ND	5.48
55	55	6	1	5	ND	5.89
60	60	6	2	5	ND	5.89
65	65	7	1	5	ND	4.12
70	70	7	2	5	ND	4.12
75	75	8	1	5	DM	5.25
80	80	8	2	5	DM	5.25
85	85	9	1	5	ND	4.48
90	90	9	2	5	ND	4.48

```

95          95          10          1          5          ND          5.49
100         100         10          2          5          ND          5.49
105         105         11          1          5          DM          3.87
110         110         11          2          5          DM          3.87
115         115         12          1          5          ND          5.19
120         120         12          2          5          ND          5.19

```

```

H_POC  vB_ICG  vP_ICG  vB_spec  vP_Nadl  vP_spec
5      0.419  2.82   1.73  0.8952381  1.962135  0.8816926
10     0.438  3.05   1.82  0.9682540  1.908270  0.9537434
15     0.360  4.74   3.18  1.1909548  2.690480  1.1819452
20     0.389  4.67   2.95  1.1733668  2.586602  1.1404924
25     0.442  4.45   2.36  1.2326870  2.173942  1.0855855
30     0.352  4.39   2.93  1.2160665  2.466352  1.1879894
35     0.411  3.90   2.48  0.9582310  2.564507  0.9670475
40     0.397  4.05   2.61  0.9950860  2.615789  0.9977869
45     0.375  6.54   4.25  1.1934307  3.630500  1.1706377
50     0.376  6.58   4.25  1.2007299  3.625568  1.1722301
55     0.362  6.15   3.95  1.0441426  3.971038  0.9947021
60     0.384  5.83   3.60  0.9898132  3.854416  0.9339936
65     0.355  5.76   3.72  1.3980583  2.803660  1.3268371
70     0.375  5.60   3.66  1.3592233  2.729500  1.3409049
75     0.354  5.83   3.76  1.1104762  3.577350  1.0510573
80     0.350  5.99   3.99  1.1409524  3.596250  1.1094891
85     0.357  6.08   3.99  1.3571429  3.040576  1.3122514
90     0.374  5.92   3.79  1.3214286  2.972032  1.2752218
95     0.399  7.41   4.43  1.3497268  3.518541  1.2590446
100    0.358  7.46   4.60  1.3588342  3.721122  1.2361863
105    0.419  5.48   3.36  1.4160207  2.410623  1.3938306
110    0.409  5.57   3.52  1.4392765  2.445453  1.4394061
115    0.383  5.18   3.32  0.9980732  3.401007  0.9761815
120    0.386  5.32   3.38  1.0250482  3.386994  0.9979350

```

```

'data.frame':   24 obs. of  12 variables:
 $ volDet_globalNr: int  5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 ...
 $ patient_Nr      : int  1 1 2 2 3 3 4 4 5 5 ...
 $ study_localNr  : int  1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 ...
 $ volDet_localNr : int  5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 ...
 $ pat_DM         : Factor w/ 2 levels "DM","ND": 1 1 2 2 1 1 1 1 2 2 ...
 $ pat_Va        : num  3.15 3.15 3.98 3.98 3.61 3.61 4.07 4.07 5.48 5.48 ...
 $ H_POC         : num  0.419 0.438 0.36 0.389 0.442 0.352 0.411 0.397 ...
 $ vB_ICG        : num  2.82 3.05 4.74 4.67 4.45 4.39 3.9 4.05 6.54 6.58 ...
 $ vP_ICG        : num  1.73 1.82 3.18 2.95 2.36 2.93 2.48 2.61 4.25 4.25 ...
 $ vB_spec       : num  0.895 0.968 1.191 1.173 1.233 ...
 $ vP_Nadl       : num  1.96 1.91 2.69 2.59 2.17 ...
 $ vP_spec       : num  0.882 0.954 1.182 1.14 1.086 ...
 volDet_globalNr  patient_Nr  study_localNr  volDet_localNr  pat_DM
Min.   : 5.00    Min.   : 1.000    Min.   : 1.0    Min.   : 5      DM:10
1st Qu.: 33.75   1st Qu.: 3.750   1st Qu.: 1.0    1st Qu.: 5      ND:14
Median : 62.50   Median : 6.500   Median : 1.5    Median : 5
Mean   : 62.50   Mean   : 6.542   Mean   : 1.5    Mean   : 5
3rd Qu.: 91.25   3rd Qu.: 9.250   3rd Qu.: 2.0    3rd Qu.: 5
Max.   :120.00   Max.   :13.000   Max.   : 2.0    Max.   : 5
 pat_Va          H_POC          vB_ICG          vP_ICG
Min.   :3.150    Min.   :0.3500   Min.   :2.820    Min.   :1.730
1st Qu.:3.953    1st Qu.:0.3595   1st Qu.:4.615    1st Qu.:2.945
Median :4.300    Median :0.3795   Median :5.585    Median :3.560
Mean   :4.548    Mean   :0.3843   Mean   :5.365    Mean   :3.401
3rd Qu.:5.308    3rd Qu.:0.4015   3rd Qu.:6.013    3rd Qu.:3.960
Max.   :5.890    Max.   :0.4420   Max.   :7.460    Max.   :4.600
 vB_spec        vP_Nadl        vP_spec
Min.   :0.8952   Min.   :1.908    Min.   :0.8817
1st Qu.:1.0183   1st Qu.:2.540    1st Qu.:0.9970
Median :1.1922   Median :2.888    Median :1.1556
Mean   :1.1805   Mean   :2.986    Mean   :1.1411
3rd Qu.:1.3516   3rd Qu.:3.582    3rd Qu.:1.2631
Max.   :1.4393   Max.   :3.971    Max.   :1.4394

