

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. Stefan Frantz

Einfluss einer erhöhten Kochsalzkonzentration in der Infusionslösung der Prädi-
lutions-Hämodiafiltration auf die Entfernung proteingebundener Urämietoxine

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Thomas Samuel Körner

aus Überlingen

Würzburg, Mai 2018

Referent: Prof. Dr. med. Detlef Krieter
Korreferent: Prof. Dr. med. Christoph Wanner
Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 11.03.2019

Der Promovend ist Arzt.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Überblick	1
1.2. Hämodialyse, Hämofiltration, Hämodiafiltration	2
1.3. Urämietoxine	3
1.4. Ziel der vorliegenden Arbeit	7
2. Material und Methoden	8
2.1. Votum des Ethik-Komitees und Studienregistrierung	8
2.2. Beschreibung der Studie	8
2.3. Ein- und Ausschlusskriterien der Studie	9
2.4. Dialysegeräte/ extrakorporales System/ Wasseraufbereitung	10
2.5. Versuchsdialysator	11
2.6. Versuchsdurchführung.....	11
2.6.1. Handhabung der Kochsalz-Infusion.....	12
2.6.2. Blutprobenentnahme	13
2.6.3. Dialysatsammlung	15
2.7. Analysen in Blut und Dialysat	16
2.7.1. Behandlungseffizienz.....	16
2.7.1.1. Elektrolyte und Blutgase	16
2.7.1.2. Kleinmolekulare Substanzen	16
2.7.1.3. Mittelmolekulare Proteine und Albumin	17
2.7.1.4. Proteingebundene Urämietoxine	17
2.7.2. Hämokompatibilität.....	19
2.7.2.1. Blutbild	19
2.7.2.2. Freies Hämoglobin	19
2.7.2.3. Laktatdehydrogenase.....	19
2.7.2.4. Komplementfaktor C5a und Thrombin-Antithrombin-III-Komplex ..	20
2.8. Berechnung der Behandlungseffizienz	23
2.9. Datenanalyse	24
3. Ergebnisse	25
3.1. Patientencharakterisierung	25
3.2. Klinische Beobachtungen.....	25
3.3. Behandlungscharakterisierung	26
3.4. Entfernung proteingebundener Toxine	28

3.4.1.	Paracresylsulfat	28
3.4.2.	Indoxylsulfat	30
3.5.	Entfernung der kleinmolekularen Substanz Harnstoff	33
3.6.	Entfernung der Mittelmoleküle und Albumin	35
3.6.1.	β 2-Mikroglobulin	35
3.6.2.	Myoglobin.....	36
3.6.3.	Albumin.....	38
3.7.	Elektrolytverläufe.....	39
3.7.1.	Natrium.....	39
3.7.2.	Chlorid	40
3.8.	Hämokompatibilitätsparameter	42
3.8.1.	Leukozytenverlauf	42
3.8.2.	Thrombozytenverlauf	46
3.8.3.	Hämolyseparameter	48
3.8.4.	Komplementaktivierung.....	50
3.8.5.	Gerinnungsaktivierung	52
4.	Diskussion	53
4.1.	Klinische Effekte der modifizierten Prädilutions-Hämodiafiltration	57
4.2.	Entfernung der proteingebundenen Urämietoxine	57
4.3.	Hämokompatibilität der modifizierten Prädilutions-Hämodiafiltration	64
4.3.1.	Komplementaktivierung C5a	65
4.3.2.	Zellaktivierung	66
4.3.3.	Thrombozyten	68
4.3.4.	Gerinnungsaktivierung	69
4.4.	Elektrolytverläufe.....	72
4.4.1.	Natrium.....	72
4.4.2.	Chlorid	74
4.5.	Hämolyseparameter	75
4.6.	Effekte auf die Entfernung klein- und mittelmolekularer Substanzen.....	78
4.6.1.	Harnstoff.....	78
4.6.2.	β 2-Mikroglobulin	79
4.6.3.	Myoglobin.....	81
4.7.	Effekte auf die Entfernung von Albumin	82
5.	Zusammenfassung.....	85

6. Abkürzungsverzeichnis	87
7. Abbildungsverzeichnis	88
8. Tabellenverzeichnis	88
9. Literaturverzeichnis	89

1. Einleitung

1.1. Überblick

Die Prävalenz der chronischen Niereninsuffizienz (CKD) in der Weltbevölkerung wird auf 8–16 % geschätzt (Jha et al., 2013). Dabei benötigen Patienten, die sich im terminalen Stadium der chronischen Niereninsuffizienz befinden und Symptome der Urämie aufweisen, eine Nierenersatztherapie. Je nach Art des Kalkulationsmodells wird von fünf bis zehn Millionen Menschen mit terminaler Niereninsuffizienz ausgegangen (Liyanage et al., 2015). Tatsächlich erhalten weltweit 2,681 Millionen Menschen eine Nierenersatztherapie (Liyanage et al., 2015), wobei die Hämodialyse das am häufigsten angewandte Verfahren darstellt (Pippias et al., 2017). Therapie der Wahl im Endstadium ist jedoch die Transplantation (Tonelli et al., 2011). In Deutschland nimmt die Zahl der Dialysepatienten seit Jahren zu: Ein vom gemeinsamen Bundesausschuss beauftragter Bericht zur Qualitätssicherung gibt 2016 eine Jahresprävalenz von 93.103 Personen unter chronischer Dialysebehandlung an (Gemeinsamer Bundesausschuss, 2016). Im Vergleich dazu wurden vor zehn Jahren laut Jahresbericht der QuaSi Niere von 2006 66.508 Patienten dialysiert (Frei, 2008). Dies entspricht einem Anstieg um fast 50 % in diesem Zeitraum. Die Mortalität und Morbidität dialysepflichtiger Patienten ist gegenüber der Normalbevölkerung stark erhöht, wobei die kardiovaskuläre und nicht-kardiovaskuläre Mortalität um das 8,8- bzw. 8,1-fache höher ist (de Jager et al., 2009). In den USA lag die Mortalitätsrate bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz im Jahre 2014 bei 136, wobei sie für Patienten unter Dialysebehandlung 166 und bei Nierentransplantierten 30 betrug (jeweils pro 1000 Patientenjahre) (United States Renal Data System, 2016). Für Deutschland existieren keine aktuellen Daten.

Bezüglich der Anteile der verschiedenen Dialyseverfahren an der Gesamtzahl der Dialysebehandlungen stammen die letzten Zahlen für Deutschland ebenfalls aus dem erwähnten Jahresbericht der QuaSi Niere von 2006. Es erhielten 87,5 % der Patienten eine Hämodialyse (HD), 7,3 % eine Hämodiafiltration (HDF) und 4,8 % eine Peritonealdialyse (Frei, 2008). Inzwischen dürfte der Anteil der HDF-Behandlungen gestiegen sein; dazu

gibt es jedoch keine belastbaren Angaben. Mehrere Studien verglichen HD und HDF hinsichtlich eines Überlebensvorteils. Die Ergebnisse sind nicht eindeutig (Nistor et al., 2014), weisen jedoch auf ein geringeres Mortalitätsrisiko bei HDF- gegenüber HD-Behandlungen hin, wobei dies nur für die hocheffiziente Postdilutions-HDF gilt (Canaud et al., 2006; Grooteman et al., 2012; Maduell et al., 2013; Ok et al., 2013; Wang et al., 2014; Davenport et al., 2016; Peters et al., 2016).

1.2. Hämodialyse, Hämofiltration, Hämodiafiltration

Bei der HD handelt es sich um ein in erster Linie diffusives Verfahren, bei dem ein Konzentrationsunterschied zwischen dem Blut auf der einen und dem Dialysat auf der anderen Seite einer semipermeablen Membran einen Stoffaustausch bewirkt. Dabei werden Blut und Dialysat im Gegenstrom durch den Dialysator geleitet, um einen hohen Konzentrationsgradienten über die Gesamtlänge der Dialysemembran zu erreichen. Dabei diffundieren (urämische) Substanzen aus dem Blut des Patienten in die Dialysatlösung und werden entfernt. Die Clearance ist unter anderem von Blut- und Dialysatfluss, den Eigenschaften der Dialysemembran sowie der Höhe der Ultrafiltrationsrate abhängig. Letztere bewirkt einen zusätzlichen konvektiven Stofftransport. Dabei steigt die Clearance mit zunehmendem Blutfluss an, was besonders für mittelmolekulare Substanzen von Bedeutung ist. Diese Beziehung nähert sich aber ab 300 ml/min einem Grenzwert an, der bei größeren Molekülen schon früher erreicht wird. Das Gleiche gilt für den Dialysatfluss, dessen Steigerung vor allem bei kleinmolekularen Substanzen zu einer Clearancezunahme führt. Prinzipiell hängt diese Beziehung vom Verhältnis Blutfluss zu Dialysatfluss ab. Die Clearancezunahme nähert sich jedoch bei Blutflussraten von 250–300 ml/min ab einem Dialysatfluss von 500 ml/min einem Maximum an. Die Clearance kleinmolekularer Substanzen ist bei der HD sehr groß, so werden z.B. Harnstoff (60 Da) und Kreatinin (113 Da) fast vollständig entfernt. Mit zunehmendem Molekulargewicht sinkt die Eliminationsleistung der HD (Hörl, 2004).

Bei der Hämofiltration (HF) sind die filtrierte Flüssigkeitsmenge und damit die Filtrationsrate sowie eine hohe Permeabilität der Hämofiltrationsmembran maßgeblich für den Stofftransport. Damit ist die Konvektion, als treibende Kraft des Verfahrens, nicht

vom Konzentrationsunterschied über die Membran abhängig. Die entzogene Flüssigkeit wird durch eine Substitutionslösung ersetzt. Im mittelmolekularen Bereich (500–15.000 Da), z.B. β 2-Mikroglobulin (β 2M) (11.800 Da), ist die HF der HD überlegen; sie zeigt jedoch geringere Clearances für kleinmolekulare Substanzen. Von klinischer Relevanz sind eine bessere hämodynamische Stabilität und die günstige Beeinflussung einer Hypertonie bei HF-Behandlungen gegenüber der HD (Hörl, 2004).

Die HDF kombiniert Vorteile von HD und HF (Ledebor, 1998) und entfernt somit durch die Kombination von Diffusion und Konvektion über ein breites Molekulargewichtsspektrum hinweg urämische Metabolite. Die Clearance harnpflichtiger Substanzen kann dabei größer sein als bei den Einzelverfahren, erreicht aber nicht einfach deren Summe. Die benötigte Substitutionslösung kann wie bei der klassischen HDF entweder aus sterilen Kunststoffbeuteln stammen oder, heutzutage fast ausschließlich, „online“ während der Behandlung aus dem Dialysat durch sequentielle Ultrareinfiltration hergestellt werden. Auf diese Weise kann bei der Online-HDF die Konvektion gesteigert und durch die Verwendung einer sterilen und pyrogenfreien Substitutionslösung eine bessere Biokompatibilität (Canaud et al., 1998) erreicht werden. Die Substitutionslösung kann dem Blut dabei entweder vor (Prädilution) oder nach (Postdilution) dem Dialysator zugeführt werden. Bei der Prädilutions-HDF (Prä-HDF) ist die Clearance kleinmolekularer Proteine relativ erniedrigt, da durch die Verdünnung des Blutes der Konzentrationsgradient zwischen Blut und Dialysat und damit die Diffusion reduziert ist. Durch höhere Ultrafiltrationsvolumina kann diesem Effekt teilweise entgegengewirkt werden (Hörl, 2004).

1.3. Urämietoxine

Im Rahmen der chronischen Niereninsuffizienz kommt es zu einer Retention harnpflichtiger Substanzen. Dabei wurden in Studien 88 Substanzen identifiziert, die akkumulieren und einen pathophysiologischen Einfluss auf biologische Prozesse haben (Duranton et al., 2012).

Diese sog. Urämietoxine lassen sich in drei Gruppen einteilen:

1. kleinmolekulare, wasserlösliche, nicht proteingebundene Stoffe wie Harnstoff (60 Da),
2. mittelmolekulare Stoffe wie β 2M (11,8 kDa) und Myoglobin (17,8 kDa), und
3. kleinmolekulare, proteingebundene Stoffe wie Paracresylsulfat (pCS) (108 Da) und Indoxylsulfat (IS) (213 Da) (Duranton et al., 2012).

Einige dieser Stoffe sind mit dem vermehrten Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen bei chronischer Niereninsuffizienz assoziiert (Meijers, Bammens, et al., 2008; Chiu et al., 2010; I. W. Wu et al., 2012). Eine unmittelbare Toxizität wurde allerdings bisher noch nie in-vivo, sondern nur in-vitro oder ex-vivo nachgewiesen (Leong et al., 2016).

Im Gegensatz zu kleinmolekularen, freien Substanzen ist die Entfernung proteingebundener Toxine während extrakorporaler Nierenersatzverfahren gering (Lesaffer et al., 2000), da sie aufgrund ihrer Bindung an Albumin (67 kDa) die Dialysemembran nicht passieren können (Krieter et al., 2010). Bei normaler Nierenfunktion werden proteingebundene Toxine durch tubuläre Sekretion entfernt (Martinez, 2005). Auch für einige proteingebundene Substanzen wurde deren Rolle bei der Entstehung kardiovaskulärer und anderer Erkrankungen nachgewiesen (Vanholder et al., 2014). So inhibiert IS die endotheliale Zellproliferation und Wundheilung (Dou et al., 2004), deren Beeinträchtigung für kardiovaskuläre Schäden mitverantwortlich ist (Hsu et al., 2013; Shimazu et al., 2013). Für pCS wurden ebenfalls mit kardiovaskulären Erkrankungen im Zusammenhang stehende proinflammatorische Effekte nachgewiesen (Schepers et al., 2007); es wird gar als neuer kardiovaskulärer Risikofaktor bei Dialysepatienten angesehen (Meijers, Bammens, et al., 2008), wobei die Höhe der Serumkonzentration des freien pCS signifikant mit dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse korreliert (Meijers, Weber, et al., 2008; Liabeuf et al., 2010).

pCS und IS treten im Plasma gebunden an Albumin und in ungebundener Form auf. Freie und gebundene Toxine liegen äquilibriert vor. Der Anteil gebundenen Toxins beträgt bei Dialysepatienten nach Krieter et al. (2010) für pCS und IS 96 % bzw. 95 %, wobei

aufgrund der kompetitiven Verdrängung aus der Proteinbindung durch andere Urämietoxine, wie z.B. durch bestimmte Fettsäuren, der gebundene Anteil bei Dialysepatienten etwas geringer als bei Nierengesunden ist (Klammt et al., 2012).

Ob bestimmte Moleküle während der Hämodialyse die Dialysemembran passieren können, hängt unter anderem von ihrer Molekülmasse ab. Während freies pCS (108 Da) und IS (213 Da) ungehindert durch die Dialysemembran gelangen, gilt dies nicht für die an Albumin gebundenen Toxine (Krieter et al., 2010). Albumin passiert aufgrund seiner Größe (67 kDa) selbst relativ offene High-flux-Dialysemembranen, die eine Trennschärfe von maximal 40 kDa aufweisen (Boschetti-de-Fierro et al., 2015), nur in geringem Ausmaß (Krieter et al., 2010), während es von dichten Low-flux-Membranen, Trennschärfe ca. 5 kDa (Kerr et al., 2013), vollständig retiniert wird.

Die Permeabilität der Membran hat keinen nennenswerten Einfluss auf die Entfernung proteingebundener Toxine. So betrug die Reduktionsratio (RR) von gebundenem p-Cresol und IS bei Low-flux- bzw. High-flux-Membranen 32,9 % und 41,5 % bzw. 41,4 % und 42,6 % (Lesaffer et al., 2000). Ferner führten konvektive Verfahren ebenso zu keiner oder einer zu vernachlässigenden Verbesserung der Toxinentfernung (Meyer et al., 2005). Bei einem Vergleich von HD und Post-HDF lagen die RR für gebundenes bzw. freies pCS bei 47,3 % bzw. 29,0 % und 40,4 % bzw. 42,9 %. Für gebundenes IS betrug die Entfernung 52,2 % bzw. 43,3 % und 53,3 % bzw. 56,1 % (Krieter et al., 2010). Beim Vergleich von Prä- und Post-HDF mit dem rein konvektiven HF-Verfahren wurden bei den HDF-Verfahren signifikant höhere RR für gebundenes pCS und IS von 41,9 % und 48,5 % (Prä-HDF) bzw. 40,0 % und 44,8 % (Post-HDF) gegenüber der HF von 33,8 % und 30,6 % (Prä-HF) erzielt (Meert et al., 2009). Dies unterstreicht den erheblichen Einfluss der Diffusion bei der Entfernung proteingebundener Urämietoxine gegenüber einem rein konvektiven Verfahren.

Meyer et al. (2004) demonstrierten dies, indem sie in einem In-vitro-Versuch den Dialysatfluss sowie die Größe der Membranoberfläche variierten. Dabei wurde die Clearance der Testsubstanz Phenolrot, das zu 94 % an Albumin gebunden ist, gemessen. Sowohl

ein höherer Dialysatfluss (300 ml/min vs. 700 ml/min) als auch eine größere Membranoberfläche (1,3 vs. 2,0 m²) resultierten in einer signifikant höheren Clearance von 11 ml/min vs. 16 ml/min bzw. 14 ml/min vs. 23 ml/min (Meyer et al., 2004). Um eine deutliche Steigerung der Entfernung proteingebundener Toxine zu erreichen, ist eine Modifikation der aktuell verfügbaren extrakorporalen Nierenersatzverfahren unumgänglich. Dabei würde eine Erhöhung des Anteils freien Toxins im Blut einen möglichen Weg darstellen, eine Effizienzsteigerung herbeizuführen.

Untersuchungen zur Proteinbindung der Urämietoxine zeigten, dass diese grundsätzlich reversibel sind, da sie durch elektrostatische bzw. Van-der-Waals-Kräfte zustande kommen (Vanholder et al., 1992; Jourde-Chiche et al., 2009). Devine et al. zeigten 2014, dass die Affinität und die Kapazität der Bindung zwischen Toxin und Albumin beeinflusst werden (Devine et al., 2014):

1. durch die Erhöhung der Ionenstärke im Plasma,
2. durch Erhöhung der Temperatur, und
3. durch Verdünnung des Plasmas.

Die Erhöhung der Ionenstärke durch Steigerung der [Na⁺] scheint mit der elektrostatischen Bindung der Toxine an Albumin zu interferieren. In-vitro-Experimente konnten in diesem Zusammenhang nachweisen, dass eine Erhöhung der [Na⁺] im Plasma von 150 mmol/l auf 750 mmol/l zu einer unmittelbaren und proportionalen Anhebung der Dissoziationskonstanten K_D von IS von 13,2 ± 3,7 µmol/l auf 56,2 ± 2,0 µmol/l führt (Devine et al., 2014). War man ursprünglich von einer deutlich höheren Bindungsaffinität von IS an Albumin ausgegangen (Vanholder et al., 1992; T. Sakai et al., 2001), konnte gezeigt werden, dass, im Gegensatz zum Verhalten in wässriger Lösung, als Ausdruck einer Konkurrenz um die Bindungsstelle von IS an Albumin, im Plasma eine deutlich geringere Affinität zwischen diesen Stoffen besteht. Eine Erhöhung der Temperatur von 25 °C auf 37 °C verringerte den an Albumin gebundenen Anteil von IS bei unterschiedlichen Ionenstärken im Plasma (0,15 M: Reduktion von 90 % auf 86 %; 0,61 M: Reduktion von 83 % auf 77 %) (Devine et al., 2014). Im Hinblick auf die Bindungskapazität führt eine

Verdünnung von Plasma ebenfalls zu einem größeren Anteil freier Toxine, indem die totale Bindungskapazität der Proteine für Toxine verringert wird (Yamamoto et al., 2013; Devine et al., 2014). Dabei handelt es sich um eine bisher ungeklärte Beobachtung.

Basierend auf diesen Zusammenhängen wurde als naheliegendes bestehendes Dialyseverfahren eine Prä-HDF modifiziert, um den freien Anteil und damit die Entfernung proteingebundener Toxine im lebenden Organismus zu erhöhen. Die Modifikation der Prä-HDF bestand in einer Erhöhung der $[Na^+]$ in der Substitutionslösung, so dass eine erhöhte Ionenstärke im Plasma resultierte. Frei gesetztes Toxin und zugeführtes Na^+ wurden in der anschließenden Passage des Blutes im Dialysator eliminiert. Zur Vorbereitung der klinischen Anwendung der modifizierten Prä-HDF wurde zunächst ein etabliertes Tiermodell (Krieter et al., 2007) entsprechend angepasst und diese Versuchsanordnung anschließend erfolgreich getestet (Krieter et al., 2016).

1.4. Ziel der vorliegenden Arbeit

Aufbauend auf den zuvor erfolgreichen Tierversuchen (Krieter et al., 2016) war es das Ziel der vorliegenden Arbeit, die prinzipielle Anwendbarkeit, die Effektivität und die Verträglichkeit des modifizierten Prä-HDF-Verfahrens (HDF-IPIS) im Rahmen einer ersten klinischen Studie zu demonstrieren.

2. Material und Methoden

2.1. Votum des Ethik-Komitees und Studienregistrierung

Die vorliegende Studie wurde der „Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg“ zur Begutachtung vorgelegt. Mit Votum vom 29.07.2013 wurde sie genehmigt (Ethikantragsnummer 120/13). Die Studie wurde bei *ClinicalTrials.gov* mit der Nummer *NCT01923961* registriert.

2.2. Beschreibung der Studie

Die vorliegende Arbeit stellt eine prospektive, randomisierte „Cross-over-Studie“ vor, in der bei acht chronisch dialysepflichtigen Patienten drei verschiedene Dialyseanordnungen hinsichtlich ihrer Effektivität bezüglich der Entfernung proteingebundener Urämietoxine und der Verträglichkeit verglichen wurden. Bei den Dialyseanordnungen handelte es sich um das neuartige modifizierte Prä-HDF-Verfahren (siehe Abb. 1) basierend auf einer Ionenstärkeerhöhung im Plasma (HDF-IPIS) und zwei Standarddialyseverfahren, der HD und der Prä-HDF. Jedes Verfahren wurde unter kontrollierten Behandlungsbedingungen (Blut-, Dialysat- und Infusionsfluss, sowie Behandlungsdauer) angewendet. Blut- und Dialysatproben wurden zu definierten Zeitpunkten abgenommen. Anhand der Proben wurde die Entfernung der klein- (Harnstoff, Kreatinin, Phosphat) und mittelmolekularen (β 2-Mikroglobulin, Myoglobin) Proteine bestimmt. Der Fokus der Messung lag jedoch auf der Entfernung des freien und gebundenen Anteils der proteingebundenen Urämietoxine pCS und IS. Die Hämokompatibilität wurde durch Bestimmung der Verläufe von Leukozyten und Thrombozyten, freiem Hämoglobin, Laktatdehydrogenase (LDH), Komplementfaktor C5a (C5a) und Thrombin-Antithrombin-III-Komplex (TAT) bewertet. Die $[Na^+]$ wurde im arteriellen und venösen Blut und intermediär im extrakorporalen Kreislauf kontrolliert.