```

Test auf Signifikanz der Abnahme des relativen Plasmavolumens zwischen Dilution 1 und 4

Ausgabe der Testung mittels R: Getestet werden sollen die aus Tabellen 4.2 und 4.3 ersichtlichen Unterschiede der relativen Plasmavolumina V_p^* in den Gruppen „nicht-Diabetiker“, „Diabetiker“ und dem gesamten Studienkollektiv („all“) auf Signifikanz.

Es wird zunächst ein Test auf Normalverteilung der Unterschiede durchgeführt und im Anschluss ein einseitiger t-Test für verbundene Stichproben auf Abnahme des relativen Plasmavolumens bzw. bei nicht-Vorliegen einer Normalverteilung ein einseitiger Wilcoxon-Test. Beachte, dass „mean of differences“ den Mittelwert der Differenz der Volumina $\sum_{N=1}^n (V_{P,N}^*(1) - V_{P,N}^*(4)) / n$ bezeichnet, eine Abnahme des relativen Plasmavolumens also durch eine positive Differenz ausgedrückt wird.

```
> shapiro.test(ndDF4$vP_spec - ndDF$vP_spec)
      Shapiro-Wilk normality test
data:  ndDF4$vP_spec - ndDF$vP_spec
W = 0.8553, p-value = 0.02623

> shapiro.test(dmDF4$vP_spec - dmDF$vP_spec)
      Shapiro-Wilk normality test
data:  dmDF4$vP_spec - dmDF$vP_spec
W = 0.9745, p-value = 0.9292

> shapiro.test(allDF4$vP_spec - allDF$vP_spec)
      Shapiro-Wilk normality test
data:  allDF4$vP_spec - allDF$vP_spec
W = 0.93814, p-value = 0.1483

> wilcox.test(ndDF$vP_spec, ndDF4$vP_spec, alternative = "less")
      Wilcoxon rank sum test
data:  ndDF$vP_spec and ndDF4$vP_spec
W = 116, p-value = 0.7994
alternative hypothesis: true location shift is less than 0
0.05556504

> t.test(dmDF$vP_spec, dmDF4$vP_spec, paired=TRUE, alternative = "less")
      Paired t-test
data:  dmDF$vP_spec and dmDF4$vP_spec
t = 0.99854, df = 9, p-value = 0.8279
alternative hypothesis: true difference in means is less than 0
95 percent confidence interval:
 -Inf 0.08936982
sample estimates:
mean of the differences
0.03151487

> t.test(allDF$vP_spec, allDF4$vP_spec, paired=TRUE, alternative = "less")
      Paired t-test
```

```
data: allDF$vP_spec and allDF4$vP_spec
t = 1.96, df = 23, p-value = 0.9689
alternative hypothesis: true difference in means is less than 0
95 percent confidence interval:
 -Inf 0.08536998
sample estimates:
mean of the differences
      0.04554413
```

Literatur

1. Medizinische Universität Graz. Richtlinie für die Erstellung einer Diplomarbeit oder Masterarbeit. 2015. URL: https://www.medunigraz.at/fileadmin/public/pdf_medunigraz/grundsatzdokumente/richtlinien/Richtlinie_Erstellung_einer_Masterarbeit_Diplomarbeit.pdf [Aufgerufen am 15. Sep. 2019].
2. Jeroen K, Ali B, Pizzarelli F, Canaud B, Haage P, Fougue D u. a. EBPG guideline on haemodynamic instability. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2007;22 Suppl 2:ii22–ii44.
3. McIntyre CW. Recurrent Circulatory Stress: The Dark Side of Dialysis. *Seminars in Dialysis*. 2010;23(5):449–451.
4. Bruhn HD, Junker R, Schäfer H, Schreiber S. *LaborMedizin*. 3. Aufl. Stuttgart: Schattauer GmbH, 2011.
5. Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means Jr. RT, Paraskevas F u. a. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 13. Aufl. Lippincott Williams&Wilki, 2013.
6. Schmidt RF, Lang F, Heckmann M. *Physiologie des Menschen*. 31. Aufl. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2010.
7. Goldsmith HL, Cokelet GR, Gaehtgens P. Robin Fåhræus: evolution of his concepts in cardiovascular physiology. *American Journal of Physiology*. 1989;257(3): H1005–H1015.
8. Dasselaar JJ, Lub-de Hooge MN, Pruijm J, Nijhuis H, Wiersum A, de Jong PE u. a. Relative Blood Volume Changes Underestimate Total Blood Volume Changes during Hemodialysis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2007;2(4):669–674.
9. Jones PRM, Wilkinson S, Davies PSW. A revision of body surface area estimations. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*. 1985;53(4):376–379.
10. Orth VH, Rehm H, Haller M, Thiel M, Finsterer U. Die Messung des Blutvolumens – Aktueller Stand. *Der Anaesthesist*. 2001;50:562–568.
11. Schneditz D, Haditsch B, Jantscher A, Ribitsch W, Krisper P. Absolute Blood Volume and Hepatosplanchnic Blood Flow Measured by Indocyanine Green Kinetics During Hemodialysis. *ASAIO Journal*. 2014;60:452–458.

12. Yu AW, Nawab ZM, Barnes WE, Lai KN, Ing TS, Daugirdas JT. Splanchnic erythrocyte content decreases during hemodialysis: A new compensatory mechanism for hypovolemia. *Kidney International*. 1997;51(6):1986–1990.
13. Geberth S, Nowack R. *Praxis der Dialyse*. 1. Aufl. Berlin und Heidelberg: SpringerMedizin, 2011.
14. Schneditz D, Roob J, Oswald M, Pogglichsch H, Moser M, Kenner T u. a. Nature and rate of vascular refilling during hemodialysis and ultrafiltration. *Kidney international*. 1992;42:1425–1433.
15. Fresenius Medical Care. CRIT-LINE III User Manual. Version Document No. 43-002 Rev F. 2013.
16. United States Food and Drug Administration. Crit-line Clip Monitor (CLiC) Special 510(k) Notification. 2012.
17. Fresenius Medical Care. critlinemonitor.jpg. URL: <http://fmcna-hd.com/images/critlinemonitor.jpg> [Aufgerufen am 2. Dez. 2015].
18. Prah S. Hb & HbO₂ spectra. 1999. URL: <https://omlc.org/spectra/hemoglobin/summary.png> [Aufgerufen am 19. Sep. 2019].
19. Wikimedia Commons. File:Indocyanine Green.svg — Wikimedia Commons, the free media repository. 2016. URL: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Indocyanine_Green.svg%5C&oldid=191342719 [Aufgerufen am 30. Aug. 2019].
20. Schneditz D, Haditsch B, Stauber R. Measurement of Indocyanine Green Dye Concentration in the Extracorporeal Circulation. *ASAIO Journal*. 2005;51(4):376–378.
21. Prah S. digitized Landsman ICG molar extinction coefficient of ICG in water. 2018. URL: <https://omlc.org/spectra/hemoglobin/summary.png> [Aufgerufen am 21. Sep. 2019].
22. Landsman MLJ, Kwant G, Mook GA, Zijlstra WG. Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green. *Journal of Applied Physiology*. 1976;40(4):575–583.
23. Prah S. digitized Landsman ICG molar extinction coefficient of ICG in plasma. 2018. URL: <https://omlc.org/spectra/icg/land-plasma.png> [Aufgerufen am 21. Sep. 2019].
24. Pulsion Medical Systems. ICG-PULSION-Pulver zur Herstellung einer Injektionslösung. Gebrauchsinformation. 2012. URL: <http://www.pharmazie.com/graphic/A/49/1-25749.pdf> [Aufgerufen am 6. März 2013].

25. Roche Diagnostics GmbH. Cobas b 221 System Instructions for Use. Version 10.0. 2009.
26. Elmasri RA, Navathe SB. Grundlagen von Datenbanksystemen. Bachelorausgabe. 3. Aufl. it informatik. München u. a.: Pearson Studium, 2009.
27. The R Foundation for Statistical Computing. R. Version 3.4.4. 2018. URL: <https://www.r-project.org/>.
28. Williams T, Kelley C. gnuplot. Version 5.2 Patchlevel 2. 2017. URL: <http://www.gnuplot.info/>.
29. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986;1(8476):307–310.
30. Meinert T, Schäffler A, Hrsg. Pschyrembel klinisches Wörterbuch. 265. Aufl. De Gruyter, 2014.
31. Kuipers J, Verboom LM, Ipema KJR, Paans W, Krijnen WP, Gaillard CAJM u. a. The Prevalence of Intradialytic Hypotension in Patients on Conventional Hemodialysis: A Systematic Review with Meta-Analysis. *American Journal of Nephrology*. 2019;49(6):497–506.
32. Kron S, Schneditz D, Leimbach T, Aign S, Kron J. Vascular refilling is independent of volume overload in hemodialysis with moderate ultrafiltration requirements. *Hemodialysis International*. 2016;20:484–491.
33. Mitsides N, Pietribiasi M, Waniewski J, Brenchley P, Mitra S. Transcapillary Refilling Rate and Its Determinants during Haemodialysis with Standard and High Ultrafiltration Rates. *American Journal of Nephrology*. 2019;50:133–143.