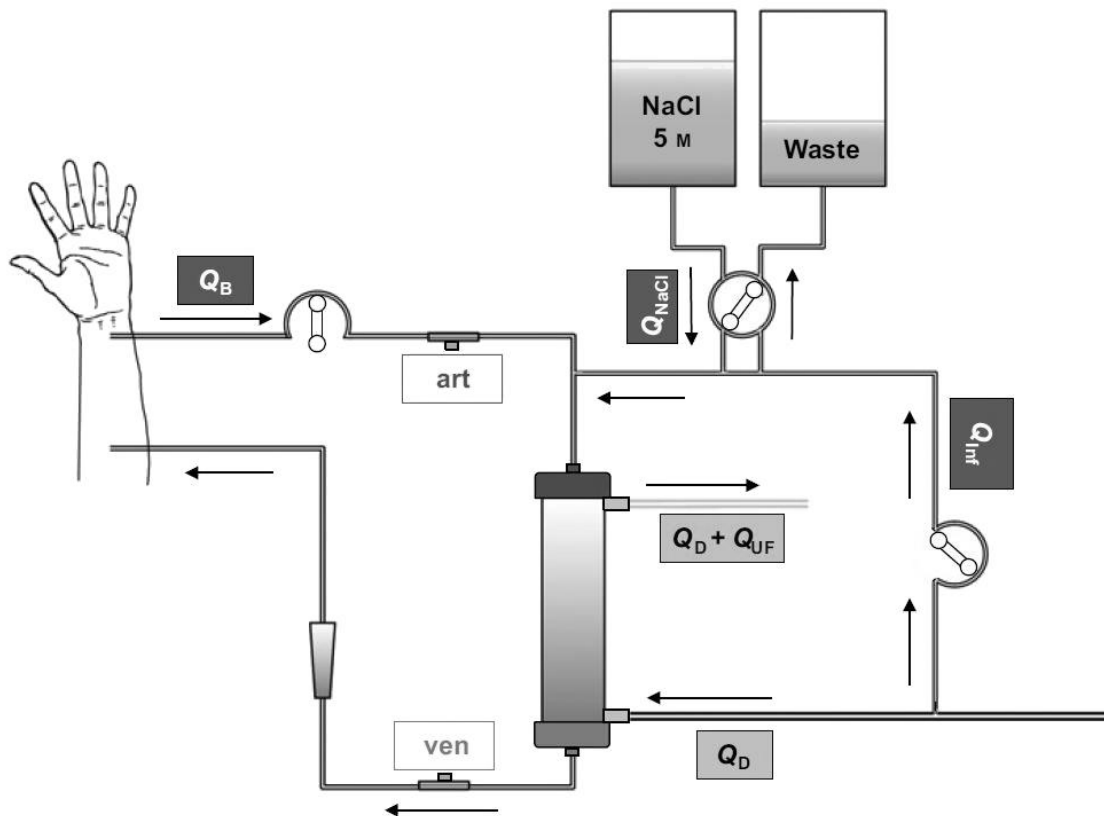


Abb. 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der HDF-IPIS

2.3. Ein- und Ausschlusskriterien der Studie

Vor Beginn der Studie wurden die Patienten über den Ablauf und die damit verbundenen möglichen Risiken und notwendigen Blutentnahmen eingehend informiert. Nach Überprüfung von Ein- bzw. Ausschlusskriterien und ihrer schriftlichen Einwilligung wurden die Patienten in die Studie aufgenommen. Als Einschlusskriterien wurden gefordert:

- Alter \geq 18 Jahre
- Chronisch dialysepflichtige Niereninsuffizienz
- HD- oder HDF-Behandlung seit mehr als drei Monaten
- Hämatokrit $>$ 30 %
- Stabile Antikoagulation während HD bzw. HDF
- Stabile Erythropoetintherapie
- Funktionstüchtige arteriovenöse Fistel bzw. funktionstüchtiger zentralvenöser Zweiwegekatheter als Dialysezugang

- Keine aktive Infektion
- Schriftliche Einwilligung zur Studienteilnahme

Dagegen gab es folgende Ausschlusskriterien:

- Nicht erfüllte Einschlusskriterien
- Bekannte HIV oder aktive Hepatitis B- oder C-Infektion
- Schwangerschaft
- Klinisch instabile Patienten (z.B. kardiovaskuläre Instabilität)
- Lebenserwartung unter 12 Monaten
- Bekannte Gerinnungsprobleme
- Gleichzeitige Teilnahme an anderen Studien, die mit der durchgeführten Studie interferierten

2.4. Dialysegeräte/ extrakorporales System/ Wasseraufbereitung

Im Rahmen der Studie kamen ausschließlich Gambro-Hämodialysegeräte vom Typ AK 200 Ultra S (Gambro Lundia AB, Lund, Schweden) zur Anwendung. Die Reinigung des zuvor umkehrosmotisch aufbereiteten, zugeführten Wassers (Permeat) zur Zubereitung ultrareiner Dialysierflüssigkeit geschah „online“ durch bauartgerechte Ausstattung der Geräte mit zwei redundanten Sterifiltern (Gambro® U 8000™ S Ultrafilter).

Zur Zubereitung des Dialysats wurden Natriumbikarbonat-Trockenkartuschen (Bicart® Select®-Konzentrate, Gambro Hospal GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) und in Einwegkanistern vorgefertigte Dialysekonzentratlösung (Saures Hämodialysekonzentrat, MTN Neu-Brandenburg GmbH, Deutschland) verwendet.

Bei allen Dialysen dieser Studie wurden Blutschlauchsysteme der Firma Gambro Lundia AB, Schweden, verwendet. Im Rahmen der HDF-Behandlungen kam darüber hinaus jeweils ein Ultra SteriSet® (Gambro Lundia AB, Schweden, Art-Nr.: 103564) zur doppelt redundanten Ultrareinfiltration der „online“ produzierten Infusionslösung zur Anwendung.

2.5. Versuchsdialysator

In dieser Studie wurde ein High-flux-Dialysator (VitaPES® 210 HF, mtp GmbH, Pirna, Deutschland) verwendet, in dem eine synthetische High-Flux-Hohlfaser-Dialysemembran (PUREMA® H, Membrana GmbH, Wuppertal, Deutschland) der letzten Generation zum Einsatz kam. Diese hochgradig biokompatible Dialysemembran bestand aus einem Polyethersulfon (PES)/Polyvinylpyrrolidon-Gemisch. Die Oberflächengröße des Hohlfasersystems in den betasterilisierten Dialysatoren betrug 2,1 m².

2.6. Versuchsdurchführung

Die Studie umfasste den Vergleich von HD und Prä-HDF mit der HDF-IPIS, bei der die Natriumchlorid- (NaCl-) Konzentration in der Prädilutionsinfusionslösung erhöht wurde, um regional eine erhöhte Ionenstärke im Plasma zu erzielen. Jeder der acht in die Studie eingeschlossenen Patienten wurde jeweils einmal mit jedem der Modi in standardisierter Form therapiert. Die Behandlungsdauer betrug jeweils 240 min. Der Blutfluss wurde bei allen drei Behandlungen auf 250 ml/min und der reelle Dialysatfluss (= eingestellter Dialysatfluss minus Infusionsfluss bei HDF) auf 575 ml/min eingestellt. Bei beiden HDF-Formen wurde ein Prädilutions-Infusionsfluss von 125 ml/min angelegt und während der gesamten Versuchsdauer konstant beibehalten. Zum Versuchsende nach 240 Minuten wurde vor der letzten Probennahme der Blutfluss für 30 Sekunden auf 50 ml/min reduziert und der Dialysatfluss abgestellt.

Die erhöhte Ionenstärke bei der HDF-IPIS wurde durch kalkulierte Infusion einer sterilen, hypertonen NaCl-Lösung (5000 mmol/l NaCl) in die Prädilutionslösung erreicht. Diese Infusion wurde so eingestellt, dass ein Na⁺-Zielwert von 240 mmol/l im Plasma vor dem Eintritt im Dialysator erreicht wurde. Zur maximalen Entfernung des infundierten Na⁺ wurde die [Na⁺] im Dialysat auf das technisch machbare Minimum von 130 mmol/l reduziert.

Aus der Routinebehandlung wurde die patientenspezifische Antikoagulation übernommen und erfolgte bei sechs Patienten mit unfraktioniertem Heparin-Natrium

(Rotexmedica, Trittau, Deutschland), das nach initialem Bolus anschließend kontinuierlich während der Behandlung infundiert wurde. Zwei Patienten erhielten niedermolekulares Heparin (Dalteparin-Natrium, FRAGMIN® D 2500 I.E./ml, Pfizer Pharma GmbH, Karlsruhe, Deutschland) als einmalige Initialdosis vor der Dialyse.

Vor Beginn der Dialyse wurde der extrakorporale Kreislauf mit 1500 ml isotonischer Kochsalzlösung entlüftet und gespült. Um den Blutverlust des Patienten durch zurückbleibendes Blut im Schlauchsystem zu verhindern, wurde am Versuchsende mit 200 ml bis maximal 300 ml isotonischer Kochsalzlösung rückgespült.

2.6.1. Handhabung der Kochsalz-Infusion

Für die sterile, hypertone (5000 mmol/l) NaCl-Lösung, die während der Prä-HDF eingebracht wurde, wurden speziell für diese Studie von der Universität Würzburg gemäß des 7. Europäischen Arzneibuches 58,44 g/mol reinstes NaCl (Firma Merck, Darmstadt, Deutschland; Produkt Nr. 6400) in Wasser aufgelöst, in 1000 ml Flaschen abgefüllt, autoklaviert und auf Sterilität und Pyrogenfreiheit getestet.

Pro HDF-IPIS-Behandlung wurden drei Flaschen zu je 1 l NaCl-Lösung verbraucht. Diese Flaschen wurden an Infusionsständern neben der Dialysemaschine aufgehängt, über einen Multi-Verteilungsadapter (Multidivider C-900, Artikelnr.: 101487, ETO-Sterilisation, Gambro Hospal GmbH, Gröbenzell, Deutschland) zusammengeschlossen und mit einem Prädilutionsadapter (Adapter for Predilution, Artikelnr.: 7210559, ETO-Sterilisation, B. Braun Medical AG, Sempach, Schweiz) verbunden, der nach Anschluss an den arteriellen Schenkel die Zugabe der 5000 mmol/l Kochsalzlösung zur Prädilutionslösung und somit die Durchführung der Prädilutionstherapie ermöglichte. Über den Prädilutionsadapter erfolgte dann auch die Entnahme der Blutprobe, die der Überprüfung des Elektrolytverlaufes im Plasma vor Eintritt in den Dialysator diente.

Die Kochsalz-Infusionsrate Q_{NaCl} , die nötig war, um den Zielwert für die im Plasma nach Infusion vorliegende $[\text{Na}^+]$ zu erreichen, wurde anhand folgender Gleichung abgeschätzt:

$$Q_{NaCl} = \frac{[Na^+]_{target} \times (Q_B + Q_{inf}) - C_D \times Q_{inf}}{C_{NaCl} + C_D} \left[\frac{ml}{min} \right],$$

wobei Q_B für den Blutfluss, Q_{inf} für die Infusionsrate, C_{NaCl} und C_D für die $[Na^+]$ in der Kochsalzlösung bzw. im Dialysat stehen. Die genannten Parameter blieben über die gesamte Dialysedauer konstant.

Die $[Na^+]$ im Plasma wurde potentiometrisch an einem Cobas b 123 POC Blutgassystem (Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, Deutschland) gemessen.

Der Na^+ -Massentransfer während der Behandlung wurde anhand einer Clearance-Berechnung auf Grundlage der arteriell und venös gemessenen $[Na^+]$ kalkuliert (Krieter et al., 2010). Die Netto- Na^+ -Entfernung während der Dialyse wurde anhand der $[Na^+]$ im Plasma und dem Körperflüssigkeitsvolumen vor und nach der Dialyse gemäß Locatelli et al. (1998) berechnet.

2.6.2. Blutprobenentnahme

Tab. 1 und Tab. 2 zeigen Schemata zu Art und Zeitpunkt der Blutentnahmen. Die Abnahmen zum Zeitpunkt 0 min erfolgten direkt aus der Punktionsnadel nach der Shuntpunktion. Im Verlauf der Versuchsdurchführung wurden arterielle Abnahmen (a) stets aus dem integrierten Abnahmeport des arteriellen Schlauches, venöse Abnahmen (v) aus dem integrierten Abnahmeport des venösen Schlauches des extrakorporalen Systems entnommen. Intermediäre Abnahmen (int) während der HDF-IPIS erfolgten aus einem Abnahmeport (Adapter for Predilution, Artikelnummer: 7210559, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland), der nach der Infusion noch vor dem Dialysator ins extrakorporale System eingebracht wurde.

Zur Probengewinnung kam das Blutmonovettensystem der Firma Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland) zur Anwendung. In die für die Bestimmung der Urämietoxine vorgesehenen Monovetten wurde zuvor 1 mg Tetrahydrolipstatin eingefüllt, um eine durch Heparin bedingte Aktivierung der Lipoproteinlipase im Plasma zu verhindern (Krieter et al., 2010).

Zur Bestimmung der jeweiligen Parameter im Plasma (alle außer Elektrolyte und Blutbild) wurden die entsprechenden Proben zentrifugiert, das überstehende Plasma anschließend in Eppendorf-Reagiergefäße (1,5 ml, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) pipettiert und bei -20 °C bis zur Weiterbearbeitung eingefroren.

Performance	Abnahmemenge	0 min	30 min	240 min
Clearance, Reduktionsratio: pCS, IS	2,7 ml	a	a/v	a/v
Kleinmolekulare Clearance: Harnstoff, Phosphat	7,5 ml (0min) / 4 ml	a	a/v	a/v
Mittelmolekulare Clearance: β2M, Myoglobin, Kreatinin		a	a/v	a/v
Reduktionsratio: Harnstoff, β2M, Myoglobin	-	a		a
Masse im Dialysat: Harnstoff, β2M, Albumin, pCS, IS	Kontinuierliche Dialysatsammlung			

Tab. 1: Art und Zeitpunkt der Blutentnahmen für die Performancemessungen. a = arterieller Schenkel, v = venöser Schenkel des Blutschlauchsystems

Messungen zu Elektrolytverlauf und Hämokompatibilität	Abnahmemenge	Abnahmezeitpunkte & -orte								
		0 min	5 min	10 min	15 min	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
Elektrolyte: Na, K ⁺ , Cl ⁻ , pH, BE	1 ml Heparin	a	-	-	-	a/v int	a/v int	a/v int	a/v int	a/v int
Blutbild: Thrombozyten, Leukozyten	1,2 ml EDTA	a	a	a	a	a	a	a	-	a
Komplementfaktor C5a	1,2 ml EDTA	v	v	v	v	v	v	v	-	v
Thrombin-Antithrombin-III-Komplex	1,2 ml Citrat	v	-	-	-	-	v	v	v	v
Laktatdehydrogenase	1,2 ml EDTA	a	-	-	-	a	a	a	a	-
Freies Hämoglobin	2,7 ml EDTA	a	-	-	-	a	a	a	a	-

Tab. 2: Art und Zeitpunkt der Blutabnahmen für Elektrolytverlauf und Hämokompatibilität.
a = arterieller Schenkel, v = venöser Schenkel des Blutschlauchsystems, int = nach der Infusion, jedoch vor dem Dialysator

2.6.3. Dialysatsammlung

Ein Teil des Dialysats wurde während der Versuchsdurchführung durch ein spezielles Pumpenschlauchsystem (A/V 2001, Medizintechnik Promedt GmbH, Tornesch, Deutschland) mittels einer hochpräzisen Schlauchpumpe (IPC, Ismatec, Glattbrugg-Zürich, Schweiz) mit einer Rate von 10 ml/min in einem Sammelbehälter aufgefangen, wobei

das Dialysat vom abführenden Dialysatschlauch abgezweigt wurde. Aus dem gesammelten Dialysat wurden bei Versuchsende nach Durchmischung Proben entnommen und mit einer Transferpipette (3,5 ml, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) in vier Eppendorf-Reagiergefäßen (1,5 ml, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) bei -20 °C bis zur Probenmessung eingefroren. Das restliche Dialysat wurde verworfen.

2.7. Analysen in Blut und Dialysat

2.7.1. Behandlungseffizienz

Die **Tab. 3**, **Tab. 4** und **Tab. 5** geben einen Überblick über die Methoden zur Bestimmung der Performanceparameter, der Hämokompatibilitätsmarker und der Urämetoxine.

2.7.1.1. Elektrolyte und Blutgase

Die Blutproben wurden nach Protokoll mit einer Einmalspritze (3 ml Omnifix® Luer, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland), die mit Heparin zur Gerinnungshemmung benetzt war, arteriell, venös und intermediär (nach der Infusion, vor dem Dialysator nur bei HDF-IPIS) abgenommen. Zur Analyse von pH, Blutgasen und Elektrolyten (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+}), Hämatokrit und Hämoglobin kam das Cobas b 123 POC Blutgassystem (Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, Deutschland) zur Anwendung. Dabei wurden die Proben direkt am Versuchsort unmittelbar nach der Abnahme gemessen. Die Plasmaproben aus der Abnahmestelle zwischen Prädilution und Dialysator bei der HDF-IPIS wurden mit ultrareinem Wasser verdünnt, welches von einem Wasseraufbereitungssystem Barstead Nanopure Water Preparation System (D11931; ThermoFisher Scientific, Langenselbold, Germany) hergestellt wurde.

2.7.1.2. Kleinmolekulare Substanzen

Die Bestimmung der Konzentration von Harnstoff (60 Da), Phosphat ($\text{PO}_4 = 95$ Da) und Kreatinin (113 Da) im Plasma bzw. Dialysat erfolgte mittels photometrischer Analyse am cobas c 111 Analyzer (Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, Deutschland). Zur Messung wurden die zuvor bei -20 °C gelagerten Proben im Wasserbad für 10 min

bei 37 °C aufgetaut. Eine Übersicht über Probenart und die jeweils darin gemessenen Parameter findet sich in **Tab. 1**.

2.7.1.3. Mittelmolekulare Proteine und Albumin

Die Konzentration von β 2M (11,8 kDa), Myoglobin (17,8 kDa), und Albumin (66 kDa) im Plasma bzw. Dialysat wurde nephelometrisch mittels BN ProSpec® System (Seriennummer 333449, Siemens Healthcare Diagnostics Product GmbH, Marburg, Deutschland) bestimmt. Zur Messung wurden die zuvor bei -20 °C gelagerten Proben im Wasserbad für 10 min bei 37 °C aufgetaut.

2.7.1.4. Proteingebundene Urämietoxine

Die Messung der proteingebundenen Urämietoxine pCS und IS fand mit Hilfe der Reverse-Phase-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC) statt. Es wurde sowohl der freie als auch der proteingebundene Anteil der Urämietoxine im arteriellen und venösen Schenkel sowie die Gesamtmenge der Toxine im Dialysat bestimmt.

Zur Probengewinnung wurden S-Monovetten® EDTA 2,7 ml (1,6 mg EDTA/ml Blut) verwendet, in denen 1 mg Tetrahydrolipstatin vorgelegt wurde, um eine durch Heparin bedingte Aktivierung der Lipoproteinlipase im Plasma zu verhindern und der Entstehung freier Fettsäuren entgegen zu wirken, welche mit den proteingebundenen Urämietoxinen um deren Bindungsstelle konkurrieren und eine geringere Proteinbindung der Toxine suggerieren. Zur Bestimmung der Urämietoxine erfolgte die Zentrifugation einer unverdünnten Plasmaprobe mit anschließender Messung im Überstand. Die Gesamtkonzentration der jeweiligen Urämietoxine wurde in 1:5 verdünnten Plasmaproben (100 μ l Plasma + 400 μ l PBS pH 7,4) gemessen. Die verdünnte Plasmaprobe wurde einer Hitzedenaturierung im Wasserbad bei 95 °C für 30 min zugeführt, um eine Lösung der gebundenen Urämietoxine aus ihrer Eiweißbindungen zu erreichen. Die Probe wurde für 10 min auf Eis abgekühlt, woraufhin sich zwei Zentrifugationsschritte für 10 min bzw. 30 min bei 10 000 g, anschlossen. Um verbleibende größere Proteine zu entfernen wurde der Überstand mit 30 kDa Filtereinheiten ultrafiltriert (VWR centrifugal filter, VWR International, Darmstadt, Deutschland). Die derartig aufbereitete Probe wurde der

RP-HPLC-Messung zugeführt. Das Verfahren der Hitzedenaturierung ermöglicht eine Bestimmung von pCS und IS (Krieter et al., 2010), wohingegen bei der Anwendung der sauren Hydrolyse nur eine Messung von unkonjugiertem Paracresyl erreicht wird (Lesaffer et al., 2000). Die Hitzedenaturierung der Dialysatproben fand im unverdünnten Zustand statt.

Beim Trennverfahren der RP-HPLC unterscheidet man eine mobile von einer stationären Phase. Dabei wird eine Probe (mobile Phase) durch eine sogenannte Trennsäule (stationäre Phase) gepumpt (Gynkotek HPLC System, Pumpe M480, Column Thermostat STH 585, Germering, Deutschland mit dem Entgaser ERC-3315, ERC GmbH, Riemerling, Deutschland), die in diesem Falle der RP-HPLC eine hydrophobe, unpolare C18-Säule (ProntoSIL® Hypersorb, 250 x 4.6 mm, ODS 3.0 µm; Bischoff Chromatography, Leonberg, Deutschland) enthielt. Dieses Verfahren ermöglicht eine Detektion verschiedener Substanzen der mobilen Phase entsprechend ihrer Wechselwirkung mit der stationären Phase. Die Dauer der Wechselwirkung - und damit das Wandern der Substanz durch die Säule - ist abhängig von der Polarität der mobilen Phase und wird als Retentionszeit wiedergegeben.

Zur Bestimmung der Retentionszeit wurde mittels eines Fluoreszenzdetektors (Spectrofluorometric RF-551 Detector, Shimadzu, Kyoto, Japan), (UV-VIS Detector UVD 340 U, Dionex GmbH, Germering, Germany) das Austreten der Urämietoxine aus der stationären Phase detektiert. Die Messung des freien Anteils in den Plasmaproben und des Verhältnisses Gesamtanteil/freier Anteil in den Dialysatproben erfolgte mit einer Standardgeraden, bei der PBS als wässrige Matrix verwendet wurde. Dabei wurde im Dialysat die Gesamtmenge der Toxine bestimmt. Die Messung des Gesamtanteils der Urämietoxine im Plasma erfolgte anhand einer Standardgerade von 1:5 verdünntem Plasma. Zur Auswertung der Messwerte diente die Software Chromeleon (Version 6.80; Dionex Corporation, Sunnyvale, USA).

2.7.2. Häkompatibilität

2.7.2.1. Blutbild

Die quantitative Bestimmung der Blutzellen erfolgte mit dem ABX Pentra 60 C+ (Agon Lab AG, Reichenbach/Stuttgart, Deutschland) am Tag der jeweiligen Versuchsdurchführung. Die Blutabnahme geschah am arteriellen Schenkel der Dialyse unter Verwendung der S-Monovetten® EDTA 1,2 ml (1,6 mg EDTA/ml Blut). Es fand eine Kontrolle von Leukozyten ($10^3/\mu\text{l}$), Thrombozyten ($10^3/\mu\text{l}$), Hämoglobinkonzentration (g/dl), Hämatokrit (%) und mittlerem Erythrozytenvolumen (μm^3) (MCV) über die Zeit statt.

2.7.2.2. Freies Hämoglobin

Die Probennahme erfolgte in S-Monovetten® EDTA 1,2 ml (1,6 mg EDTA/ml Blut). Zur Bestimmung der Konzentration des freien Hämoglobins wurde das Blutplasma nach Zentrifugieren für 10 Minuten bei 2000 g und 4 °C abpipettiert und im Verhältnis 1:5 mit NaCl-Lösung 0,9 % verdünnt. Die Messung des freien Hämoglobins geschah anschließend mittels direkter Spektralphotometrie mit Hilfe des Gerätes UV-1650 PC (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) bei Wellenlängen von 560 nm, 676 nm und 592 nm unter Verwendung von Küvetten mit 1 cm Schichtdicke. Als Referenz diente eine Plasmaprobe vor Behandlungsbeginn, ebenso verdünnt im Verhältnis 1:5. Bei einer Extinktion > 1,3 erfolgte eine weitere Verdünnung von Probe und Referenz. Gemäß der Formel von Cripps (1968) wurde der Hämoglobingehalt in mg/dl Plasma folgendermaßen errechnet: Hämoglobin in mg/dl * Konstante = $(2 * E_{576 \text{ nm}}) - (E_{560 \text{ nm}} + E_{592 \text{ nm}})$. Die Konstante ergab sich dabei aus der Funktion der Referenzkurve. Der errechnete Anteil freien Hämoglobins im Plasma wurde anschließend ins Verhältnis zum Hämoglobin-Ausgangswert gesetzt.

2.7.2.3. Laktatdehydrogenase

Die Probensammlung erfolgte in S-Monovetten® EDTA 1,2 ml (1,6 mg EDTA/ml Blut), die Bestimmung der Konzentration der LDH erfolgte nach Zentrifugation aus Blutplasma mit Hilfe des Cobas c 111 analyzer (Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim).

2.7.2.4. Komplementfaktor C5a und Thrombin-Antithrombin-III-Komplex

Die Abnahme der Proben zur Messung von C5a und TAT erfolgte mit Hilfe der Sarstedt S-Monovette® EDTA 1,2 ml (1,6 mg EDTA/ml Blut) für C5a bzw. der S-Monovette® 1,4 ml Citrat 3,2 % für TAT. Die Blutproben wurden anschließend bei 2–10 °C für 10 min zentrifugiert, das Blutplasma in Eppendorf-Reagiergefäße (1,5 ml, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) pipettiert und anschließend bei -20 °C bis zur Messung gelagert.

Zur Bestimmung von C5a und TAT wurden die Plasmaproben bei Raumtemperatur aufgetaut und anschließend ein entsprechender Sandwich-ELISA für C5a (DRG C5a ELISA, DRG Instruments GmbH, Marburg, Deutschland) bzw. TAT (Testkit Enzygnost® TAT micro, Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Germany) durchgeführt.

Parameter	Testmethode	Hersteller	Testbezeichnung
β2-Mikroglobulin	Immunnephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer (BN) Prospeclatex enhanced
Myoglobin	Immunnephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer (BN) Prospeclatex enhanced
Albumin	Immunnephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer (BN) Prospeclatex enhanced
Harnstoff	Photometrie	Roche Diagnostics GmbH	Cobas c 111
Phosphat	Photometrie	Roche Diagnostics GmbH	Cobas c 111
Kreatinin	Photometrie	Roche Diagnostics GmbH	Cobas c 111

Tab. 3: Überblick über die Bestimmung der Performanceparameter in Plasma und Dialysat

Parameter	Testmethode	Hersteller	Testbezeichnung
Komplementfaktor C5a	ELISA	DRG Instruments GmbH	Enzygnost C5a micro
Thrombin-Antithrombin-III-Komplex	ELISA	DRG Instruments GmbH	Enzygnost TAT micro
Laktatdehydrogenase	Photometrie	Roche Diagnostics GmbH	Cobas c 111
Freies Hämoglobin	Spektralphotometrie	Shimadzu UV-1650 PC	-

Tab. 4: Überblick über die Bestimmung der Biokompatibilitätsparameter im Plasma

Parameter	Testmethode	Hersteller	Testbezeichnung
Paracresylsulfat	RP-HPLC	Bischoff Analystechnik und -geräte GmbH	Verteilungschromatographie (Reversed Phase, RP)
Indoxylsulfat	RP-HPLC	Bischoff Analystechnik und -geräte GmbH	Verteilungschromatographie (Reversed Phase, RP)

Tab. 5: Überblick über die Bestimmung der proteingebundenen Urämietoxine im Blutplasma und Dialysat

2.8 Berechnung der Behandlungseffizienz

Die Entfernung des freien und gebundenen Anteils der Urämietoxine wurde anhand von Reduktionraten, dialytischer Clearance und Masse im Dialysat bestimmt (Krieter et al., 2010).

Die Reduktionsratio (RR) der proteingebundenen Toxine und von β 2M wurden anhand der Formel

$$RR = \frac{C_0 - C_f}{C_0} \times 100 [\%]$$

bestimmt, wobei C_0 und C_f die Substratkonzentration zu Beginn bzw. am Ende der Behandlung beschreiben. C_f wurde dabei entsprechend der extrazellulären Volumenveränderungen, die während der Dialyse auftreten, von der Konzentration, die nach 240 min gemessen wurde, korrigiert. Dies geschah unter Berücksichtigung der Unterschiede der Hämatokritwerte vor und nach der Behandlung (Schneditz et al., 2012). Für β 2M wurde C_f (Konzentration am Ende der Behandlung) entsprechend der Unterschiede des Gewichts vor (BW_{pre}) und nach (BW_{post}) Behandlung von dessen Konzentration nach 240 min (C_{240}) gemäß der Formel

$$C_f = \frac{C_{240}}{1 + \frac{(BW_{pre} - BW_{post})}{0,2 \times BW_{post}}} [\mu M]$$

korrigiert (Bergstrom et al., 1987; Basile et al., 1990).

Zuverlässige Clearances der proteingebundenen Toxine aus den Konzentrationen vor und nach dem Dialysator zu erhalten, stellt eine Herausforderung dar, da die Konzentrationsunterschiede sehr gering sind (Martinez et al., 2005). Daher wurde die dialytische Clearance der proteingebundenen Toxine errechnet, indem die Masse der Toxine im Dialysat (M_{Dial}) durch den Logarithmus der Vor- und Nach-Behandlungs-Werte des Toxins im Plasma und der Behandlungsdauer dividiert wurde (Bammens et al., 2004).

Die Masse der Toxine im Dialysat (M_{Dial}) wurde aus dem Teil des Dialysats bestimmt, der durch kontinuierliche Sammlung von 10 ml/min während der gesamten Behandlungsdauer (t) abgezweigt wurde. Die Konzentration der Toxine (C_{Dial}) wurde aus einem Aliquot bestimmt. M_{Dial} wurde folgendermaßen bestimmt:

$$M_{Dial} = C_{Dial} \times (Q_D + Q_{UF}) \times t \text{ [\mu M]}.$$

Kt/V wurde entsprechend des Single-Pool-Modells nach der Formel von Daugirdas (1993) berechnet.

2.9 Datenanalyse

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe von „Minitab 15 Statistical Software“ (Minitab, State College, PA, USA)

Die deskriptive Statistik der Ergebnisse umfasste die Berechnung von Mittelwerten \pm Standardabweichung oder Median und Spannweite. Die statistische Signifikanz wurde anhand einer Varianzanalyse (ANOVA) und eines Post-hoc-Tests nach Tukey für normalverteilte Proben ermittelt. Wenn keine Normalverteilung vorlag, dann wurde der Kruskal-Wallis-Test (H-Test) angewendet. Unterschiede mit einem Signifikanzniveau ab $P < 0,05$ wurden als statistisch signifikant gewertet.

3. Ergebnisse

3.1. Patientencharakterisierung

Tab. 6 zeigt die Charakterisierung der in die Studie eingeschlossenen Patienten. Vier weibliche und vier männliche Patienten nahmen an der Studie teil. Ihr Alter reichte von 41 bis 78 Jahren (Mittelwert 60 ± 14 Jahre). Das Körpergewicht der Patienten vor Beginn der Dialyse betrug bei der HD $68,9 \pm 6,7$ kg, bei der HDF $69,3 \pm 7,4$ kg und bei der HDF-IPIS $69,3 \pm 7,7$ kg. Die Dauer der Dialysepflichtigkeit reichte von 15 bis 243 Monaten (Mittelwert 91 ± 69 Monate). Alle Patienten verfügten über eine arterio-venöse Fistel als Dialysezugang. Die Hälfte der Patienten wies keine Nierenrestfunktion mehr auf. Zur terminalen Niereninsuffizienz führte bei zwei Patienten eine fokal-segmentale Glomerulosklerose, bei den anderen Patienten lagen jeweils eine diabetische Nephropathie, eine hypertensive Nephropathie, eine chronische Glomerulonephritis, eine autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung, eine Nephroangiosklerose bzw. Schrumpfnieren unklarer Genese vor.

3.2. Klinische Beobachtungen

Sämtliche Behandlungen wurden gut vertragen, es traten keine Nebenwirkungen wie Hypotonie oder wesentliche Koagulationen im extrakorporalen System auf. Zwischen den Behandlungen gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich des mittleren arteriellen Blutdrucks, weder vor (HD = 94 ± 13 mmHg, HDF = 97 ± 26 mmHg, HDF-IPIS = 91 ± 15 mmHg), nach (HD = 82 ± 11 mmHg, HDF = 87 ± 19 mmHg, HDF-IPIS = 85 ± 15 mmHg), noch vor der nächsten, routinemäßig geplanten Dialyse (HD = 98 ± 12 mmHg, HDF = 97 ± 15 mmHg, HDF-IPIS = 95 ± 14 mmHg). Innerhalb der jeweiligen Behandlung wurde nur bei der HD eine signifikante Abnahme des MAP nach der Behandlung festgestellt ($P_{HD} = 0,013$; $P_{HDF} = 0,142$; $P_{HDF-IPIS} = 0,106$). Nach der Behandlung lag das Gewicht bei der HD bei $66,9 \pm 6,5$ kg, bei der HDF bei $67,6 \pm 7,4$ kg und bei der HDF-IPIS bei $67,3 \pm 7,6$ kg. Für die Gewichtszunahme vor den Studienbehandlungen und vor der jeweils nächsten Behandlung ließen sich ähnliche Beträge bei den drei Verfahren beobachten (vor Studienbeginn HD = $2,1 \pm 0,5$ kg, HDF = $2,0 \pm 0,8$ kg, HDF-IPIS = $2,2 \pm 1,1$ kg

vs. nächste HD = $1,9 \pm 0,9$ kg ($P = 0,438$), HDF = $2,1 \pm 0,7$ kg ($P = 0,738$), HDF-IPIS = $2,1 \pm 1,6$ kg ($P = 0,822$)).

3.3. Behandlungscharakterisierung

Die Behandlungsdauer der drei Verfahren betrug jeweils 240 ± 0 min. Der Blutfluss Q_B lag für alle drei Behandlungen bei 250 ± 0 ml/min, der reelle Dialysatfluss Q_D bei 575 ± 0 ml/min. Der Substitutionsfluss Q_{inf} betrug bei der HDF 125 ± 0 ml/min. Die Parameter blieben über die gesamte Dauer der Behandlung konstant. Die Netto-Ultrafiltrationsvolumina lagen mit 2231 ± 277 ml/h (HD), 2123 ± 588 ml/h (HDF) und 2228 ± 684 ml/h (HDF-IPIS) auf einem vergleichbaren Niveau.

Patienten-initialen	Alter & Geschlecht	Rest diurese (ml)	Trockengewicht (kg)	AV-Fistel	Heparingesamtdosis [I.E.]	Dialyse seit (Monate)	Renale Grunderkrankung	Wesentliche Begleiterkrankung
R.Wo.	46 f	0	61,0	Linker Unterarm	4500 (Fragmin)	243	Fokal-segmentale Glomerulosklerose	Renale Hypertonie
K.T.	78 f	700	70,0	Rechter Unterarm	3000 (Fragmin)	83	Fokal-segmentale Glomerulosklerose	-
W.F.	47 m	0	74,5	Linker Unterarm	6000	100	Chronische Glomerulonephritis	-
L.N.	60 m	600	81,0	Linker Unterarm	11000	105	Autosomal-dominante-polyzystische Nierenerkrankung	-
A.A.	64 f	900	62,0	Rechter Unterarm	6000	15	Diabetische Nephropathie	-
H.S.	41 f	650	56,0	Rechter Unterarm	6500	95	Schrumpfnieren unklarer Genese	-
R.We.	72 m	0	68,5	Rechter Unterarm	7000	45	Hypertensive Nephropathie	-
C.L.	73 m	0	66,0	Linker Unterarm	8500	45	Nephroangiosklerose	-

Tab. 6: Detaillierte Charakterisierung der in die Studie eingeschlossenen Patienten

Aus der Routinetherapie wurde die patientenspezifische Antikoagulation übernommen und erfolgte bei sechs Patienten mit unfraktioniertem Heparin-Natrium (Rotexmedica GmbH, Trittau, Deutschland), das nach einem initialen Bolus anschließend kontinuierlich während der Behandlung infundiert wurde. Zwei Patienten erhielten niedermolekulares Heparin (Dalteparin-Natrium, FRAGMIN® D 2500 I.E./ml, Pfizer Pharma GmbH, Karlsruhe, Deutschland) als einmalige Initialdosis vor der Dialyse.

3.4. Entfernung proteingebundener Toxine

3.4.1. Paracresylsulfat

In Tab. 7 sind die Plasmakonzentration vor und nach der Behandlung, die dialytische Clearance und die Masse im Dialysat für freies und gebundenes pCS dargestellt. Die Plasmakonzentration des proteingebundenen Anteils von pCS bei der HDF-IPIS verringerte sich um 42 % im Verlauf der Behandlung, im Vergleich zu 36 % bei der HDF bzw. 37 % bei der HD. Der freie Anteil verringerte sich bei der HDF-IPIS um 71 %, im Vergleich zu 70,5 % bei der HDF bzw. 57 % bei der HD. Signifikante Unterschiede konnten nicht nachgewiesen werden. Der proteingebundene Anteil von pCS betrug vor der Behandlung bei der HD $92,8 \pm 1,89$ %, bei der HDF $92,3 \pm 1,9$ % und bei der HDF-IPIS vor Behandlungsbeginn $93,5 \pm 2,0$ %. Nach der Behandlung betrug der proteingebundene Anteil pCS für HD $95,8 \pm 3,81$ %, HDF $96,7 \pm 5,75$ % und HDF-IPIS $96,9 \pm 6,6$ %.

Auch die Masse im Dialysat ($P = 0,309$) und die dialytischen Clearances für freies und gesamtes pCS ($P_{frei} = 0,122$; $P_{ges} = 0,241$) unterschieden sich zwischen den Behandlungen nicht signifikant voneinander.

Paracresylsulfat		HD	HDF	HDF-IPIS
Prä (mg/l)	Gesamt	21,0 ± 10,0	22,1 ± 13,7	21,4 ± 9,1
	Gebunden	19,5 ± 9,3	20,4 ± 12,5	20,0 ± 8,4
	Frei	1,4 ± 0,7	1,7 ± 1,2	1,4 ± 0,8
Post (mg/l)	Gesamt	14,3 ± 7,7	15,0 ± 11,0	13,2 ± 7,1
	Gebunden	13,7 ± 7,2	14,5 ± 10,6	12,8 ± 7,0
	Frei	0,6 ± 0,4	0,5 ± 0,4	0,4 ± 0,3
Dialytische Clearance (ml/min)	Gesamt	20,5 ± 9,3	20,8 ± 13,7	21,4 ± 10,7
	Frei	30,8 ± 12,8	31,5 ± 18,7	33,5 ± 14,9
Masse im Dialysat (mg)	Total	76,8 ± 35,8	77,5 ± 55,8	78,4 ± 42,7

Tab. 7: Konzentration vor (Prä) und nach (Post) der Behandlung, dialytische Clearance und Masse im Dialysat von pCS frei und gesamt im Plasma und Dialysat

In Abb. 2 finden sich die RR für freies und gesamtes pCS dargestellt. Die höchste RR für freies pCS wurde bei der HDF-IPIS beobachtet wurde. Sie war um 11 % bzw. 1 % größer im Vergleich mit der HD bzw. HDF. Es lag kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Behandlungsverfahren vor ($P = 0,193$). Die RR für das gesamte pCS lag bei der HDF-IPIS um 8 % bzw. 6 % höher jeweils im Vergleich zu HD bzw. HDF, ebenfalls, ohne dass ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Behandlungsverfahren zu ermitteln war ($P = 0,335$).

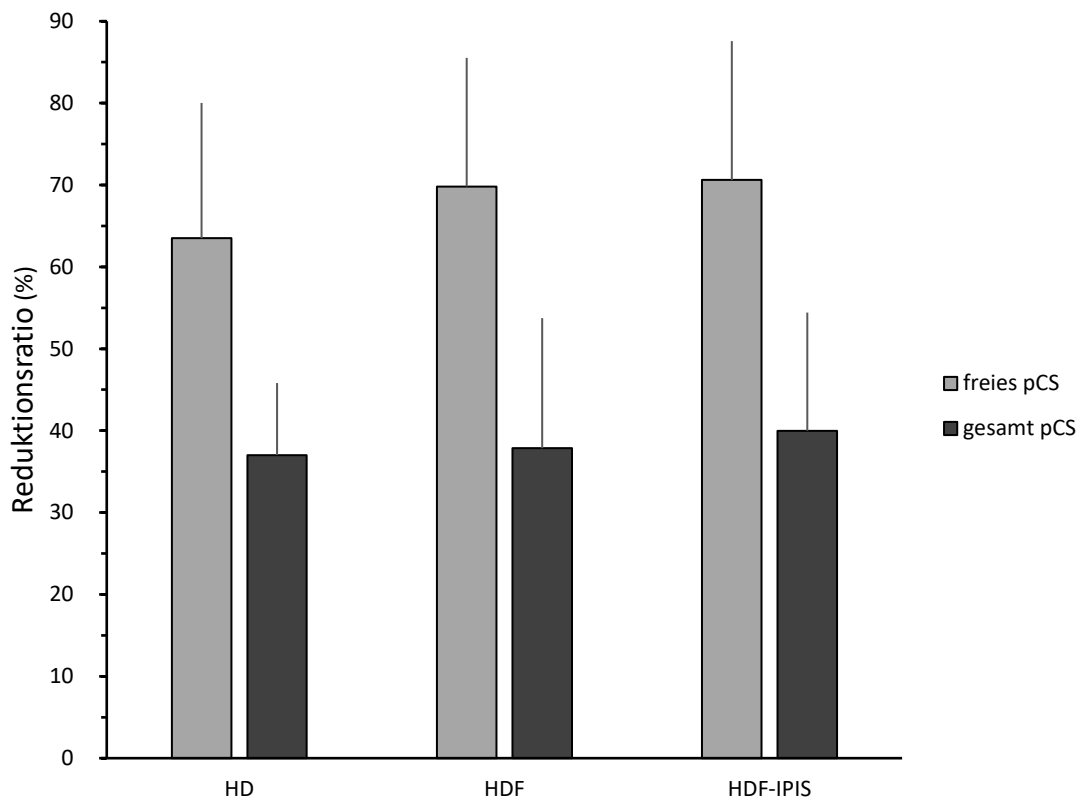


Abb. 2: Reduktionsratio pCS frei und gesamt im Plasma, Hämatokrit-korrigiert.

3.4.2. Indoxylsulfat

Die Plasmakonzentrationen für freies und gebundenes IS, die dialytische Clearance und die Masse im Dialysat befinden sich in Tab. 8. Die Plasmakonzentration des proteingebundenen Anteils von IS verringerte sich bei HDF-IPIS um 50 % im Verlauf der Behandlung im Vergleich zu jeweils 45 % bei HDF und HD. Unterschiede zwischen den Behandlungen ergaben sich nicht. Der freie Anteil von IS verringerte sich bei der HDF-IPIS um 71 %, im Vergleich zu 70,0 % bei der HDF bzw. 57 % bei der HD (siehe Abb. 3). Der proteingebundene Anteil von IS betrug vor der Behandlung bei der HD $89,7 \pm 3,0$ %, bei der HDF $89,7 \pm 2,8$ % und bei der HDF-IPIS vor Behandlungsbeginn $89,6 \pm 3,2$ %. Nach der Behandlung lag der proteingebundene Anteil für IS für die HD bei $77,9 \pm 4,8$ %, für die HDF bei $78,5 \pm 5,0$ % und für die HDF-IPIS bei $78,9 \pm 10,5$ %.

Die Masse von IS im Dialysat unterschied sich gerade nicht signifikant zwischen den Behandlungen.

Die dialytische Clearance für freies IS während der HDF-IPIS Behandlung war um 37 % bzw. 24 % größer als bei der HD bzw. HDF und unterschied sich signifikant ($P = 0,017$) von diesen beiden Behandlungsverfahren. Für das gesamte IS unterschied sich die dialytische Clearance zwischen den einzelnen Verfahren nicht signifikant voneinander.

Indoxylsulfat		HD	HDF	HDF-IPIS
Prä (mg/l)	Gesamt	13,6 ± 6,5	12,6 ± 5,0	13,4 ± 4,5
	Gebunden	12,2 ± 5,7	11,3 ± 4,3	12,0 ± 3,8
	Frei	1,4 ± 0,9	1,3 ± 0,8	1,4 ± 0,8
Post (mg/l)	Gesamt	8,6 ± 5,0	7,9 ± 3,6	7,6 ± 4,1
	Gebunden	6,7 ± 3,6	6,2 ± 2,3	6,0 ± 2,9
	Frei	0,6 ± 0,4	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,2
Dialytische Clearance (ml/min)	Gesamt	18,3 ± 9,6	17,3 ± 8,2	21,6 ± 9,7
	Frei	23,0 ± 14,8	25,4 ± 10,5	31,6 ± 12,8*
Masse im Dialysat (mg)	Total	64,0 ± 36,4	59,4 ± 30,7	74,2 ± 36,3

Tab. 8: Konzentration vor (Prä) und nach (Post) der Behandlung, dialytische Clearance und Masse im Dialysat von IS frei und gesamt im Plasma und Dialysat. Auffällig ist die signifikant größere dialytische Clearance von IS bei der HDF-IPIS. * $P = 0,017$ HDF-IPIS vs. HD bzw. HDF.

Die RR für freies IS war bei der HDF-IPIS um 39 % bzw. 9 % größer im Vergleich mit der HD bzw. HDF. Damit war die RR für freies IS bei der HDF-IPIS signifikant größer als jene der HD, aber nicht signifikant größer als die RR bei der HDF ($P = 0,013$).

Die RR für das gesamte IS lag bei der HDF-IPIS um 10 % höher im Vergleich mit der HD bzw. um 15 % zur HDF. Es lag jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Behandlungsverfahren vor ($P = 0,248$).

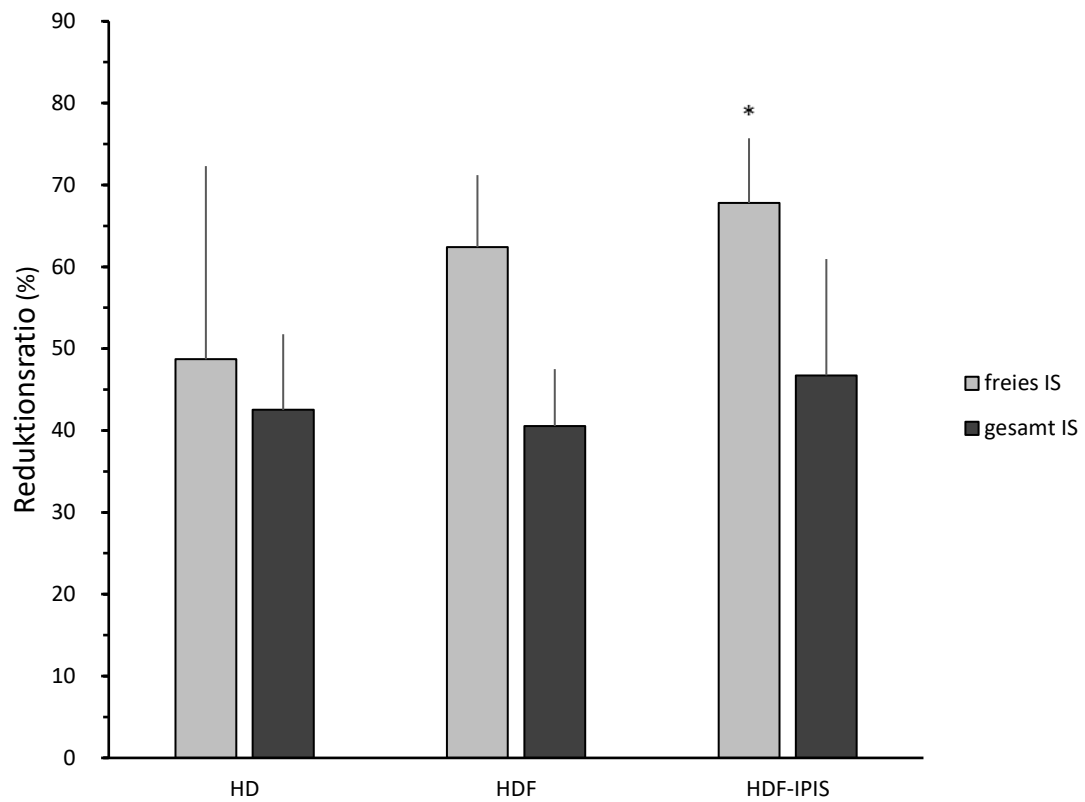


Abb. 3: Reduktionsratio IS frei und gesamt im Plasma, Hämatokrit-korrigiert. Es zeigte sich eine signifikant größere RR des freien Anteils von IS bei der HDF-IPIS. * $P = 0,013$ HDF-IPIS vs. HD.

3.5. Entfernung der kleinmolekularen Substanz Harnstoff

Abb. 4 veranschaulicht die Plasmaclearances der kleinmolekularen Substanz Harnstoff nach 30 min und 240 min Behandlungsdauer. Dabei wiesen die Harnstoffclearances nach 30 min keine Unterschiede zwischen HD, HDF und HDF-IPIS auf ($P = 0,655$). Nach 240 min wurden Unterschiede zwischen den Behandlungen deutlicher, die Harnstoffclearance bei der HDF-IPIS war signifikant größer als bei der HD bzw. HDF ($P = 0,011$).

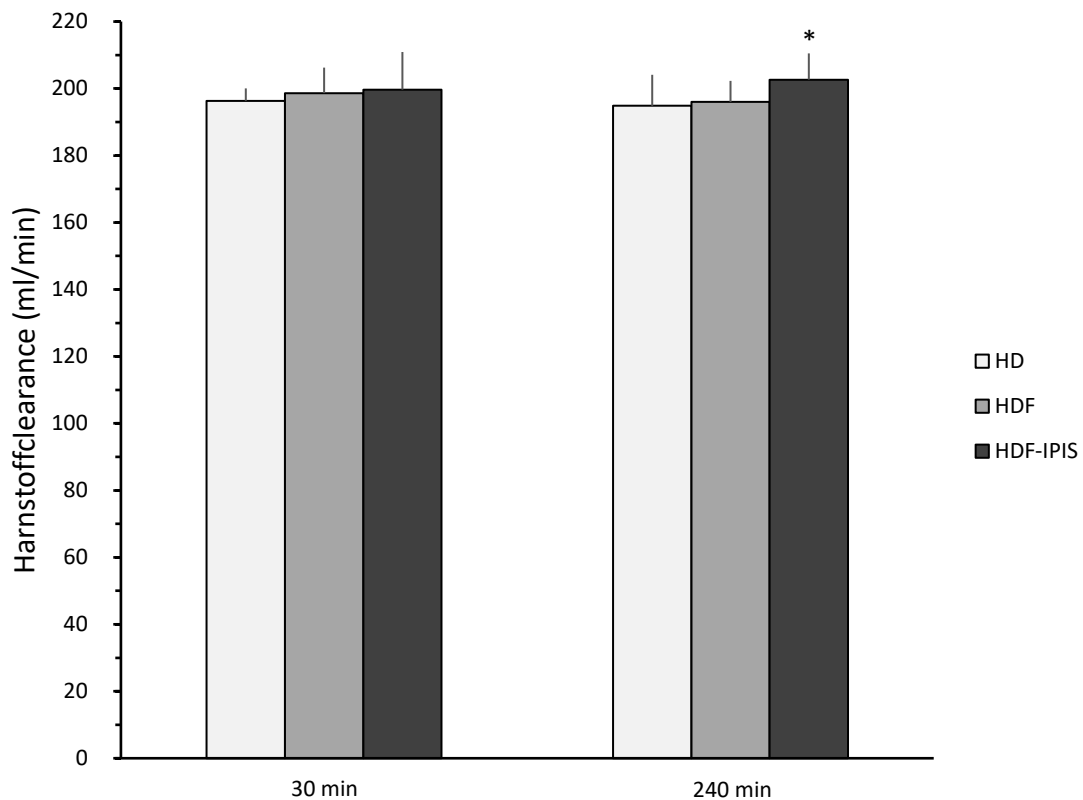


Abb. 4: Vergleich der Harnstoffplasmaclearances von HD, HDF und HDF-IPIS nach 30 min bzw. 240 min. Auffällig ist eine signifikant größere Clearance bei der HDF-IPIS nach 240 min. * $P = 0,011$ HDF-IPIS vs. HD bzw. HDF.

In Tab. 9 sind die Plasma-Harnstoffclearances, die Harnstoffreduktionsratio (URR) und die Masse im Dialysat dargestellt. URR und die Harnstoffmasse im Dialysat unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den Behandlungen ($P_{URR} = 0,478$; $P_{Masse} = 0,353$).

Harnstoff		HD	HDF	HDF-IPIS
Plasmaclearance (ml/min)	30 min	196,3 ± 3,7	198,6 ± 7,6	199,7 ± 11,2
	240 min	194,8 ± 9,3	196 ± 6,3	202,7 ± 7,8*
Reduktionsratio (%)		74,2 ± 8,2	77,3 ± 4,9	75,4 ± 4,7
Masse im Dialysat (g)		24,6 ± 7,5	25,8 ± 5,2	25,9 ± 8,8

Tab. 9: Plasmaclearance, Reduktionsratio, Masse im Dialysat, Kt/V und dialytische Clearance für Harnstoff. Auffällig ist eine geringfügig, aber signifikant größere Clearance bei der HDF-IPIS nach 240 min. * $P = 0,011$ HDF-IPIS vs. HD bzw. HDF.

Kt/V nach dem Single-Pool-Modell (Daugirdas, 1993) ist in Abb. 5 für alle drei Behandlungsmodi dargestellt. Dabei unterschied sich Kt/V nicht signifikant zwischen den Behandlungsmodi.

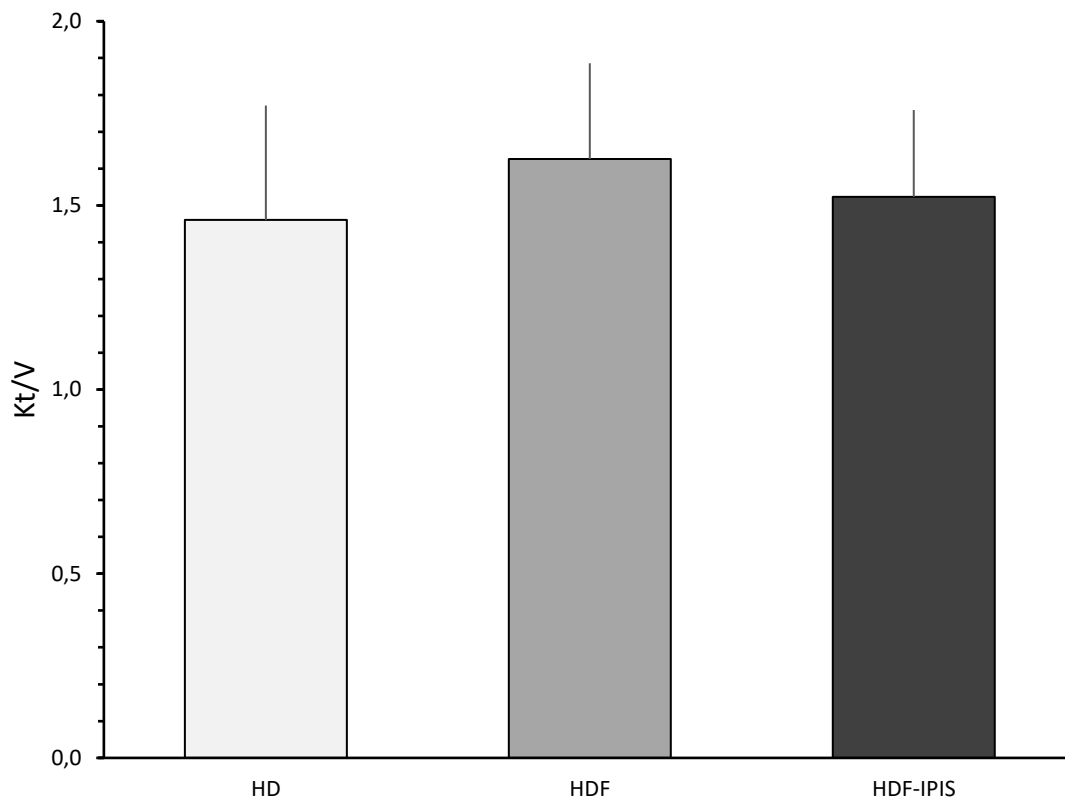


Abb. 5: Vergleich von Kt/V für HD, HDF und HDF-IPIS.

3.6. Entfernung der Mittelmoleküle und Albumin

3.6.1. β 2-Mikroglobulin

Die Werte für RR, Plasmaclearance und Masse im Dialysat für β 2M finden sich in Tab. 10. Die Clearances der HDF-IPIS und HDF nach 30 min waren jeweils signifikant größer als jene der HD ($P < 0,01$), unterschieden sich aber nicht signifikant untereinander. Nach 240 min war nur die β 2M-Plasmaclearance der HDF signifikant größer als bei der HD ($P = 0,032$).

Die RR für β 2M war bei der HDF signifikant größer als bei der HD ($P = 0,015$), aber nicht signifikant unterschiedlich zwischen HDF und HDF-IPIS bzw. HDF-IPIS und HD.

Die β 2M-Masse im Dialysat wies keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen auf ($P = 0,274$).

β2-Mikroglobulin		HD	HDF	HDF-IPIS
Plasmaclearance (ml/min)	30 min	52,9 ± 4,0	66,0 ± 5,4 *	62,8 ± 8,6*
	240 min	51,5 ± 6,0	60,0 ± 11,1 **	57,4 ± 5,2
Reduktionsratio (%)		66,2 ± 6,7	70,3 ± 4,8 #	68,7 ± 4,7
Masse im Dialysat (g)		140,4 ± 34,4	155,6 ± 24,3	147,3 ± 47,2

Tab. 10: Reduktionsratio, Plasmaclearance und Masse im Dialysat für β2-Mikroglobulin. Auffällig sind die signifikant größere 30- und 240-min-Clearance und Reduktionsratio der HDF gegenüber der HD und die signifikant größere 30-min-Clearance der HDF-IPIS gegenüber der HD. * $P < 0,001$ HDF-IPIS und HDF vs. HD; ** $P = 0,032$ HDF vs. HD; # $P = 0,015$ HDF vs. HD.

3.6.2. Myoglobin

Die Plasmaclearance für Myoglobin (siehe Tab. 11) war nach 30 min bei der HDF größer, aber nicht signifikant verschieden von den beiden anderen Verfahren ($P = 0,087$). Nach 240 min hingegen lag bei der HDF eine signifikant größere Clearance ($P = 0,013$) als bei der HD vor, jedoch nicht im Vergleich mit der HDF-IPIS.

Die RR für Myoglobin unterschieden sich gerade noch nicht signifikant zwischen den einzelnen Behandlungsverfahren.

Myoglobin		HD	HDF	HDF-IPIS
Plasmaclearance (ml/min)	30 min	19,9 ± 5,8	29,1 ± 5,9	22,5 ± 10,7
	240 min	13,6 ± 9,1	26,5 ± 6,8 *	18,9 ± 7,8
Reduktionsratio (%)		30,4 ± 9,8	39,7 ± 5,7	31,0 ± 6,0

Tab. 11: Plasmaclearance und Reduktionsratio für Myoglobin. Auffällig ist die signifikant größere 240-Clearance der HDF gegenüber der HD. * $P = 0,013$ HDF vs. HD

3.6.3. Albumin

Die in Tab. 12 gezeigten Albuminkonzentrationen im Plasma vor und nach der Behandlung unterschieden sich im Vergleich der Verfahren unwesentlich voneinander. Die Albuminmasse im Dialysat lag häufig unterhalb der Testempfindlichkeit. Daher wurde zur Berechnung der untere Grenzwert (2,12 mg/l) herangezogen. Zwischen den drei Behandlungsarten gab es keine signifikanten Unterschiede ($P = 0,345$).

Albumin	HD	HDF	HDF-IPIS
Prä (g/l)	39,0 ± 1,7	40,5 ± 2,8	39,5 ± 4,8
Post (g/l)	40,9 ± 3,8	40,8 ± 3,6	41,9 ± 3,2
Masse im Dialysat (g)	0,30 ± 0,04	0,48 ± 0,19	0,37 ± 0,05

Tab. 12: Albuminkonzentration im Plasma vor (Prä) und nach (Post) der Behandlung

3.7. Elektrolytverläufe

3.7.1. Natrium

Betrachtet man den arteriellen und venösen $[\text{Na}^+]$ -Verlauf (siehe Abb. 6) zwischen den Behandlungen, fand sich nach 240 min eine signifikant größere $[\text{Na}^+]$ ($P = 0,032$) im arteriellen Plasma bei der HDF-IPIS (136 mmol/l) als bei der HD (133,5 mmol/l), aber nicht im Vergleich zur HDF (134 mmol/l). Im venösen Plasma zeigte sich das gleiche Bild mit einer signifikant höheren $[\text{Na}^+]$ bei HDF-IPIS (140 mmol/l) im Vergleich mit HD (136 mmol/l) ($P = 0,010$), aber nicht signifikant größer im Vergleich mit HDF (137 mmol/l).

Der $[\text{Na}^+]$ -Verlauf innerhalb der jeweiligen Behandlung wies bei HD und HDF im arteriellen und venösen Schenkel keine signifikanten Unterschiede auf. Bei der HDF-IPIS zeigte sich nach 30 min ein signifikant höherer Wert für $[\text{Na}^+]$ ($P < 0,01$) im Vergleich zum Ausgangswert (0 min). Nach 240 min war der Wert dann signifikant höher als nach 30 min ($P < 0,01$).

Die gemessenen Natriumwerte vor dem Dialysator betragen bei der HDF-IPIS nach 30 min zwischen 219,8 mmol/l und 263,0 mmol/l (Mittelwert $232,7 \pm 13,9$ mmol/l), nach 60 min zwischen 225,0 mmol/l und 238,2 mmol/l (Mittelwert $232,6 \pm 4,5$ mmol/l), nach 120 min zwischen 223,8 mmol/l und 237,4 mmol/l (Mittelwert $232,7 \pm 4,4$ mmol/l), nach 180 min zwischen 226,8 mmol/l und 237,4 mmol/l (Mittelwert $231,1 \pm 3,6$ mmol/l), und nach 240 min zwischen 225,6 mmol/l und 239,2 mmol/l (Mittelwert $231,7 \pm 4,2$ mmol/l). Insgesamt lag das Zielnatrium bei 232 ± 7 mmol/l und damit $3,2 \pm 2,8$ % unterhalb des angestrebten Zielwertes von 240 mmol/l. Die Zielwerte wurden dabei zu 96 % bzw. 97 % erreicht.

Der geschätzte Natriummassetransfer lag bei der HDF-IPIS (3771 ± 271 mmol) ($P < 0,001$) bei Weitem über dem für HD (187 ± 71 mmol) und HDF (184 ± 77 mmol). Die geschätzte Netto- Na^+ -Entfernung lag bei der HDF-IPIS bei 71 ± 120 mmol, gegenüber 213 ± 144 mmol bzw. 202 ± 196 mmol bei HD bzw. HDF und war signifikant niedriger ($P < 0,001$), während sich HD und HDF nicht voneinander unterschieden.

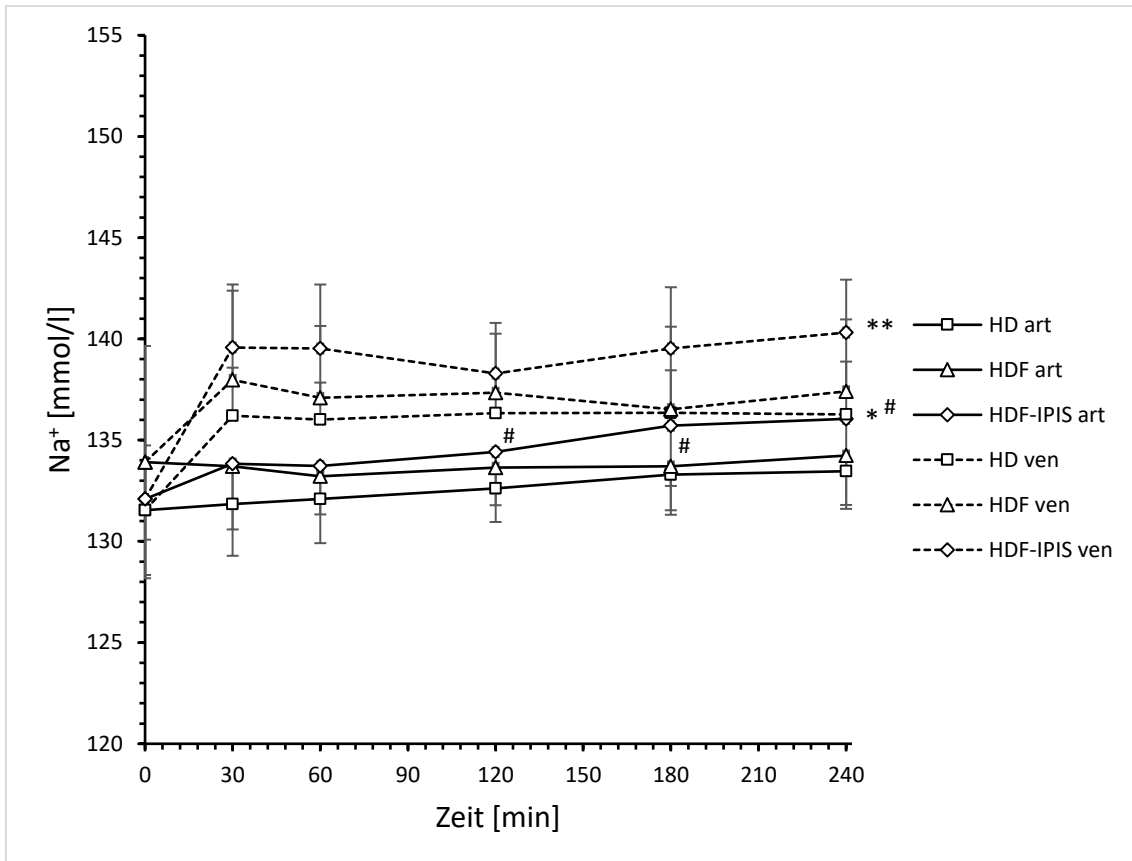


Abb. 6: Na⁺-Verlauf arteriell und venös. Auffällig sind die Zunahme der [Na⁺] bei der HDF-IPIS im arteriellen und venösen Blut im Laufe der Behandlung. * $P_{art} = 0,032$; ** $P_{ven} = 0,01$ HDF-IPIS vs. HD; # $P_{art} < 0,01$ HDF-IPIS vs. 0 min.

3.7.2. Chlorid

Die [Cl⁻], dargestellt in Abb. 7, wies zu den Zeitpunkten 0 und 30 min im arteriellen Schenkel keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen auf ($P_{0min} = 0,547$, $P_{30min} = 0,372$). Nach 240 min war [Cl⁻] im arteriellen Blut bei der HDF-IPIS signifikant ($P = 0,03$) größer als bei der HD, aber nicht signifikant größer als bei der HDF. Die beiden letztgenannten unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Im venösen Blut fanden sich nach 30 min keine signifikanten Unterschiede ($P = 0,05$), nach 240 min war die [Cl⁻] bei der HDF-IPIS signifikant größer ($P = 0,042$) als bei der HD, aber nicht signifikant größer als bei der HDF, die sich wiederum nicht von der HD unterschied.

Beim [Cl⁻]-Verlauf innerhalb der jeweiligen Behandlung zeigten sich bei HD und HDF keine Unterschiede, abgesehen von einem signifikant größeren Wert nach 60 min im

Vergleich zum Wert nach 240 min im venösen Blut der HD ($P_{HD} = 0,76$ (art); $0,014$ (ven)); $P_{HDF} = 0,841$ (art); $0,924$ (ven).

Bei der HDF-IPIS war $[Cl^-]$ zu allen Zeitpunkten im arteriellen Blut signifikant höher ($P = 0,019$) als zum Zeitpunkt 0 min. Im venösen Blut zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($P = 0,71$).

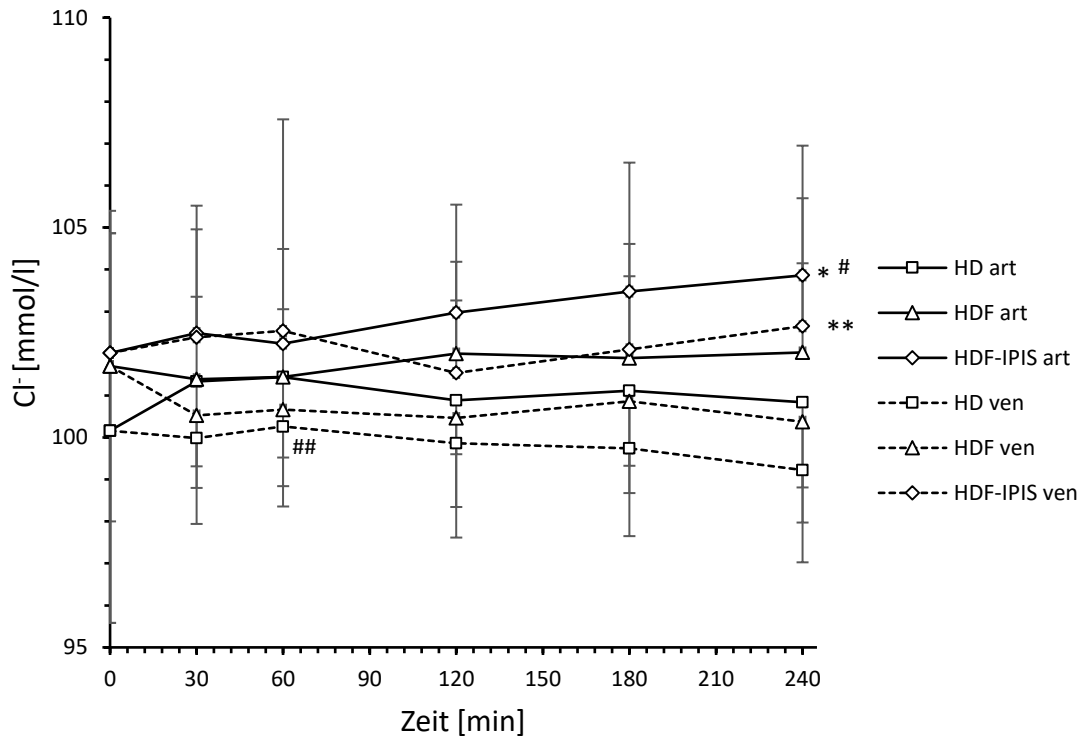


Abb. 7: Cl⁻-Verlauf arteriell und venös. Auffällig sind die Zunahme der $[Cl^-]$ bei der HDF-IPIS auf signifikant größere Werte gegenüber der HD und innerhalb der HDF-IPIS-Behandlung im Vergleich zum Ausgangswert. * $P_{art} = 0,03$, ** $P_{ven} = 0,042$ HDF-IPIS vs. HD; # $P_{art} = 0,019$ HDF-IPIS vs. 0 min; ## $P_{ven} = 0,014$ HD vs. 240 min.

3.8. Hämokompatibilitätsparameter

3.8.1. Leukozytenverlauf

Gesamtzahl

Zwischen den Behandlungsarten gab es nach 0 bzw. 240 min ($P_{0min} = 0,798$; $P_{240min} = 0,687$) keine signifikanten Unterschiede bei den absoluten Leukozytenzahlen, die in Abb. 8 aufgetragen sind. Innerhalb der jeweiligen Behandlung wurde bei der HDF-IPIS nach 180 und 240 min im Vergleich zum Ausgangswert eine signifikant niedrigere Leukozytenzahl gemessen ($P < 0,01$). Die Leukozytenzahl wies bei HD und HDF keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Behandlung auf ($P_{HD} = 0,45$; $P_{HDF} = 0,12$). Bei der HD gab es nach 15 min einen Tiefpunkt, gefolgt von einem steileren Anstieg bis zum Zeitpunkt 30 min. Ein solcher Nadir mit anschließend steilem Anstieg fand sich auch bei der HDF, allerdings schon nach 5 min. Bei der HDF-IPIS wurde ein derartiger Verlauf nicht beobachtet.

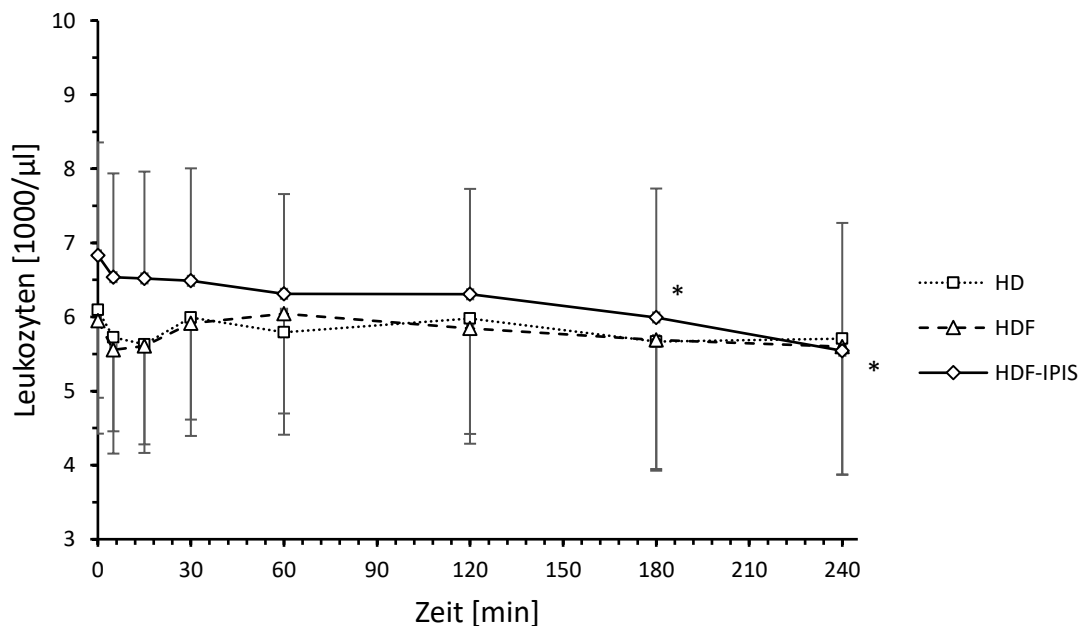


Abb. 8: Leukozytenverlauf über die Zeit. Absolute Werte. Auffällig ist eine Abnahme der Leukozyten im Verlauf der HDF-IPIS Behandlung. * $P < 0,01$ HDF-IPIS vs. 0 min.

Die relativen Leukozytenzahlen bezogen auf den Ausgangswert sind in Abb. 9 dargestellt. Diese nahmen bei der HDF-IPIS nach 240 min auf $81,8 \pm 11,3 \%$, bei der HD auf $93,2 \pm 18,8 \%$ und bei der HDF auf $94 \pm 13,5 \%$ vom Ausgangswert ab. Im Vergleich gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Behandlungen ($P = 0,154$).

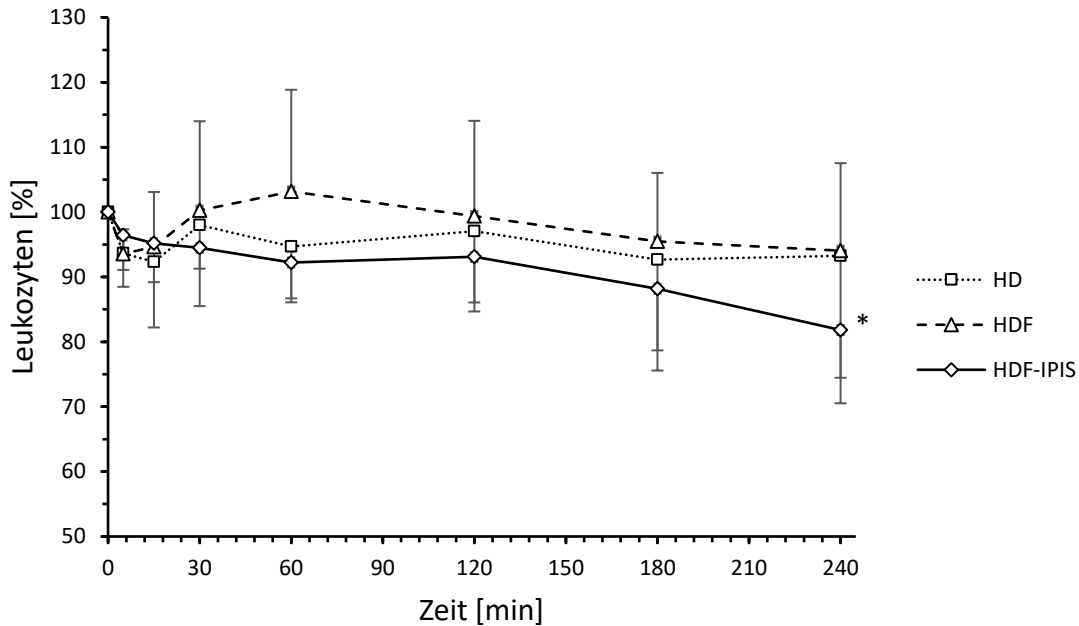


Abb. 9: Leukozytenverlauf über die Zeit relativ im Verhältnis zum Ausgangswert. Es fällt eine Abnahme der Leukozyten im Verlauf der HDF-IPIS-Behandlung auf. * $P < 0,01$ HDF-IPIS vs. 0 min.

Neutrophile Granulozyten

Die neutrophilen Granulozyten sind in Abb. 10 im zeitlichen Verlauf dargestellt. Nach 0 min bzw. 240 min gab es keine signifikanten Unterschiede der absoluten bzw. relativen Zahl der neutrophilen Granulozyten zwischen den Behandlungen ($P_{0min} = 0,654$; $P_{240min} = 0,987$; $P_{rel} = 0,447$). Innerhalb der Behandlungen lag bei der HD nach 15 min ein Nadir – mit anschließend steilem Anstieg bis 30 min –, der erst nach 180 min erneut unterschritten wurde. Nach 240 min lag dann ein signifikant niedrigerer Wert als zu Beginn vor ($P = 0,015$). Bei der HDF war der Nadir auf 5 min verschoben, der erst nach 240 min wieder unterschritten wurde. Hier gab es keine signifikanten Unterschiede über die Dauer der Behandlung. Bei der HDF-IPIS war nach 240 min die Zahl der neutrophilen Granulozyten signifikant niedriger als zu den Zeitpunkten 0 min bis 120 min. Einen passageren Nadir zu Beginn der Behandlung wie bei der HD bzw. HDF gab es nicht.

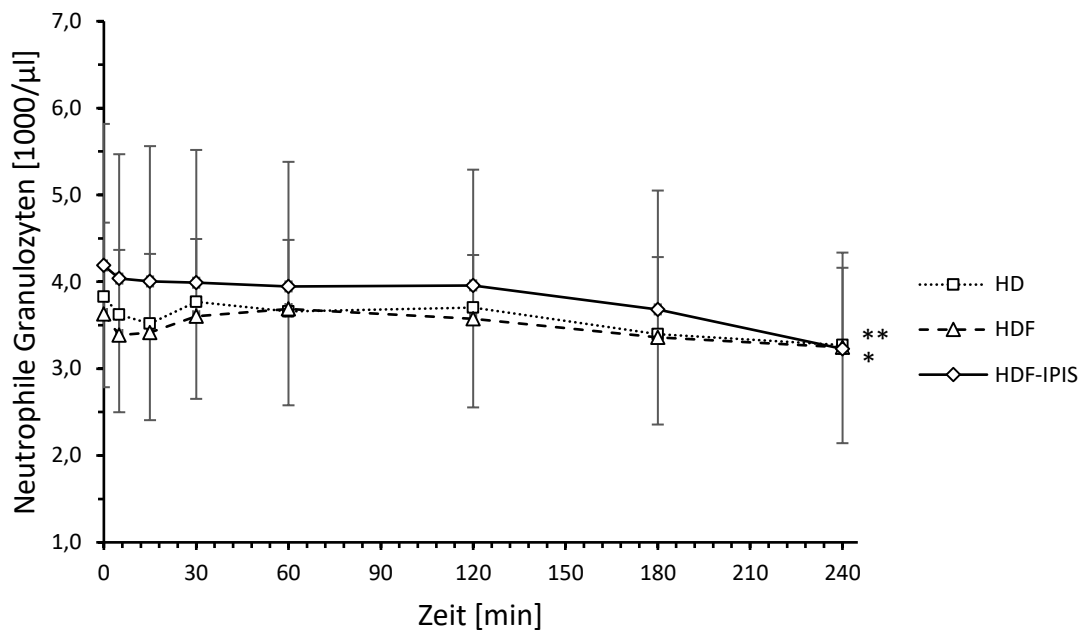


Abb. 10: Verlauf der absoluten neutrophilen Granulozytenzahlen über die Zeit. Auffällig ist eine kontinuierliche Abnahme der neutrophilen Granulozyten im Verlauf der HDF-IPIS. * $P = 0,015$ HD vs. 0 min; ** $P < 0,01$ HDF-IPIS vs. 0 min.

Monozyten

Die Zahl der Monozyten (siehe Abb. 11) zum Zeitpunkt 0 min bzw. 240 min war zwischen den Behandlungen weder absolut noch relativ gesehen unterschiedlich ($P_{0min} = 0,095$; $P_{240min} = 0,269$; $P_{rel} = 0,165$). Betrachtet man den Verlauf der Monozyten über die Zeit innerhalb der jeweiligen Behandlung, fielen bei der HD nach 60 min bzw. 180 min signifikant niedrigere Werte als zu Beginn auf ($P = 0,04$). Bei der HDF gab es keine signifikanten Unterschiede über die Zeit ($P = 0,193$). Bei der HDF-IPIS waren nach 120 min bis 240 min signifikant niedrigere Werte als zu Beginn zu verzeichnen ($P < 0,01$).

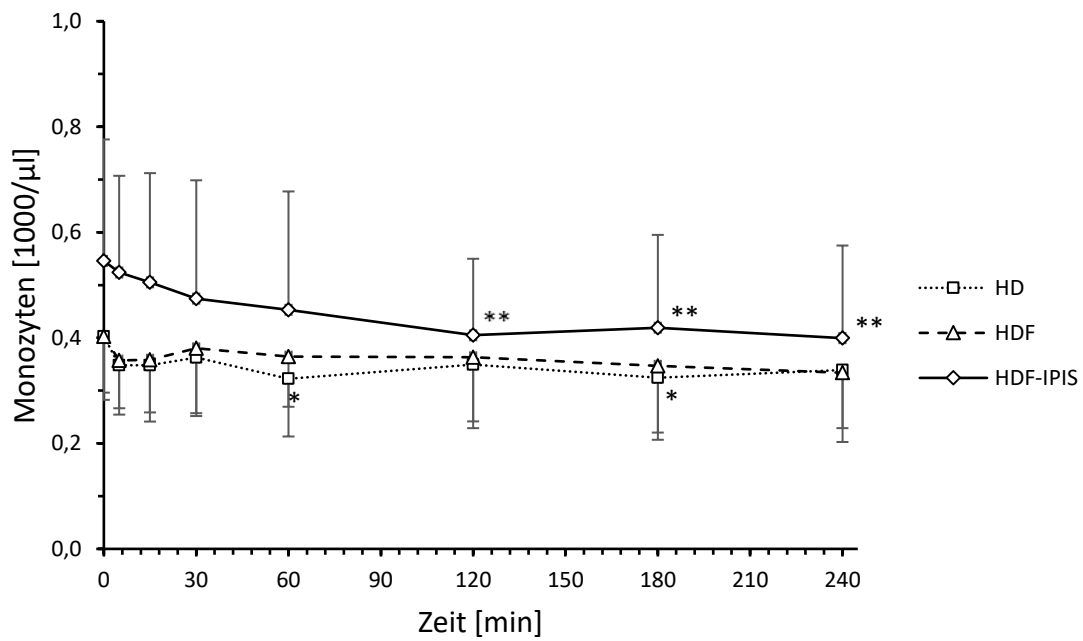


Abb. 11: Monozytenverlauf über die Zeit. Absolute Werte. Auffällig ist eine kontinuierliche Abnahme der Monozyten im Verlauf der HDF-IPIS. * $P = 0,04$ HD vs. 0 min; ** $P < 0,01$ HDF-IPIS vs. 0 min.

Lymphozyten

Der Verlauf der Lymphozytenzahl während der Behandlungen ist in Abb. 12 dargestellt. Zwischen den Behandlungen gab es keine signifikanten Unterschiede in der absoluten bzw. relativen Lymphozytenzahl ($P_{0 \text{ min}} = 0,231$; $P_{240 \text{ min}} = 0,413$; $P_{\text{rel}} = 0,128$). Innerhalb der jeweiligen Behandlung gab es ebenfalls keine signifikanten Unterschiede ($P_{\text{HD}} = 0,05$; $P_{\text{HDF}} = 0,242$; $P_{\text{HDF-IPIS}} = 0,81$).

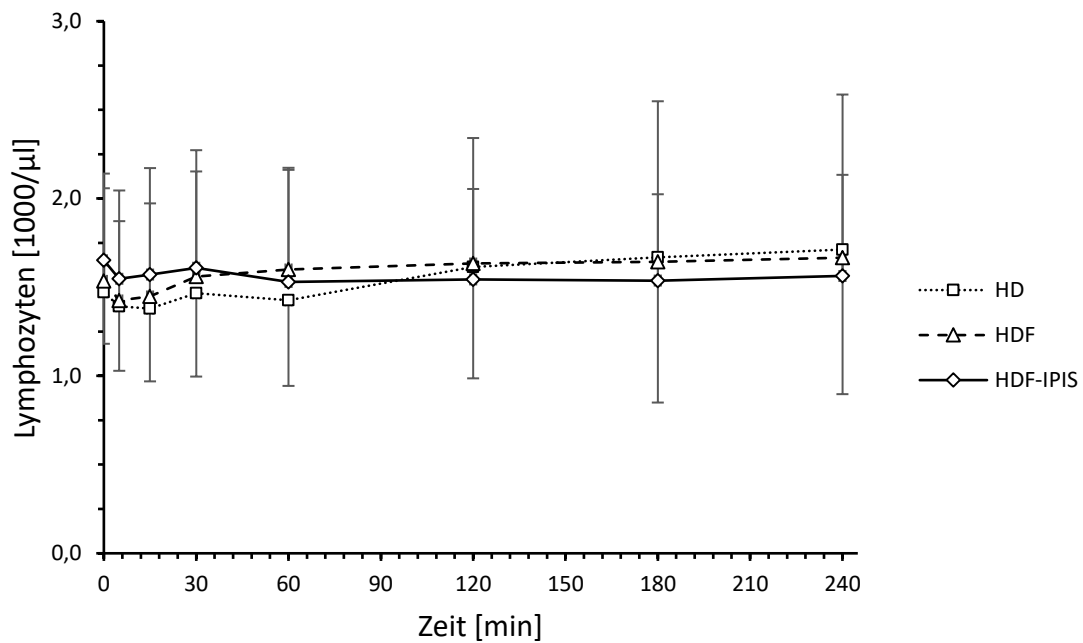


Abb. 12: Lymphozytenverlauf über die Zeit. Absolute Werte.

3.8.2. Thrombozytenverlauf

Zwischen den Behandlungen gab es in den ersten 60 min keine signifikanten Unterschiede in der absoluten Thrombozytenzahl (siehe Abb. 13) ($P_{0min} = 0,170$; $P_{30min} = 0,149$; $P_{5min} = 0,251$; $P_{15min} = 0,119$; $P_{30min} = 0,149$; $P_{60min} = 0,102$). Ab 120 min lagen die Thrombozyten bei der HDF signifikant niedriger als bei der HD. ($P_{120min} = 0,051$; $P_{180min} = 0,037$; $P_{240min} = 0,028$), während sich die Werte bei der HDF-IPIS weder zur HD noch zur HDF unterschiedlich verhielten.

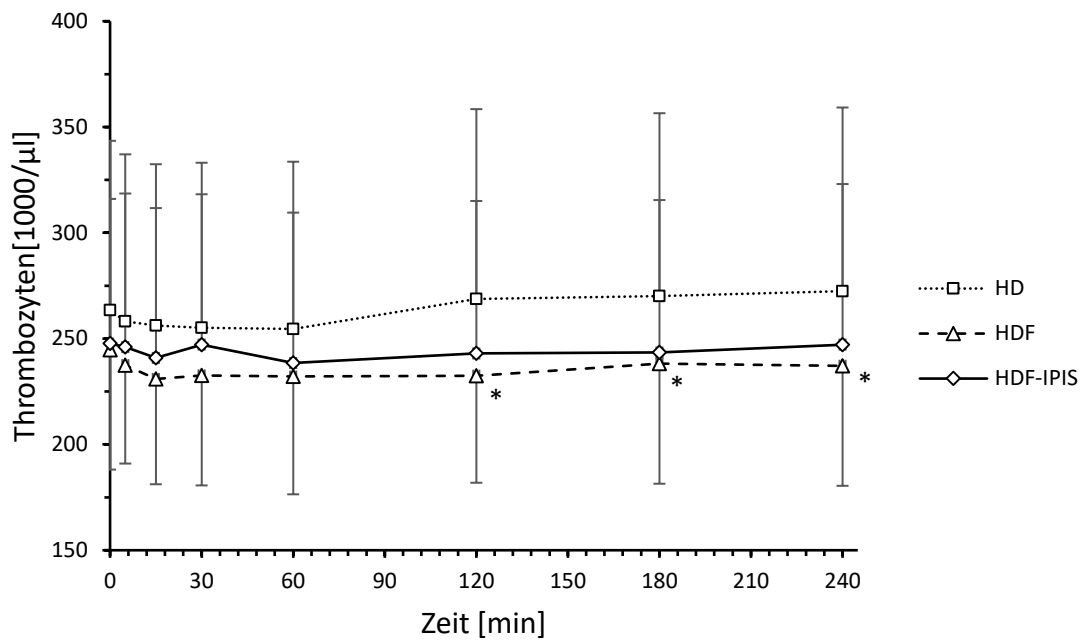


Abb. 13: Thrombozytenverlauf über die Zeit. Absolute Werte. Auffällig ist ein passagerer Nadir nach 15 min bei HDF und HDF-IPIS. * $P_{120min} = 0,051$, * $P_{180min} = 0,037$; * $P_{240min} = 0,028$ HDF vs. HD.

Relativ zum Ausgangswert (0 min) blieb die Thrombozytenzahl bei allen drei Behandlungsverfahren nach 240 min stabil. Bei der HD wurden am Ende 103 % des Ausgangswertes erreicht, die HDF-IPIS erreichte 100 % und die HDF 97 %.

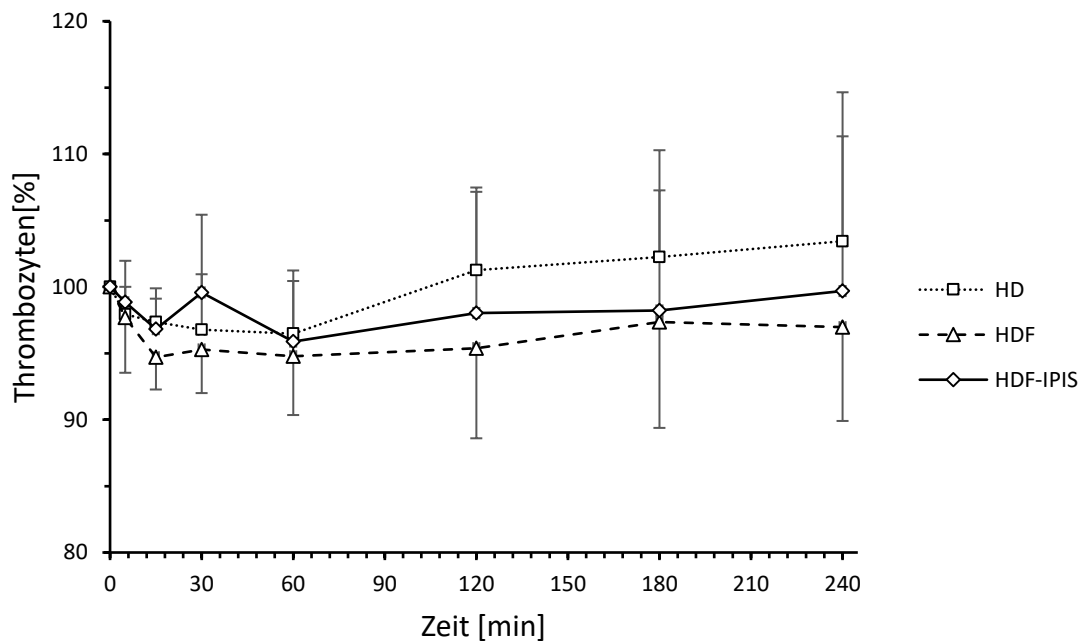


Abb. 14: Thrombozytenverlauf über die Zeit. Relative Werte im Verhältnis zum Ausgangswert.

3.8.3. Hämolysparameter

3.8.3.1. Freies Hämoglobin

Zwischen den Behandlungen (siehe Abb. 15) gab es keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Hämolys ($P_{0min} = 0,666$; $P_{240min} = 0,212$). Innerhalb der jeweiligen Behandlung zeigten sich bei der HDF-IPIS bzw. der HD nach 30 min und 240 min signifikant höhere Werte als zu den anderen Abnahmezeitpunkten ($P_{HDF-IPIS} = 0,001$; $P_{HD} = 0,003$). Bei der HDF zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($P = 0,224$). In Bezug auf den Hämoglobin-Wert lag die Hämolys bei allen drei Behandlungsarten stets unter 0,1 %. Lediglich bei der HDF zeigte sich zum Zeitpunkt 0 min bei einer einzelnen Probe eine geringfügig erhöhte Hämolys, was auf den Abnahmevorgang zurückzuführen ist. Signifikante Unterschiede waren ohnehin nicht zu ermitteln.

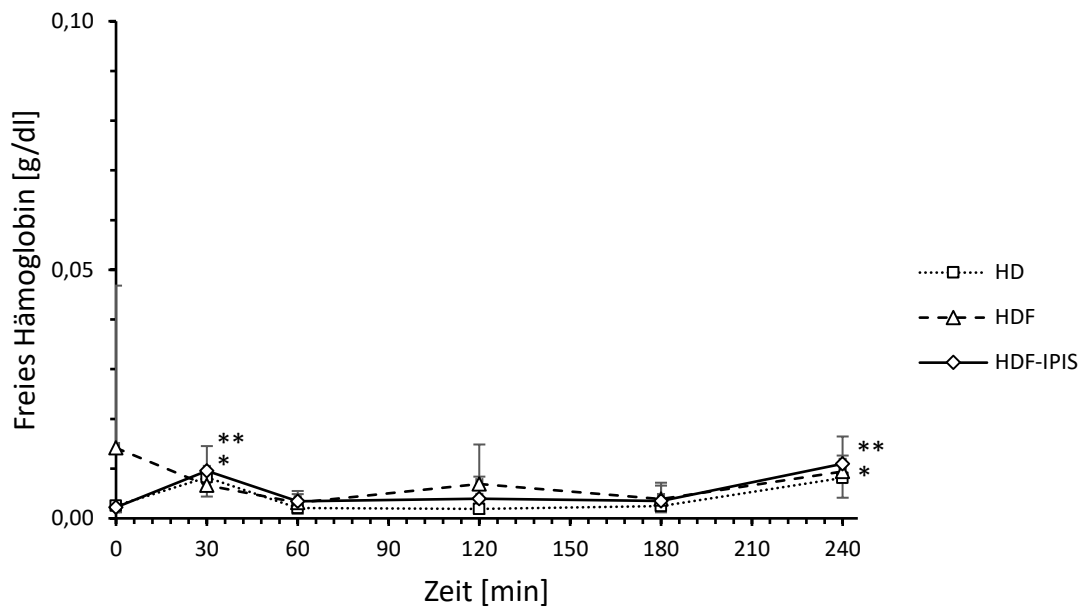


Abb. 15: Freies Hämoglobin im Verlauf über die Zeit. Auffällig sind die signifikant erhöhten Werte gegenüber dem Ausgangswert nach 30 min sowie zum Ende der Behandlung bei HD und HDF-IPIS. * $P = 0,001$ HDF-IPIS vs. 0 min; ** $P = 0,003$ HD vs. 0 min.

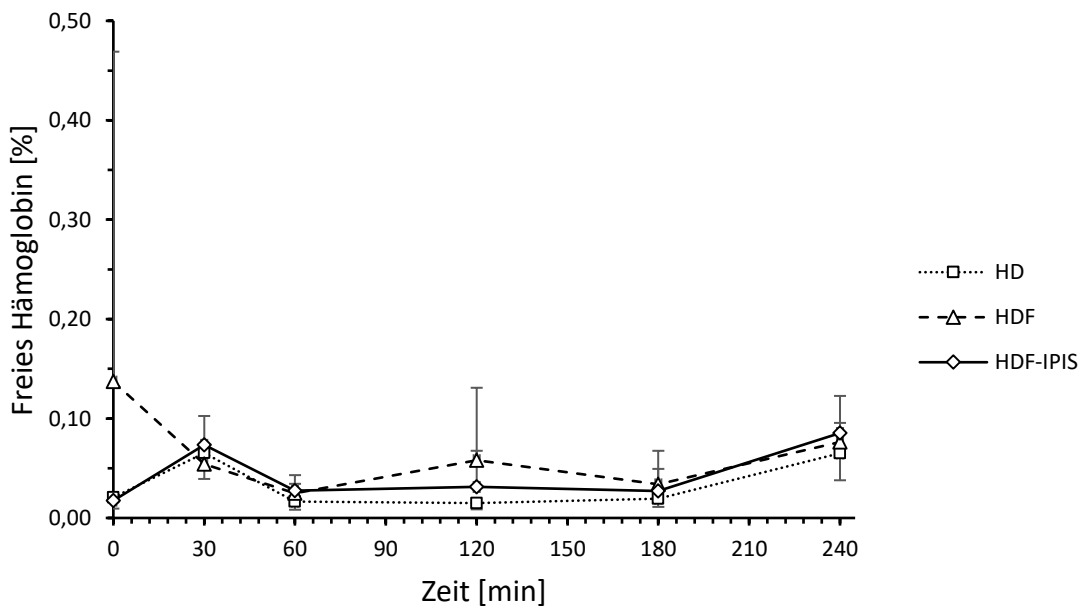


Abb. 16: Freies Hämoglobin im Verhältnis zum Gesamthämoglobin im Verlauf über die Zeit.

3.8.3.2. Lactatdehydrogenase

Der Verlauf der Werte für die LDH ist in Abb. 17 dargestellt. Zu den Zeitpunkten 0 min bzw. 240 min gab es keine signifikanten Unterschiede der Werte zwischen den drei Behandlungsmodi ($P_{0min} = 0,492$ $P_{240min} = 0,947$). Bei HD ($P = 0,279$) und HDF ($P = 0,244$) fanden sich innerhalb der Behandlung keine signifikanten Unterschiede im Verlauf über die Zeit. Bei der HDF-IPIS wurde nach 120 min im Vergleich zum Zeitpunkt 0 min ein signifikant niedrigerer Wert gemessen ($P = 0,013$). Die restlichen Messzeitpunkte unterschieden sich nicht signifikant von Startpunkt und Nadir.

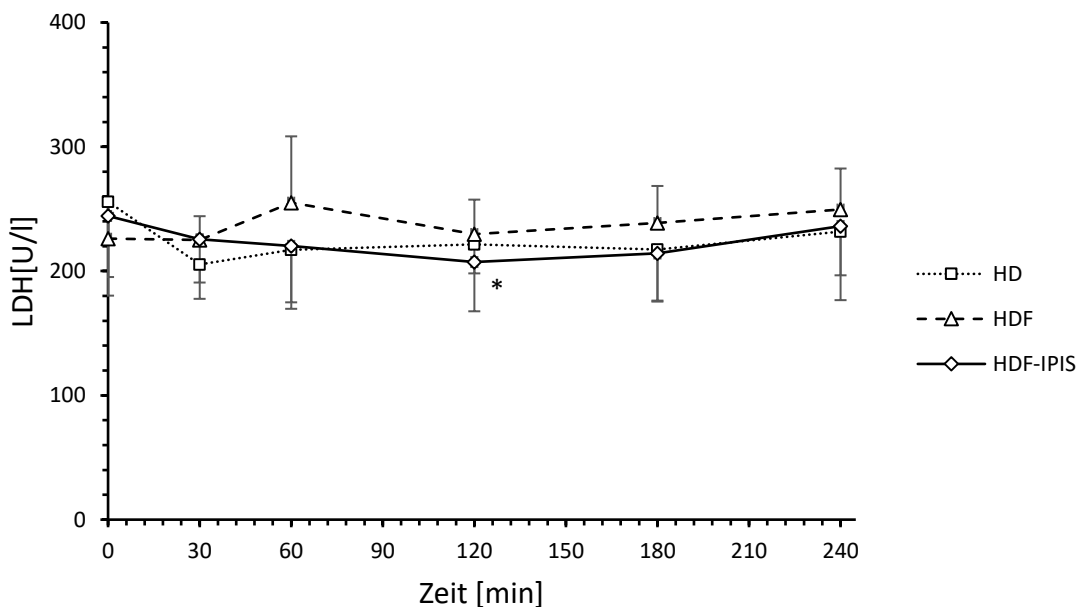


Abb. 17: LHD-Verlauf über die Zeit. Auffällig ist ein signifikant niedrigerer LDH-Spiegel zum Zeitpunkt 120 min. * $P = 0,013$ HDF-IPIS vs. 0 min.

3.8.4. Komplementaktivierung

Die Werte für die C5a-Konzentration (siehe Abb. 18) im Vergleich zwischen den Behandlungen unterschieden sich – bezogen auf die jeweiligen Maximalwerte – nicht signifikant voneinander ($P = 0,211$ bzw. $P = 0,312$). Nach 240 min war C5a bei der HDF-IPIS signifikant ($P = 0,018$) höher als bei der HDF bzw. HD.

Innerhalb der jeweiligen Behandlungen zeigten sich bei der HD nach 5, 15 und 30 min signifikant höhere Werte ($P < 0,01$) als zu Beginn (0 min) – mit einem Maximum nach

15 min (0 min = $0,06 \pm 0,07 \mu\text{g/l}$ vs. 15 min = $0,86 \pm 0,63 \mu\text{g/l}$) –, die nach 120 min bis zum Ende der Behandlung auf das Ausgangsniveau (0 min = $0,06 \mu\text{g/l}$ vs. 240 min = $0,064 \mu\text{g/l}$) abnahmen. Bei der HDF zeigte sich ein Maximum von C5a nach 5 min (0 min = $0,08 \pm 0,05 \mu\text{g/l}$ vs. 5 min = $0,69 \pm 0,46 \mu\text{g/l}$). Gemeinsam mit den Werten nach 15, 30 und 60 min waren sie signifikant höher ($P < 0,01$) als zu den anderen Zeitpunkten, um nach 240 min auf ein niedrigeres Niveau als zum Zeitpunkt 0 min zu fallen (0 min = $0,08 \pm 0,05 \mu\text{g/l}$ vs. 240 min = $0,06 \pm 0,06 \mu\text{g/l}$).

Der höchste Wert für C5a war bei der HDF-IPIS nach 30 min zu beobachten (0 min = $0,10 \pm 0,05 \mu\text{g/l}$ vs. 30 min = $0,84 \pm 0,57 \mu\text{g/l}$). Er unterschied sich gemeinsam mit den Werten nach 15, 60 und 120 min signifikant ($P < 0,01$) vom Ausgangs- und Endwert. Nach 240 min war C5a immer noch höher als zu Beginn (0 min = $0,10 \pm 0,05 \mu\text{g/l}$ vs. 240 min = $0,25 \pm 0,25 \mu\text{g/l}$; $P < 0,05$) und auch im Vergleich zu den anderen Studienbehandlungen ($P = 0,018$).

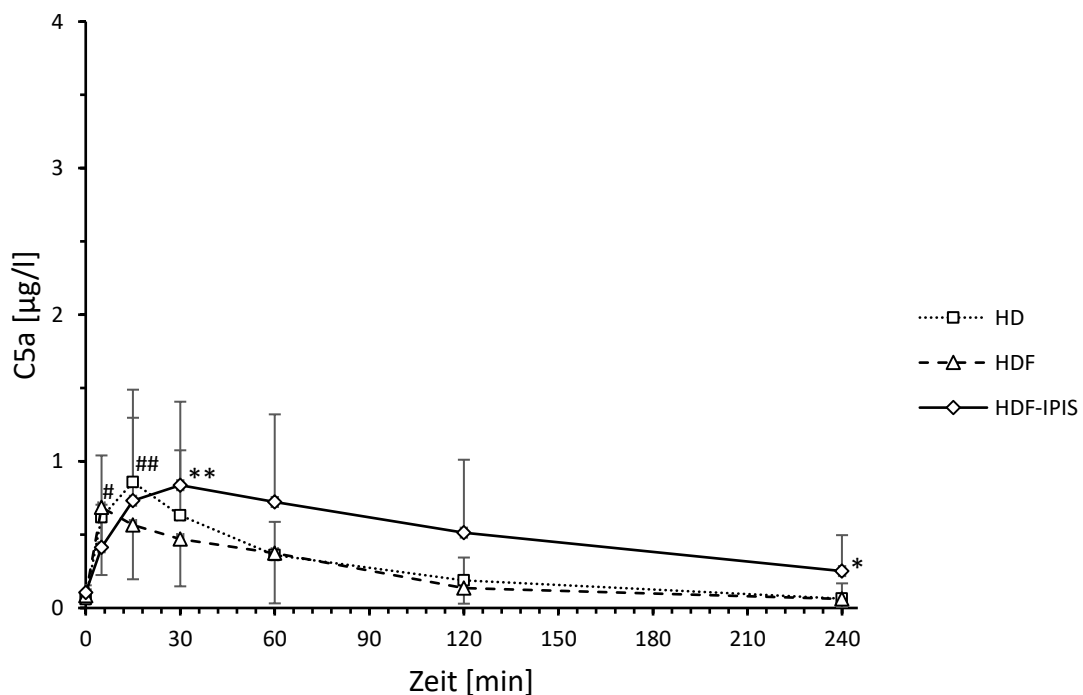


Abb. 18: C5a-Verlauf über die Zeit. Auffällig sind der verzögerte Anstieg bei HDF-IPIS bis zum Zenit nach 30 min und der ebenfalls verzögerte Abfall bis zum Ende der Behandlung. * $P < 0,05$ HDF-IPIS vs. 0 min und $P = 0,018$ HDF-IPIS vs. HDF bzw. HD; ** $P < 0,01$ HDF-IPIS vs. 0 min; # $P < 0,01$ HDF vs. 0 min; ## $P < 0,01$ HD vs. 0 min.

3.8.5. Gerinnungsaktivierung

TAT, als Marker der Gerinnungsaktivierung in Abb. 19 aufgetragen, zeigte nach 240 min für die HDF einen signifikant erhöhten Wert im Vergleich zur HD ($P = 0,034$), aber nicht im Vergleich zur HDF-IPIS. Innerhalb der Behandlung zeigten sich bei der HDF-IPIS keine signifikanten Unterschiede ($P = 0,316$). Bei der HD zeigte sich nach 240 min ein signifikant höherer Wert als zu allen anderen Zeiten ($P = 0,004$). Bei der HDF war der 240-min-Wert im Vergleich zum Zeitpunkt 0 min signifikant erhöht ($P = 0,002$).

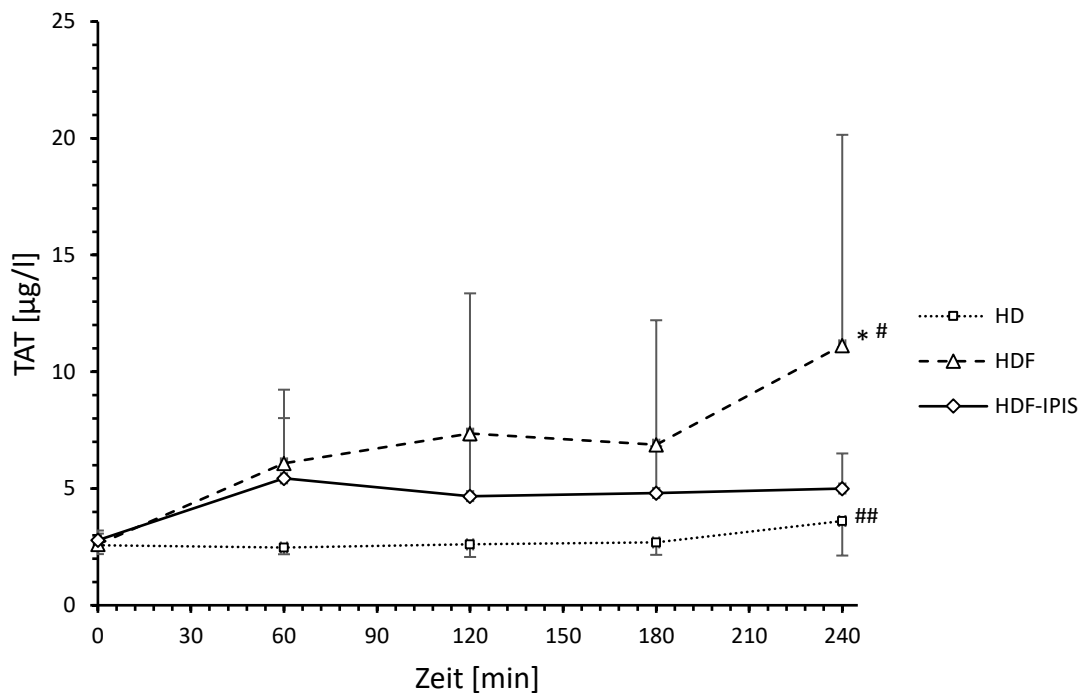


Abb. 19: TAT-Verlauf über die Zeit. Auffällig ist das niedrigere Niveau der TAT-Spiegel bei der HDF-IPIS im Vergleich zur HDF. * $P = 0,034$ HDF vs. HD; # $P = 0,002$ HDF vs. HDF-IPIS; ## $P = 0,04$ HD vs. 0 min.

4. Diskussion

Im Gegensatz zu kleinmolekularen, freien Substanzen ist die Entfernung proteingebundener Toxine durch extrakorporale Nierenersatzverfahren gering (Lesaffer et al., 2000). Für einige dieser Substanzen wurde eine Rolle bei der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen, deren Auftreten bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz gegenüber der Normalbevölkerung um das 8,8-fache erhöht ist (de Jager et al., 2009), nachgewiesen (Vanholder et al., 2014). So inhibiert IS die endotheliale Zellproliferation und Wundheilung (Dou et al., 2004), deren Beeinträchtigung für kardiovaskuläre Schäden mitverantwortlich ist (Hsu et al., 2013; Shimazu et al., 2013). Für pCS wurden ebenfalls mit kardiovaskulären Erkrankungen im Zusammenhang stehende proinflammatorische Effekte nachgewiesen (Schepers et al., 2007); es wird gar als neuer kardiovaskulärer Risikofaktor bei Dialysepatienten angesehen (Meijers, Bammens, et al., 2008), wobei die Höhe der Serumkonzentration des freien pCS signifikant mit dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse korreliert (Meijers, Weber, et al., 2008).

pCS und IS treten im Plasma frei und gebunden auf. Der Anteil zwischen freien und gebundenen Toxinen liegt äquilibriert vor und beträgt für letztere bei Dialysepatienten nach Krieter et al. (2010) für pCS und IS 96 % bzw. 95 %, wobei aufgrund der kompetitiven Verdrängung durch andere Urämietoxine aus der Proteinbindung, wie z.B. durch bestimmte Fettsäuren, der gebundene Anteil bei Dialysepatienten etwas geringer ist (Klammt et al., 2012; O. Deltombe et al., 2017).

Ob bestimmte Moleküle während der Hämodialyse durch die Dialysemembran filtriert werden können, hängt unter anderem von ihrer Molekülmasse ab. Die proteingebundenen Toxine pCS (108 Da) und IS (213 Da) können trotz geringen Molekulargewichts die Dialysemembran nicht passieren, da sie im Blut hauptsächlich an Albumin gebunden vorliegen (Krieter et al., 2010). Dieses passiert hingegen aufgrund seiner Größe (67 kDa) selbst relativ offene High-flux-Dialysemembranen, die eine Trennschärfe von 40–60 kDa aufweisen (Boschetti-de-Fierro et al., 2015), nur in geringem Ausmaß (Krieter et al., 2010), während es von dichten Low-flux-Membranen, Trennschärfe ca. 5 kDa (Kerr et

al., 2013), vollständig retiniert wird. Lediglich das freie Urämietoxin kann die Dialysemembran ungehindert passieren (Krieter et al., 2010).

Low-flux- und High-flux-HD zeigen entsprechend im Hinblick auf die Entfernung von pCS und IS keine Unterschiede: In einer Studie aus dem Jahr 2000 betrug die RR 41,5 % und 32,9 % (Low-flux) bzw. 42,6 % und 41,4 % (High-flux) (Lesaffer et al., 2000).

In einer weiteren Studie (Krieter et al., 2010) wurde zwischen High-flux-HD und Post-HDF hinsichtlich der Entfernung der proteingebundenen Toxine ebenfalls kein signifikanter Unterschied gefunden. Dabei kamen jeweils zwei Dialysemembranen zum Einsatz, die sich lediglich in ihrer Albuminpermeabilität unterschieden. Die RR von pCS lagen bei 45,6 % und 47,3 % (HD) bzw. 47,8 % und 40,4 % (HDF). Für IS betrug die Entfernung 50,4 % und 52,2 % (HD) bzw. 54,6 % und 53,3 % (HDF). Somit wurde der Einfluss von Konvektion auf die Entfernung der proteingebundenen Toxine im Vergleich zur Diffusion als gering angesehen (Krieter et al., 2010).

Auf eine ähnliche Entfernung von pCS und IS kamen auch Meert et al. (2009), die für die Post-HDF RR von 40,0 % bzw. 44,8 % ermittelten. Bei der Prä-HDF ergaben sich dort RR von 41,9 % bzw. 48,5 %, die, ebenso wie die gleich effektive Post-HDF, im Vergleich zur Prädilutions-Hämofiltration (Prä-HF) eine deutlich höhere Elimination erreichte. So betrug die RR für Prä-HF 33,8 % bzw. 30,6 %. Auch diese Studie unterstreicht den erheblichen Einfluss der Diffusion gegenüber dem rein konvektiven HF-Verfahren.

Meyer et al. (2004) demonstrierten die Bedeutung der Diffusion auf die Entfernung proteingebundener Toxine, indem sie in einem In-vitro-Versuch den Dialysatfluss sowie die Größe der Membranoberfläche variierten. Dabei wurde die Clearance der Testsubstanz Phenolrot, das zu 94 % an Albumin gebunden wird, gemessen. Sowohl ein höherer Dialysatfluss (300 ml/min vs. 700 ml/min) als auch eine größere Membranoberfläche (1,3 m² vs. 2,0 m²), beide Stellgrößen haben Einfluss auf die Diffusion, resultierten in einer signifikant höheren Clearance von 11 ml/min vs. 16 ml/min bzw. 14 ml/min vs. 23 ml/min.

Um eine deutliche Steigerung der Entfernung proteingebundener Toxine zu erreichen, ist eine Modifikation der aktuell verfügbaren extrakorporalen Nierenersatzverfahren unumgänglich. Dabei ist die Erhöhung des Anteils freien Toxins naheliegend, da nur diese Fraktion die Dialysemembran passieren kann (s.o.).

Untersuchungen zur Proteinbindung der Urämietoxine zeigten, dass diese grundsätzlich reversibel sind, da sie durch elektrostatische bzw. Van-der-Waals-Kräfte zustande kommen (Vanholder et al., 1992; Jourde-Chiche et al., 2009). Die Bindung zwischen Toxin und Albumin wird durch die Affinität und die Kapazität charakterisiert und kann auf drei-erlei Arten verändert werden (Devine et al., 2014):

1. durch die Erhöhung der Ionenstärke im Plasma,
2. durch Erhöhung der Temperatur und
3. durch Verdünnung des Plasmas.

Die Erhöhung der Ionenstärke durch Steigerung der $[Na^+]$ scheint mit der elektrostatischen Bindung der Toxine an Albumin zu interferieren. In-vitro-Experimente konnten in diesem Zusammenhang nachweisen, dass eine Erhöhung der $[Na^+]$ im Plasma von 150 mmol/l auf 750 mmol/l zu einer unmittelbaren und proportionalen Anhebung der Dissoziationskonstanten K_D von IS von $13,2 \pm 3,7 \mu\text{mol/l}$ auf $56,2 \pm 2,0 \mu\text{mol/l}$ führt (Devine et al., 2014). War man ursprünglich von einer deutlich höheren Bindungsaffinität von IS an Albumin ausgegangen (Vanholder et al., 1992; T. Sakai et al., 2001), konnte gezeigt werden, dass, im Gegensatz zum Verhalten in wässriger Lösung, als Ausdruck einer Konkurrenz um die Bindungsstelle von IS an Albumin, im Plasma eine deutlich geringere Affinität zwischen diesen Stoffen besteht. Eine Erhöhung der Temperatur von 25 auf 37 °C verringerte den an Albumin gebundenen Anteil von IS bei unterschiedlichen Ionenstärken im Plasma (0,15 M: Reduktion von 90 % auf 86 %; 0,61 M: Reduktion von 83 % auf 77 %) (Devine et al., 2014). Im Hinblick auf die Bindungskapazität führt eine Verdünnung von Plasma ebenfalls zu einem größeren Anteil freier Toxine, indem die totale Bindungskapazität der Proteine für Toxine verringert wird (Yamamoto et al., 2013;

Devine et al., 2014). Dabei handelt es sich um eine bisher ungeklärte Beobachtung, möglicherweise hervorgerufen durch Veränderungen in der Albuminbindungskapazität.

Basierend auf diesen Zusammenhängen wurde ein bestehendes Dialyseverfahren modifiziert, um den freien Anteil und damit die Entfernung proteingebundener Toxine zu erhöhen. Hierfür bot sich die Modifikation einer Prä-HDF an, da im Rahmen dieses Verfahrens eine Erhöhung der $[Na^+]$ und die anschließende Korrektur der resultierenden, gewünschten Hybernatriämie möglich war und mit einer Verdünnung des Plasmas verknüpft werden konnte. Im Gegensatz dazu ist eine Veränderung der Temperatur des Blutes nur in engen physiologischen Grenzen möglich, um eine Denaturierung von Eiweiß zu vermeiden (Gelde, 2014). Nach zuvor erfolgreichem Tierversuch war es das Ziel der vorliegenden Arbeit, die klinische Anwendbarkeit, Effektivität und Verträglichkeit des modifizierten Prä-HDF-Verfahrens zu demonstrieren.

4.1. Klinische Effekte der modifizierten Prädilutions-Hämodiafiltration

Die angestrebte Steigerung der $[\text{Na}^+]$ im Plasma wurde durch dosierte Zugabe einer hyperosmolaren Kochsalzlösung (5000 mmol/l) in die „online“ aufbereitete Infusionslösung der Prä-HDF erreicht. Ziel war es, die $[\text{Na}^+]$ im Plasma vor dem Dialysator auf 240 mmol/l einzustellen. Dieser Wert wurde basierend auf den Tierversuchen festgelegt und stellte einen Kompromiss zwischen Entfernung der Urämietoxine und der Korrektur der Hypernatriämie unter den Bedingungen der klinischen Situation dar, wobei die Sicherheit der Patienten oberste Priorität hatte. Um Letzterem gerecht zu werden, wurde die $[\text{Na}^+]$ im arteriellen und venösen Teil des extrakorporalen Systems in kurzen Abständen kontrolliert, bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hatte. Mit einer mittleren $[\text{Na}^+]$ von 232 ± 7 mmol/l wurde die Ziel- $[\text{Na}^+]$ mit nur geringen Schwankungen nahezu perfekt erreicht.

Ebenso wie bei den Kontrollbehandlungen traten sowohl während als auch im interdialytischen Intervall bei keiner der insgesamt acht durchgeführten HDF-IPIS-Behandlungen klinisch fassbare Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen, Blutdruckschwankungen oder vermehrtes Durstgefühl etc. auf. Im Vergleich zu HD und HDF waren bei der HDF-IPIS die prä- und postdialytischen Blutdruckwerte ebenso wenig unterschiedlich wie die Gewichtszunahme bis zur folgenden Routinebehandlung als Ausdruck einer gegebenenfalls vermehrten Flüssigkeitsaufnahme. Bei den acht Probanden handelte es sich allerdings auch um klinisch stabile und seitens der Trinkmengenbegrenzung eher disziplinierte Patienten. Des Weiteren kam es ebenfalls nicht zu technischen Problemen oder sichtbarer Thrombusbildung im extrakorporalen System.

4.2. Entfernung der proteingebundenen Urämietoxine

In vorausgegangenen Ex-vivo-HDF-IPIS-Versuchen wurde im Vergleich zu einer physiologischen $[\text{Na}^+]$ von 150 mmol/l bei einer $[\text{Na}^+]$ von 500 mmol/l im Plasma für IS eine um 30–50 % größere Reduktionsrate, die nicht der in der vorliegenden Studie verwendeten RR, sondern einer Clearance-Messung entspricht, erzielt (Devine et al., 2014). Die in der vorliegenden Studie eingestellte, deutlich geringere $[\text{Na}^+]$ von 232 ± 7 mmol/l ließ somit eine erheblich geringere Effektivität bezüglich der Entfernung von IS, und analog ebenso

für pCS, erwarten. Tatsächlich konnten lediglich für die RR und die dialytische Clearance von freiem IS signifikante Unterschiede zu den Kontrollbehandlungen ermittelt werden. So betrug die RR $67,8 \pm 7,9$ % und lag damit 39 % bzw. 9 % über der von HD ($48,7 \pm 23,6$ %) bzw. HDF ($62,4 \pm 8,8$ %). Die dialytische Clearance für freies IS war bei der HDF-IPIS mit $31,6 \pm 12,8$ ml/min deutlich höher ($P = 0,017$) im Vergleich zu HD ($23,0 \pm 14,8$ ml/min) und HDF ($25,4 \pm 10,5$ ml/min). Für sämtliche andere Parameter, und insbesondere für alle Effektivitätsparameter zur Entfernung von pCS, fanden sich zwar durchgehend höhere Werte für die HDF-IPIS, allerdings ohne signifikante Unterschiede zu den Kontrollbehandlungen.

Der Grund für die geringfügig höhere Entfernung von IS gegenüber pCS im Rahmen der HDF-IPIS-Behandlung ist unklar, deckt sich aber mit den Ergebnissen verschiedener anderer Studien (Meert et al., 2009; Krieter et al., 2010; Cornelis et al., 2015). Der Unterschied im Grad der Proteinbindung zwischen pCS und IS ist marginal und daher vermutlich nicht geeignet, diese Beobachtung vollständig zu erklären. So betrug die Proteinbindung von pCS in der vorliegenden Studie ca. 93 % und für IS ca. 90 %. Dies liegt im Bereich der Angaben in der Literatur, wo Werte zwischen 95 % und 96 % bzw. 93 % und 95 % angegeben sind (Krieter et al., 2010; Olivier Deltombe et al., 2015). Auch den geringen Größenunterschied zwischen den beiden Substanzen (pCS 108 Da, IS 213 Da) als Erklärung heranzuziehen, erscheint nicht schlüssig. Letztlich bestätigt die höhere Entfernung von IS die Tatsache der deutlich höheren Dissoziationskonstante K_D , die im urämischen Milieu für IS bei $406 \mu\text{M}$ liegt, während der Wert für pCS lediglich $11,2 \mu\text{M}$ beträgt. Mit zunehmender Ionenstärke nimmt der Unterschied zwischen den Dissoziationskonstanten darüber hinaus weiter zu (Devine, 2013).

Beim Vergleich der Entfernung der proteingebundenen Toxine im Rahmen der vorliegenden Studie mit jenen in der Literatur ergeben sich erhebliche Probleme durch wesentliche methodische Differenzen, die neben den Behandlungsparametern der Dialysemethoden auch die gemessenen Leistungsparameter betreffen. Insgesamt erscheint ein Vergleich zwischen den RR am sinnvollsten.

Meert et al. (2009) ermittelten für die Prä-HDF eine RR für gesamtes pCS von $41,9 \pm 6,3 \%$ und für gesamtes IS von $48,5 \pm 10 \%$. Die höheren RR im Vergleich zur vorliegenden Studie (gesamtes pCS $37,9 \pm 15,9 \%$, gesamtes IS $33,6 \pm 7,0 \%$) ergeben sich aus dem höheren Blutfluss und dem höheren Infusionsvolumen, die eine effektivere Behandlung erlauben. Erheblichen Einfluss dürfte auch die Korrektur des postdialytischen Wertes, der für die Ermittlung der RR herangezogen wird, genommen haben. Meert et al. (2009) verwendeten zur Korrektur Totalprotein, das bekanntermaßen zum Teil durch die Behandlung eliminiert wird und damit die RR positiv beeinflusst, während in der vorliegenden Studie der Hämatokrit genutzt wurde (Schneditz et al., 2012), der keinen derartigen systematischen Fehler bei der Berechnung der RR nach sich zieht.

Krieter et al. (2010) verfahren bei der Korrektur des postdialytischen Wertes ebenso wie Meert et al. (2009), weshalb beim Vergleich mit den Werten der vorliegenden Studie die RR ebenfalls überschätzt wurden. Dabei erzielten sie bei der HD-Behandlung mit zwei verschiedenen, sich in der Permeabilität unterscheidenden High-flux-Dialysemembranen für gesamtes pCS eine RR von $45,6 \pm 2,0 \%$ bzw. $47,3 \pm 14,8 \%$ und für gesamtes IS von $50,4 \pm 2,6 \%$ bzw. $52,2 \pm 12,2 \%$, womit sie im Vergleich zur vorliegenden Studie (gesamtes pCS $37,0 \pm 8,8 \%$, gesamtes IS $32,6 \pm 9,2 \%$) deutlich höhere RR erreichten. Ähnlich wie bei Meert et al. (2009) verwendeten auch Krieter et al. (2010) ebenfalls einen deutlich höheren Blutfluss, der die Effektivitätsunterschiede darüber hinaus erklärt.

Cornelis et al. (2015) erreichten bei der HD für gesamtes pCS eine RR von 32% und für gesamtes IS von 37% . Auch sie nahmen eine Korrektur des postdialytischen Wertes auf ähnliche Weise wie Meert et al. (2009) und Krieter et al. (2010) vor. Obwohl sie einen höheren Blut- und Dialysatfluss als die vorliegende Studie verwendeten, lag die Entfernung der proteingebundenen Toxine deutlich niedriger als die zuvor erwähnten Referenzen, ohne dass der Grund dafür ersichtlich wird.

Die RR der freien Toxinfraktion wurden von Krieter et al. (2010) und Cornelis et al. (2015) bestimmt. Für freies pCS ermittelten sie im HD-Verfahren Werte zwischen 29% und $47,5 \%$ (Krieter et al., 2010) bzw. für eine vierstündige HD-Behandlung 57% (Cornelis et

al., 2015). Für freies IS betrug die Werte zwischen 43,3 % und 54,5 % bzw. 55 %. Während die Ergebnisse für freies IS ($48,7 \pm 23,6$ %) in der vorliegenden Studie unter HD-Bedingungen im Bereich der beiden zitierten Studien lagen, war die Entfernung von freiem pCS sowohl in der vergleichbaren HD-Behandlung ($63,5 \pm 16,5$ %), als auch in der HDF ($69,8 \pm 15,7$ %) und der HDF-IPIS ($70,6 \pm 17,0$ %) deutlich höher. Neben den bereits oben genannten methodischen Unterschieden zwischen den Studien, die eine effektivere Behandlungseinstellung mit deutlich höheren Blutflüssen bei Krieter et al. (2010) und Cornelis et al. (2015) aufwies als in der vorliegenden Arbeit, mögen auch Unterschiede im untersuchten Patientenkollektiv eine Rolle bei der Entfernung der freien Toxine gespielt haben. So konnten exemplarisch für vegetarisch lebende Dialysepatienten um ca. 50 % niedrigere totale pCS- und IS-Plasmaspiegel vor der Dialysebehandlung nachgewiesen werden (Kandouz et al., 2016). Auch ist ein Einfluss in der Darmbesiedelung auf die Höhe der proteingebundenen Toxinspiegel bekannt (Redinbo, 2014). Die vorliegende Studie war jedoch nicht darauf ausgerichtet, Zusammenhänge zwischen Ernährung, Darmbesiedelung und Toxinspiegel zu untersuchen. Es bleibt lediglich festzuhalten, dass die Patienten der vorliegenden Studie deutlich niedrigere Ausgangsplasmaspiegel für gesamtes pCS und IS (HD $21,0 \pm 10,0$ mg/l und $13,6 \pm 6,5$ mg/l) aufwiesen. Bei Krieter et al. (2010) lagen die Werte bei $19,6 \pm 17,8$ mg/l und $22,1 \pm 7,9$ mg/l, während sie bei Cornelis et al. (2015) $31,0 \pm 19,0$ mg/l und $31,6 \pm 11,2$ mg/l betrug. Interessant in diesem Zusammenhang war auch die Veränderung der Proteinbindung vor und nach der Behandlung, die unabhängig von der Behandlungsform um ca. 5 % in der vorliegenden Studie abnahm, obwohl sich bekanntermaßen zwischen freier und gebundener Fraktion der proteingebundenen Toxine immer ein Äquilibrium einstellt (Farrell et al., 1972; Devine et al., 2014). Bei Krieter et al. (2010) fand sich hingegen kein Unterschied im Grad der Proteinbindung. Er betrug konstant 96 %. Warum in der vorliegenden Studie im Laufe der Behandlung deutlich mehr Toxin herausgelöst wurde und ob ein Zusammenhang mit den niedrigeren Ausgangstoxinwerten besteht, ist unklar. Letztlich steht durch eine geringere Proteinbindung mehr freies Toxin für die dialytische Entfernung zur Verfügung (Devine et al., 2014), wodurch möglicherweise die deutlich höheren RR für die proteingebundenen Toxine erklärt werden können.

Verglichen mit den Angaben in der Literatur zeigten sich die Werte für die dialytische Clearance und die Masse an Toxin im Dialysat in der vorliegenden Studie auf einem vergleichbaren Niveau. Aufgrund der großen methodischen Unterschiede zwischen den Studien (siehe auch Tab. 13) wird auf einen darüber hinausgehenden Vergleich in Bezug auf diese Parameter verzichtet.

Bammens et al. (2004) zeigten in einer randomisierten Cross-over-Studie mit 14 Patienten bei der Entfernung von P-Cresol, das die Summe aus pCS und Paracresylgluconid darstellt, dialytische Clearances von 20,3 ml/min (HD), 26,8 ml/min (Postdilutions-HDF), 23,2 ml/min (Prä-HDF, mit 20 l Substitutionsvolumen) und 35,2 ml/min (Prä-HDF mit 60 l Substitutionsvolumen). Die von ihnen ermittelte Masse im Dialysat lag zwischen 79,7 mg und 108,0 mg. Cornelis et al. (2015) erreichten bei der vierstündigen HD von dreizehn Patienten für freies IS eine dialytische Clearance von $25,5 \pm 8,1$ ml/min. Die Masse im Dialysat betrug $148,2 \pm 80,3$ mg. Für pCS lagen für die dialytische Clearance und die Masse im Dialysat keine Werte vor. Krieter et al. (2010) erzielten während HD-Behandlungen zum Vergleich zweier High-flux-Membranen, die sich nur in der Albuminpermeabilität unterschieden, dialytische Clearances für freies pCS zwischen $40,0 \pm 24,4$ ml/min und $49,9 \pm 26,3$ ml/min. Für freies IS zeigten sich Werte zwischen $42,5 \pm 21,5$ ml/min und $51,7 \pm 18,1$ ml/min. Die Massen im Dialysat betrugen zwischen 78 ± 62 mg und 88 ± 84 mg für pCS und 89 ± 50 mg und 114 ± 50 mg für IS.

In der vorliegenden Studie betrug die dialytische Clearance des freien Anteils pCS $33,5 \pm 14,9$ ml/min (HDF-IPIS), $31,5 \pm 18,7$ ml/min (HDF) und $30,8 \pm 12,8$ ml/min (HD). Bei IS lag die dialytische Clearance des freien Anteils bei $31,6 \pm 12,8$ ml/min (HDF-IPIS), $25,4 \pm 10,5$ ml/min (HDF) und $23,0 \pm 14,8$ ml/min (HD). Die Bestimmung der Masse im Dialysat von pCS ergab bei der HDF-IPIS $78,4 \pm 42,7$ mg, bei der HDF $77,5 \pm 55,8$ mg und bei der HD $76,8 \pm 35,8$ mg, ohne dass Unterschiede zwischen den Behandlungsarten nachzuweisen waren. Bezüglich IS betrugen die Werte bei der HDF-IPIS $74,2 \pm 36,3$ mg, bei der HDF $59,4 \pm 30,7$ mg und bei der HD $64,0 \pm 36,4$ mg. Aufgrund der großen Streuung im Rahmen der kleinen Patientenstichprobe fanden sich auch hier keine signifikanten Differenzen.

Verglichen mit den vorherigen Ex-vivo-Experimenten wurde bei der hier gezeigten ersten klinischen Anwendung der HDF-IPIS nur eine moderate Anhebung der Ionenstärke in Form einer passageren Hypernatriämie durch Kochsalz-Infusion vorgenommen. Dennoch konnte eine, im Vergleich zu den Kontrollbehandlungen, signifikante, wenn auch insgesamt geringe Steigerung der Effektivität der Elimination proteingebundener Toxine erzielt werden, so dass von einer grundsätzlichen Eignung des Verfahrens ausgegangen werden kann. Eine darüber hinaus gehende Verbesserung der Eliminationsleistung würde neben höheren Blut- und Dialysatflüssen eine weitere Anhebung der Ionenstärke voraussetzen.

	Membran	Blutfluss (ml/min)	Dialysat- fluss reell (ml/min)	Substitutionsfluss (ml/min)	Behandlungs- dauer (min)
eigene Studie	HF PES 2,1 m ²	250	575 (HD) 575 (HDF/ HDF-IPIS)	125 (HDF/ HDF-IPIS)	240
Cornelis (2015)	HF PSU 1,8 m ²	300	600	62,5	240/ 480
Krieter (2010)	HF PES 1,9 m ²	378 ± 33	500 ± 0	94 ± 9	229 ± 22
Lesaffer (2000)	HF PSU 1,3 m ² LF PSU 1,8 m ² HF Cell. 1,5 m ²	250	500	/	240
Meert (2009)	PF 170 1,7 m ²	311 ± 17 (Post-HDF) 315 ± 15 (Prä-HDF)	619 ± 4 (Post-HDF) 535 ± 8 (Prä-HDF)	81 ± 4 (Post-HDF) 165 ± 8 (Prä-HDF)	248 ± 13 (Post-HDF) 249 ± 13 (Prä-HDF)
Meijers (2008)	HF PSU 1,8 m ²	250-300	500	/	240
Bammens (2004)	HF PSU 1,8 m ²	320	500	95 (Prä-/Post- HDF20) 268 (Prä-HDF60)	230

Tab. 13: Übersicht zu den Behandlungsparametern der Vergleichsstudien

4.3. Hämokompatibilität der modifizierten Prädilutions-Hämodiafiltration

Beim Kontakt von Blut mit künstlichen Oberflächen kommt es zu einer Aktivierung des Immunsystems, wodurch eine entzündliche Reaktion mit Komplementaktivierung und konsekutiver Leukozytenaktivierung hervorgerufen wird. Diese auf Untersuchungen zu cellulosischen Dialysemembranen beruhende Erkenntnis ist inzwischen mehr als 40 Jahre alt (Craddock et al., 1977). Zur Quantifizierung der Aktivierung des Komplementsystems via des sogenannten Alternativen Signalwegs hat sich die Messung verschiedener Komplementfaktoren, unter anderem C5a, etabliert. Zur Bestimmung der Zellaktivierung durch Komplement, aber auch durch direkten Oberflächenkontakt ist der Verlauf der Leukozytenzahlen während der Behandlung geeignet (Cheung, 1990) sowie eine Messung der Thrombozytenzahlen üblich (Daugirdas et al., 2012). Um eine etwaige Thrombogenität einer Dialysemembran zu quantifizieren, hat sich die Messung des Thrombin-Antithrombin-III-Komplexes als Maß der Aktivierung des Gerinnungssystems bewährt. Der Parameter weist darüber hinaus den Vorteil auf, dass aufgrund seiner Größe (96 kDa) keine dialytische Entfernung des Komplexes stattfindet (Lane et al., 1994).

Die im Rahmen der vorliegenden Studie eingesetzte High-flux-Dialysemembran PUREMA® H aus einer Polyethersulfon-/Polyvinylpyrrolidon-Mischung ist eine moderne synthetische Dialysemembran und hoch biokompatibel. Ihre Hämokompatibilitätseigenschaften wurden mit ihrer Einführung 2007 erstmals in einer Vergleichsstudie publiziert (Krieter et al., 2007). Bezüglich der Komplementaktivierung zeigte sie bei minimaler Leukozytenaktivierung eine geringere C5a-Freisetzung als eine Polysulfonmembran, die unter anderem auch der Entfernung dieses Mittelmoleküls (11 kDa) geschuldet sein konnte. Auch die Gerinnungsaktivierung gemessen an der Bildung des Thrombin-Antithrombin-III-Komplexes war gering. In der vorliegenden Studie galt es, den Einfluss der erhöhten Ionenstärke auf die oben genannten Hämokompatibilitätsparameter zu untersuchen.

4.3.1. Komplementaktivierung C5a

Die C5a-Konzentrationen lagen bei allen drei Behandlungen stets unter 1,0 µg/l, die Kinetiken verhielten sich jedoch auffallend unterschiedlich. Passend zum jeweiligen Leukozytennadir zeigte sich ein Anstieg von C5a mit einem Zenit nach 5 min bzw. 15 min bei HDF bzw. HD. Bei der HDF-IPIS wurde der Zenit verzögert erst nach 30 min erreicht; darüber hinaus fand sich auch kein paralleler Leukozytenabfall. Der Zenit war bei allen drei Behandlungsarten ähnlich hoch, unterschied sich signifikant von den jeweiligen Ausgangswerten und betrug für HD, HDF und HDF-IPIS $0,86 \pm 0,63$ µg/l, $0,69 \pm 0,46$ µg/l, $0,84 \pm 0,57$ µg/l. Im Gegensatz zu den Vergleichsbehandlungen verlief die Abnahme der C5a-Spiegel bei der HDF-IPIS nach dem Zenit im weiteren Verlauf der Behandlung deutlich langsamer. Dieser Unterschied muss mit der erhöhten $[Na^+]$ bzw. Ionenstärke im Plasma in Zusammenhang stehen, ohne dass die genauen Mechanismen dafür bekannt sind. Nach 240 min ($0,25 \pm 0,25$ µg/l) war der C5a-Spiegel bei der HDF-IPIS im Vergleich zu Ausgangswert ($0,10 \pm 0,05$ µg/l) und Vergleichsbehandlungen immer noch signifikant erhöht.

In der bereits erwähnten Studie von Krieter et al. (2007), die den C5a-Verlauf während der HD untersuchte, zeigte sich der Zenit von C5a nach 10 min und betrug vergleichbar zur vorliegenden HD-Behandlung $1,2 \pm 1,2$ µg/l. In der vorliegenden Studie wurde zum Zeitpunkt 10 min keine Blutabnahme durchgeführt, so dass der wahre Zenit bei der HD-Behandlung möglicherweise verpasst wurde. Ein weiteres Indiz für diese Vermutung ist der 15-min-Zenit bei der vorliegenden HDF-Behandlung. Des Weiteren war die Kinetik des C5a-Verlaufes mit einem stabilen Spiegel nach 30 min bis zum Ende der Behandlung vergleichbar. Interessanterweise wurde wie bei der HDF-IPIS das Ausgangsniveau nicht mehr erreicht, allerdings bestand kein signifikanter Unterschied mehr am Ende der Behandlung (Krieter et al., 2007).

Kinetik und Maxima der Komplementaktivierung in der vorliegenden Studie waren über die Studie von Krieter et al. (2007) hinaus vergleichbar mit den Beobachtungen bei anderen synthetischen High-flux-Dialysemembranen (Grooteman et al., 1995; Hoenich et al., 1995; Hoenich et al., 1997). Verglichen mit der Komplementaktivierung wie sie mehr

als 20-fach höher für cellulose Membranen beschrieben worden ist (Cheung, 1990) und mit einer erhöhten Mortalität bei Dialysepatienten assoziiert sein soll (Hakim et al., 1996), liegt sie auf einem äußerst geringen und damit besonders hämokompatiblen Niveau.

4.3.2. Zellaktivierung

Im Gegensatz zum parallel zu den Maxima der Komplementaktivierung beobachteten Nadir der Leukozytenzahlen nach 5 min bzw. 15 min bei HDF ($94 \pm 3,8 \%$) bzw. HD ($93 \pm 10,1 \%$), war bei der HDF-IPIS eine relativ gleichmäßige Abnahme der Leukozyten über die Dauer der Behandlung zu sehen. Ein typischer Nadir trat somit nicht auf. Gegenüber dem Ausgangswert war bei der HDF-IPIS die Leukozytenzahl erstmals ab 180 min signifikant erniedrigt; am Ende war sie bis auf $81,8 \pm 11,3 \%$ signifikant abgefallen.

Die Reduktion der Leukozytengesamtzahl zum Ende der HDF-IPIS Behandlung kam durch eine Abnahme der Monozyten- bzw. der neutrophilen Granulozytenzahl zustande, die ab dem Zeitpunkt 120 min bzw. 240 min gegenüber dem Ausgangswert signifikant gefallen waren. Signifikant niedrigere Werte gegenüber dem Ausgangswert zeigten sich bei der HD für die neutrophilen Granulozyten nach 240 min bzw. bei der HDF für die Monozyten nach 180 min. Die Lymphozytenzahl hingegen wies bei allen drei Behandlungsarten keine signifikanten Unterschiede auf.

Die Kinetik und die maximale Ausprägung des Leukozytenabfalls wie sie bei der HD und HDF der vorliegenden Studie zu beobachten war, sind insgesamt typisch für synthetische Dialysemembranen. Klingel et al. (2002) verzeichneten bei der HD einen Nadir von 93–94 % nach 15 min und wieder vollständig erholte Werte am Ende der Behandlung.

Bei Krieter et al. (2007) hingegen zeigte sich während der HD, bei der die gleiche synthetische Membran PUREMA® H wie in der vorliegenden Studie zur Anwendung kam, eine Abnahme der Leukozytenzahl mit einem Nadir von $91,6 \pm 13,4 \%$ bereits nach 5 min, gefolgt von einer Stabilisierung nach 30 min ohne weitere sich anschließende, größere Abweichungen. In einer weiteren HD-Studie von Krieter et al. (2008) war bei dieser

Membran ebenfalls eine im Vergleich zum Ausgangswert signifikante Abnahme der Leukozytenzahl mit einem Nadir nach 5 min von 93 ± 4 % zu beobachten. Auch hier erhielten sich die Werte anschließend wieder und blieben konstant bis zum Behandlungsende. Die Kinetik der Leukozytenzahl bei beiden Studien war damit nahezu identisch mit jener der vorliegenden HD-Behandlung und mit geringen Einschränkungen hinsichtlich des zeitlichen Auftretens des Nadirs auch mit jener der HDF.

Im Vergleich mit cellulosischen Membranen gilt es bei den Angaben in der Literatur zu beachten, dass sich bei reinen Cellulose-Membranen (z.B. Cuprophan, regenerierte Cellulose) deutlich höhere Komplementfreisetzungen und Leukozytenabfälle als bei synthetisch modifizierten Cellulose-Membranen (z.B. Cellulose-Acetat) zeigen. Da bei synthetisch modifizierten Cellulose-Membranen dementsprechend Leukozytenabfälle auf ca. 65 %, bei unmodifizierten Cellulose-Membran sogar auf bis zu 28 % (Hoenich et al., 1997), bei einer Cellulose-Acetat-Membran auf 44 % (Hernandez et al., 2004) und bei einer regenerierten Cellulose-Membran auf 24 % (C. C. Wu et al., 2005) verzeichnet wurden, ist der passagere Rückgang der Leukozytenzahlen bei der vorliegenden Studie als sehr gering einzustufen, so dass insgesamt eine hohe Hämokompatibilität vorlag.

Die Kinetik der Leukozytenzahl bei der HDF-IPIS hingegen ist überraschend und es ist naheliegend, einen Zusammenhang mit der erhöhten Ionenstärke herzustellen, die möglicherweise zu einer osmotischen Instabilität mit anschließender Vulnerabilität gegenüber dem mechanischen Stress der Blutpumpe des Dialysegerätes geführt haben könnte, da sich der Abfall der Zellzahl kontinuierlich während der Behandlung fortsetzte.

Bei Voruntersuchungen konnte jedoch eine größere Resistenz der Leukozyten im Vergleich zu den Erythrozyten gegen osmotischen Stress aufgezeigt werden. So zeigte sich bei In-vitro- und Ex-vivo-Versuchen erst bei $[Na^+]$ von 500 mmol/l im Plasma ein linearer Abfall der Leukozyten, während bei den Erythrozyten bereits ab 360 mmol/l Hämolyse auftrat (Devine, 2013; Krieter et al., 2016). Im Gegensatz zum kontinuierlichen Abfall der Leukozytenzahlen fand sich bei der HDF-IPIS jedoch keine stetig zunehmende Hämolyse (s. 3.8.3 Hämolyseparameter), die bei stärkerer Fragilitätszunahme der Erythrozyten

aufgrund der osmotischen Effekte ebenfalls zu erwarten gewesen wäre. Eine mechanische Schädigung der Zellen erklärt somit den Leukozytenverlauf nicht hinreichend. Betrachtet man hingegen die Kinetik der parallelen, leukozytenaktivierenden Komplementfreisetzung anhand des Verlaufs der C5a-Konzentrationen, fällt auf, dass auch hier Unterschiede zwischen HD und HDF einerseits und der HDF-IPIS andererseits zu beobachten waren. So zeigte sich bei Letzterer entsprechend zur kontinuierlichen Abnahme der Leukozytenzahl ein parallel erhöhter C5a-Spiegel, auch über das Behandlungsende hinaus. Auch wenn die veränderten Kinetiken von C5a- und Leukozytenverlauf ohne Zweifel mit der NaCl-Infusion in Verbindung stehen, bleiben die genauen pathophysiologischen Zusammenhänge unklar. Über eine direkte Interaktion mit dem Komplementsystem kann ebenso spekuliert werden wie über eine chemische Modifikation der Dialysemembranoberfläche. Weitere Studien sind erforderlich, um diesen unvorhergesehenen Auffälligkeiten nachzugehen.

4.3.3. Thrombozyten

Keine der drei Behandlungsarten wies einen bedeutsamen Abfall der Thrombozytenzahlen auf. Die niedrigsten Thrombozytenzahlen zeigten sich zwischen 15 min und 60 min bei HD und HDF-IPIS mit einem Abfall der Thrombozytenzahlen auf 95 % und 96 % vom Ausgangswert bzw. auf 255 Tsd./ μl und 239 Tsd./ μl . Bei der HDF trat ein Nadir mit 96 % vom Ausgangswert bei einer Thrombozytenzahl von 230 Tsd./ μl nach 15 min auf. Anders als bei HD und HDF-IPIS stiegen die Werte hernach nicht mehr an und waren ab dem Zeitpunkt 120 min signifikant niedriger im Vergleich zur HD.

Seit Beginn der Dialysetherapie sind „Thrombozyten-Dialysemembran-Interaktionen“ bekannt (Lindsay et al., 1973). So wird als Ursache für den frühen Thrombozytenabfall innerhalb der ersten 15 min einer Dialysebehandlung zum einen eine Adsorption an die Dialysemembran diskutiert (Chanard et al., 2003). Zum anderen handelt es sich aber auch um einen zusätzlichen Verdünnungseffekt durch die im extrakorporalen System befindliche, zum Entlüften und Füllen verwendete Kochsalzlösung, von der ca. 50–100 ml mit dem Blut beim Anlegen des Patienten vermischt werden. Bei einem durchschnittlichen Blutvolumen von 5 Liter würde eine derartige Verdünnung zu einem

Abfall der Thrombozytenzahl um bis zu 2 % führen. Mit zunehmender Entfernung von Plasmawasser zur Korrektur der im interdialytischen Intervall hinzugekommenen Flüssigkeit steigen in der Regel die Thrombozytenzahlen wieder an, teilweise auf ein Niveau oberhalb der Ausgangswerte.

Kinetik und Ausmaß des Abfalls der Thrombozytenzahl der vorliegenden Studie befanden sich bei allen drei Behandlungen im Rahmen der Angaben in der Literatur zu synthetischen Dialysemembranen (Andrassy et al., 1987; Hoenich et al., 1996; Hoenich et al., 1997; Kuragano et al., 2003). So verzeichneten Hoenich et al. (1996) während der HD mit synthetischen Membranen einen Rückgang der Thrombozytenzahlen auf 86,2 % bis 95,7 % nach 15 min mit anschließendem Anstieg über den Ausgangswert hinaus, vergleichbar mit der HD-Behandlung der vorliegenden Studie.

Wenngleich es Unterschiede im Ausmaß des Plättchenabfalls zwischen den synthetischen Membranen gibt – sie reichen von einem Abfall auf 86 % (David et al., 2003) bis hin zu keinem Abfall (Stefoni et al., 2003) –, weisen sie alle eine deutlich geringere Abnahme der Thrombozytenzahl (Daugirdas et al., 2012) und Thrombozytenaktivierung (Cases et al., 1997) verglichen mit cellulosischen Membranen (Cases et al., 1997) auf.

Aus den beiden bekannten Publikationen zur Hämokompatibilität von PUREMA® H sind keine Auffälligkeiten zum Thrombozytenverlauf unter HD-Bedingungen zu entnehmen (Krieter et al., 2007; Krieter et al., 2008). Da es sich ferner bei dieser synthetischen Polyethersulfonmembran um eine inzwischen seit Jahren im klinischen Alltag bewährte High-flux-Membran handelt und sich im Vergleich zu den damit in der vorliegenden Studie durchgeführten HD- und HDF-Referenzbehandlungen keine Unterschiede ergaben, kann ein offensichtlicher negativer Effekt der HDF-IPIS auf die Thrombozyten, z.B. im Sinne einer überschießenden Thrombozytenaktivierung, ausgeschlossen werden.

4.3.4. Gerinnungsaktivierung

Die Messung des Verlaufs der Thrombin-Antithrombin-III-Komplex-Bildung stellt einen etablierten Parameter zur Überprüfung der Gerinnungsaktivierung beim Kontakt mit künstlichen Oberflächen dar. Entsprechend wurde TAT in vielen Studien zur Bewertung

von Dialyseverfahren gemessen (Kolb et al., 1991; Sagedal et al., 2001; Klingel et al., 2004; Schoorl et al., 2011). In der vorliegenden Studie fiel bei der HDF gegenüber der HD zum Ende der Behandlung ein signifikant erhöhter TAT-Spiegel mit $11,1 \pm 9,0 \mu\text{g/l}$ gegenüber $3,6 \pm 1,5 \mu\text{g/l}$ auf. Auch im Vergleich mit der HDF-IPIS ($\text{TAT}_{240} = 5,0 \pm 1,5 \mu\text{g/l}$) war der Wert zwar deutlich, aber nicht signifikant höher. Bei allen drei Behandlungen waren bis zum Zeitpunkt 180 min die TAT-Spiegel zuvor konstant. Da Form und Dosis der Antikoagulation mit Heparin jeweils gleich durchgeführt worden war, muss somit von einem verstärkten gerinnungsaktivierenden Effekt bei der HDF, nicht jedoch der HDF-IPIS, gegenüber der HD ausgegangen werden.

In den bereits oben erwähnten Studien (Krieter et al., 2007; Krieter et al., 2008) wurden bei HD-Behandlungen mit der auch in der vorliegenden Studie verwendeten Dialysmembran TAT-Werte zu Anfang und Ende der Behandlung von $2,1 \mu\text{g/l}$ und $5,9 \mu\text{g/l}$ bzw. $2,4 \mu\text{g/l}$ und $4,8 \mu\text{g/l}$ gemessen, was mit dem geringen Niveau der Gerinnungsaktivierung der vorliegenden Studie während der HD ($2,8 \mu\text{g/l}$ bzw. $3,6 \mu\text{g/l}$) vergleichbar ist. Da in keiner der Studien mit PUREMA® H unter HD ein signifikanter TAT-Anstieg beobachtet wurde, ist somit bei diesem Verfahren einerseits von einer völlig ausreichenden Antikoagulation bzw. andererseits von gut beherrschbaren prokoagulatorischen Eigenschaften der PUREMA® H-Membran auszugehen.

Die in der vorliegenden Studie beobachtete gesteigerte Gerinnungsaktivierung bei der HDF-Behandlung zeigte sich vergleichbar auch in einer randomisierten Cross-over-Studie von Klingel et al. (2004). Dort wurden HD, Prä-HDF und Prä-HF hinsichtlich ihrer prokoagulatorischen Wirkung bei zehn chronischen HD-Patienten untersucht, wobei eine synthetische High-flux-Membran aus Polysulfon/Polyvinylpyrrolidon zum Einsatz kam. Zur Antikoagulation wurde das niedermolekulare Heparin Enoxaparin verwendet. Dabei wurde dieses zum einen als Einzelbolus (50 IU/kg KG) und zum anderen als Bolus (1200 IU) gefolgt von einer kontinuierlichen Gabe (400 IU/h) gegeben. Bei Prä-HDF und Prä-HF zeigte sich bei beiden Schemata der Antikoagulation eine signifikant gesteigerte Gerinnungsaktivierung im Vergleich zur HD-Behandlung. Die TAT-Level lagen dabei beim

Bolus-kontinuierliche-Gabe-Prinzip zu Anfang und Ende der Behandlung zwischen ca. 2 µg/l bzw. 30 µg/l (HD), ca. 3 µg/l bzw. 55 µg/l (HF) und ca. 3 µg/l bzw. 55 µg/l (HDF).

Wenngleich das Niveau der Gerinnungsaktivierung bei Klingel zum Ende aller Behandlungsarten höher lag als bei der hier vorliegenden Studie und daher von einer insgesamt nicht ausreichenden Antikoagulation, auch nicht bei der HD, ausgegangen werden kann, ist dennoch die gleiche Tendenz sichtbar: Bei den konvektiven Dialyseverfahren HF bzw. HDF zeigte sich ein signifikant höheres Ausmaß der Gerinnungsaktivierung im Vergleich zur HD. Diese Hyperkoagulabilität lässt sich durch vermehrte konvektive Prozesse im Zuge größerer Ultrafiltrationsvolumina und daraus resultierendem prokoagulatorischem Scherstress an der Blut-Dialysemembran-Grenzfläche erklären (Klingel et al., 2004).

Interessant bleibt die Tatsache, dass bei der HDF-IPIS eine im Vergleich zur HDF – wenngleich nicht auf einem signifikanten Niveau – verminderte Gerinnungsaktivierung auftrat, welche eher mit dem Maß der Gerinnungsaktivierung während der HD vergleichbar war. Eine Steigerung der Ionenstärke im Blut scheint daher einen Effekt auf die Koagulabilität während konvektiver Dialyseverfahren zu haben. Eine definitive Aussage bezüglich einer antikoagulatorischen Wirkung des HDF-IPIS-Verfahrens kann hier jedoch nicht getroffen werden. Dafür hätte der Fokus des Studiendesigns stärker auf die Antikoagulation gelegt werden müssen.

In der Zusammenschau der Messungen zur Gerinnungsaktivierung lässt sich anhand der erfassten Kinetik und Höhe der TAT-Werte bei der HDF-IPIS vergleichen mit den etablierten Behandlungen der HD und HDF unter den gegebenen Studienbedingungen, auch im Vergleich mit anderen Studien, u.a. zu der in der vorliegenden Studie verwendeten synthetischen PUREMA® H-Membran (Krieter et al., 2007; Krieter et al., 2008) und weiterer synthetischer Membranen (Klingel et al., 2004), keine vermehrte Koagulation durch erhöhte $[Na^+]$ im Plasma beobachten.

4.4. Elektrolytverläufe

4.4.1. Natrium

Beim Dialysepatienten nimmt die Kontrolle des Natriumhaushaltes eine zentrale Rolle ein, da die Fähigkeit der Niere, den Natriumhaushalt zu regulieren, stark eingeschränkt bis aufgehoben ist, und eine Korrektur erheblich durch die Zusammensetzung des Dialysats während der Dialysebehandlung bestimmt wird. Im interdialytischen Intervall kommt es durch höhere $[\text{Na}^+]$ im Plasma zu vermehrtem Durstgefühl mit in der Folge übermäßigem Trinken, Gewichtszunahme und höherem Blutdruck. Während der Dialyse können höhere $[\text{Na}^+]$ eine verbesserte hämodynamische Stabilität und weniger Muskelkrämpfe bewirken (Flanigan, 2000).

Die $[\text{Na}^+]$ -Ausgangswerte im Serum lagen in der vorliegenden Studie zwischen 132 mmol/l und 134 mmol/l und damit leicht unterhalb des Normbereichs von 135–145 mmol/l (Veelken R., 2013). Der Grund für die relativ niedrigen Werte kann zum einen auf die im Studienzentrum generelle Durchführung einer Dialyse mit relativ geringer $[\text{Na}^+]$ im Dialysat erklärt werden, zum anderen ist eine eventuell systematisch geringfügig falsch niedrige Messung des Cobas b 123 POC Blutgassystems (Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, Deutschland) nicht vollständig auszuschließen. Andere Studien wiesen vor Dialyse etwas höhere $[\text{Na}^+]$ -Plasmawerte zwischen $136 \pm 3,3$ mmol/l und $140 \pm 2,9$ mmol/l (Beerenhout et al., 2004; Hwang et al., 2013) auf. Diese waren somit tendenziell auch eher niedrig normal.

Die geplante Erhöhung der Ionenstärke im Plasma während der HDF-IPIS durch Zufuhr einer hypertonen Kochsalzlösung mit dem Erreichen eines $[\text{Na}^+]$ -Zielwertes von 240 mmol/l im Plasma vor dem Dialysator erforderte eine anschließende angemessene Entfernung des zugeführten Na^+ -Überschusses. Zur Optimierung der Na^+ -Entfernung machte dies den Einsatz eines Dialysators mit großer Membranoberfläche, die Einstellung einer moderaten Blut- und darauf bezogen maximierten Dialysatflussrate sowie einer möglichst geringen $[\text{Na}^+]$ im Dialysat notwendig, um einen möglichst großen Na^+ -Massentransfer ins Dialysat zu ermöglichen. Während bei der HDF-IPIS entsprechend eine geräteseitig minimal mögliche Dialysat- $[\text{Na}^+]$ von 130 mmol/l eingestellt

wurde, war diese Notwendigkeit bei den Kontrollbehandlungen nicht gegeben, so dass bei HD und HDF die $[\text{Na}^+]$ im Dialysat individuell entsprechend den jeweiligen Routineeinstellungen der Patienten beibehalten wurden.

Im Verlauf der 240-minütigen HDF-IPIS-Behandlung nahm die $[\text{Na}^+]$ im arteriellen und venösen Plasma kontinuierlich zu. Dabei lagen selbst die Maxima nach 240 min mit einer arteriellen und venösen $[\text{Na}^+]$ von $136 \pm 2,7$ mmol/l bzw. $140 \pm 2,6$ mmol/l trotz signifikantem Unterschied gegenüber dem Ausgangswert immer noch im niedrig normalen und damit ungefährlichen Bereich (Referenzwert 135–145 mmol/l (Veelken R., 2013)). Die $[\text{Na}^+]$ war nach 240 min zum Ende der Behandlung im arteriellen und venösen Blut bei der HDF-IPIS verglichen zur HD ebenfalls signifikant höher, von der HDF jedoch nicht verschieden. Der Anstieg der $[\text{Na}^+]$ ergab sich trotz eines gewaltigen Na^+ -Massentransfers während der HDF-IPIS von 3771 ± 271 mmol, der somit nicht ausreichend war, um den infundierten Na^+ -Überschuss wieder zu entfernen. Im Vergleich dazu betrug der Massentransfer bei der HD und HDF lediglich 187 ± 71 mmol bzw. 184 ± 77 mmol ($P < 0,001$). Die geschätzte Netto- Na^+ -Entfernung lag für die HDF-IPIS jedoch nur bei 71 ± 120 mmol im Vergleich zu 213 ± 144 mmol bzw. 202 ± 196 mmol für HD bzw. HDF.

Um eine mit den Referenzbehandlungen vergleichbare Netto- Na^+ -Reduktion zu erzielen, bedarf es somit einer weiteren Anpassung der Behandlung, am einfachsten in Form einer geringeren $[\text{Na}^+]$ im Dialysat, insbesondere bei höheren Blutflussraten und höheren $[\text{Na}^+]$ im Plasma, die zu einer noch effizienteren HDF-IPIS in Bezug auf die Entfernung von proteingebundenen Urämietoxinen führen. Da in der vorliegenden Studie während der HDF-IPIS aber bereits die minimal mögliche $[\text{Na}^+]$ eingestellt worden war, bedarf diese Maßnahme vorher einer Anpassung des Dialysegerätes und damit einer weitreichenden Kooperation des entsprechenden Herstellers. Bei einer weiteren Steigerung der Blutflussrate gilt es auch, das Verhältnis zwischen Blut- und Dialysatfluss zu beachten. Erniedrigt sich die Konzentrationsdifferenz zwischen Blut und Dialysat durch einen zu geringen Dialysatfluss, sinkt die diffusive Clearance kleinmolekularer Substanzen, einschließlich der Elektrolyte. Geräteseitig war bereits der maximal mögliche Dialysatfluss

eingestellt, so dass eine weitere Steigerung der Blutflussrate nicht ohne Einbuße bei der diffusiven Clearance kleinmolekularer Substanzen möglich gewesen wäre (Hörl, 2004).

Andere Elektrolytgleichgewichte (nicht dargestellt) wie jene für Kalium, Calcium und Bicarbonat zeigten bei der HDF-IPIS im Vergleich mit den Kontrollbehandlungen HD und HDF der vorliegenden sowie vorangegangener Studien ähnliche Werte (Ahrenholz et al., 1998; Beerenhout et al., 2004; Hwang et al., 2013) und waren nicht beeinträchtigt.

4.4.2. Chlorid

Chlorid stellt im Körper als Anion einen Gegenpol zum positiv geladenen Natrium dar und spielt eine wichtige Rolle in der zellulären Homöostase. Es liegt im Körper zu einem großen Teil an Natrium gebunden als Natriumchlorid vor. Im Körper von Dialysepatienten ist die Regulation des NaCl-Haushaltes zu großen Teilen oder vollständig erloschen. Somit kommt es leicht zu einem Kochsalz- und Wasserüberschuss. Folge sind eine interdialytische Gewichtszunahme und Hypertonie. Im Hinblick auf den Säure-Basen-Haushalt steigt im Rahmen des Nierenversagens bei einer Übersäuerung durch Stoffwechselprozesse die Chloridkonzentration im Blut kompensatorisch zu einer sinkenden Bikarbonat-Konzentration an. Das heißt für die Dialyse, dass eine Kontrolle der Chloridkonzentration mit einer ausgeglichenen bis leicht negativen Bilanz erfolgen muss.

Die $[Cl^-]$ nahm im Verlauf der HDF-IPIS-Behandlung im arteriellen und venösen Blut zu. Signifikanzen zwischen den Behandlungsarten zeigten sich erst zum Ende der Behandlung. Hier war die $[Cl^-]$ bei der HDF-IPIS am größten. Innerhalb der Behandlung war ebenfalls erst der 240-min-Wert im Vergleich zum Ausgangswert signifikant erhöht. Für eine Kontrolle des $[Cl^-]$ -Gleichgewichtes gilt, dass diese mit dem Gelingen einer Kontrolle des Na^+ -Gleichgewichtes einhergeht.

4.5. Hämolyseparameter

Freies Hämoglobin und Laktatdehydrogenase

Bei der Durchführung extrakorporaler Nierenersatzverfahren kommt das Blut mit künstlichen Oberflächen in Kontakt. Bei der Zirkulation wird das Blut darüber hinaus Scherkräften und mechanischem Stress durch die Blutpumpen ausgesetzt. Dadurch kann es zu einer Schädigung korpuskulärer Bestandteile des Blutes kommen (Polaschegg, 2009). Neben der Bestimmung freien Hämoglobins, das Rückschlüsse auf eine eventuell stattfindende gesteigerte Hämolyse zulässt, kann auch das intrazelluläre Enzym Laktatdehydrogenase (142 kDa) als Parameter einer vermehrten Zellschädigung, einschließlich einer akuten Hämolyse, bestimmt werden (Myhre et al., 1970).

Während aller drei Behandlungsarten im Rahmen der vorliegenden Studie trat über die gesamte Dauer keine wesentliche Hämolyse auf (siehe Abb. 15 und Abb. 16). Verlauf und Höhe freien Hämoglobins waren bei HDF-IPIS und HD über die Dauer der Behandlung nahezu identisch. Zwischen den Verfahren gab es keine signifikanten Unterschiede. Bei der HDF-IPIS und HD zeigten sich jeweils nach 30 min und 240 min signifikante höhere Werte verglichen zu den restlichen Zeitpunkten. Das freie Hämoglobin lag bei beiden Verfahren jedoch maximal bei 0,0109 g/dl und damit auf dem Niveau einer konventionellen HDF. Bei der HDF zeigte sich bereits vor Behandlungsbeginn ein statistisch nicht signifikant unterschiedlicher Wert von 0,014 g/dl, allerdings muss hier von einem Abnahmeproblem bei einer Probenabnahme ausgegangen werden, da ein einzelner Wert bei 0,095 g/dl lag (n= 8). Bezogen auf die Hämoglobinkonzentration im Blut blieb der relative Anteil freien Hämoglobins stets unter 0,1 % (außer für den angesprochenen Ausgangswert der HDF) und war somit als jederzeit unkritisch zu bewerten.

Bezüglich der LDH-Spiegel mit Werten zwischen 200 U/l und 260 U/l gab es zwischen den drei Behandlungsmodi keine signifikanten Unterschiede, so dass auch dieser Parameter nicht auf eine wesentliche Hämolyse hinwies.

Die korpuskulären Bestandteile des Blutes weisen eine gewisse osmotische Resistenz gegenüber hypertonen Milieus auf, bevor eine Hämolyse auftritt. So untersuchten

Betticher et al. (1989) die osmotische Resistenz von Erythrozyten in einer In-vitro-Studie, bei der die Erythrozyten verschiedener Säugetiere (Mensch, Schaf, Huhn, Säugling) einem hypertonen Milieu ausgesetzt waren. Dabei stellten sie eine lineare Beziehung zwischen Erythrozytenvolumen und osmotischer Resistenz fest: Je kleiner das Erythrozytenvolumen, desto größer die Toleranz gegenüber erhöhter Osmolalität bzw. bis zur Freisetzung von Hämoglobin. Dabei wurde innerhalb einer Grenze von 0,8–4,0 g/l freigesetztem Hämoglobin eine lineare Beziehung zwischen Erythrozytenvolumen und Tonizität der Umgebungslösung gefunden. Interessanterweise wurde weiter festgestellt, dass die maximal mögliche Urinosmolalität, die in der Niere des jeweils untersuchten Säugetieres herrscht, ebenso eine derartige lineare Beziehung zum Erythrozytenvolumen aufweist. D.h., je kleiner das Erythrozytenvolumen des Säugetieres, desto größer die maximal mögliche Urinosmolalität. Diese Beobachtung legte die Interpretation nahe, dass die Resistenz der Erythrozyten gegenüber hypertonen Lösungen bis zur maximal möglichen Urinosmolalität reicht. Diese beträgt beim Menschen 1400 mmol/l (Betticher et al., 1989).

Krieter et al. (2016) fanden jedoch bei Vorversuchen zur vorliegenden Studie während einer Prädilutions-HDF mit einer Standard-HDF-Maschine unter Ex-vivo-Bedingungen bereits bei deutlich geringeren $[Na^+]$ im Plasma als den erwarteten 1400 mmol/l eine vermehrte Hämolyse. So betrug der Anteil freien Hämoglobins bei einer $[Na^+]$ von 500 mmol/l im Plasma nach 20 l rezirkulierten Blutvolumens 17,6 % des Gesamthämoglobins. Der Grund dieser offensichtlich verminderten Resistenz der Erythrozyten gegenüber hypertonen Konzentrationen kann im Vergleich zu den statischen Versuchen von Betticher et al. (1989) in dem dynamischen Vorgang der HDF-Behandlung gesehen werden, bei dem das Blut wiederholt Scherkräften und mechanischem Stress durch die Blutpumpe ausgesetzt ist (Yang et al., 2000). Diese Tatsache könnte gemeinsam mit dem erhöhten osmotischen Stress die Hämolyse erheblich verstärkt haben.

Im Vergleich zu den Vorversuchen von Krieter et al. (2016) lag in der vorliegenden Studie die $[Na^+]$ im Plasma vor dem Dialysator konstant bei relativ moderaten 232 ± 7 mmol/l. Dabei lagen die bei der HDF-IPIS beobachteten Konzentrationen freien Hämoglobins auf

dem Niveau der studieninternen Kontrolluntersuchungen, den etablierten Dialyseverfahren HD und HDF. Dementsprechend lässt sich festhalten, dass die Erhöhung der Ionenstärke im Plasma auf 240 mmol/l während der HDF-IPIS-Behandlung bezüglich des Auftretens einer Hämolyse unkritisch zu sein scheint. Der Effekt einer weiteren Steigerung der Ionenstärke im Plasma zur Effektivitätserhöhung der HDF-IPIS bleibt abzuwarten.

4.6. Effekte auf die Entfernung klein- und mittelmolekularer Substanzen

4.6.1. Harnstoff

Die Entfernung des kleinmolekularen Proteins Harnstoff (60 Da) ist als Marker zur Bestimmung der Dialyseeffektivität etabliert (E. R. A. European Best Practice Guidelines Expert Group on Hemodialysis, Section, 2002a). Gemessen wird sie anhand der Berechnung von URR und Kt/V. Kt/V wird üblicherweise mittels des "Single-Pool-Modells" von Daugirdas (spKt/V) berechnet (Daugirdas, 1993), welches 2015 von der National Kidney Foundation bestätigt wurde (Daugirdas et al., 2015). Die europäischen Richtlinien empfehlen bei dreimaliger Behandlung pro Woche eine minimale Dialyседosis von spKt/V $\sim 1,4$ (E. R. A. European Best Practice Guidelines Expert Group on Hemodialysis, 2002). Die HEMO-Studie zeigte ferner, dass eine Erhöhung von spKt/V von 1,3 auf 1,7 zu keiner Reduktion der Mortalität bei chronischen Dialysepatienten führt (Eknoyan et al., 2002). In der vorliegenden Studie wurde über spKt/V hinaus die Entfernung kleinmolekularer Substanzen anhand der Plasmaclearance und Masse im Dialysat für Harnstoff bestimmt.

Gemessen an spKt/V gab es zwischen HDF-IPIS ($1,53 \pm 0,24$), HDF ($1,63 \pm 0,26$) und HD ($1,46 \pm 0,31$) in Bezug auf die Dialyseeffektivität keine signifikanten Unterschiede. Alle Behandlungen lagen also über dem von den europäischen Richtlinien empfohlenen minimalen spKt/V (E. R. A. European Best Practice Guidelines Expert Group on Hemodialysis, 2002). Ebenso zeigten die Werte für URR und Masse im Dialysat zwischen den drei Behandlungsarten keine signifikanten Unterschiede.

Zum Zeitpunkt 30 min fand sich bei HDF-IPIS ($199,7 \pm 11,2$ ml/min) keine signifikant größere Harnstoffclearance als bei HDF ($198,6 \pm 7,6$ ml/min) und HD ($196,3 \pm 3,7$ ml/min), während nach 240 min eine Zunahme der Clearance bei HDF-IPIS ($202,7 \pm 7,8$ ml/min) im Vergleich zu den Kontrollbehandlungen HDF ($196 \pm 6,3$ ml/min) bzw. HD ($194,8 \pm 9,3$ ml/min) auffiel ($P = 0,011$). Die Clearancezunahme bei der HDF-IPIS könnte sich durch eine Interaktion zwischen infundiertem Natriumchlorid und Dialysemembran erklären lassen, die zu einer verbesserten hydraulischen Permeabilität geführt haben könnte. Eine ähnlich interpretierte Beobachtung machten Senécal et al. (2003), die den

Effekt von infundierter Glukose auf die Leistung einer High-flux-PES-Membran untersuchten. Hier zeigte sich durch die Infusion der, wie NaCl, ebenfalls polaren Glukose ein marginal verbesserter Ultrafiltrationskoeffizient K_{UF} zur Charakterisierung der Dialysemembranpermeabilität. Es erscheint daher möglich, dass polare Substanzen einen Einfluss auf die hydraulische Permeabilität der PES-Membran nehmen. Die Unterschiede sind allerdings marginal und in der vorliegenden Studie wurde der Ultrafiltrationskoeffizient K_{UF} nicht bestimmt, da dies nicht der Fokus der Studie war.

Meert et al. (2009) erzielten bei der Prädilutions-HDF in ihrer Studie zum Zeitpunkt 60 min eine Harnstoffclearance von $230,1 \pm 10,5$ ml/min und eine URR von $77,3 \pm 3,9$ %. Die im Vergleich zur vorliegenden Studie höheren Clearancewerte lassen sich jedoch sehr gut durch einen höheren Blutfluss bei gleichem Dialysatfluss erklären. Trotz höherer Blutflüsse erreichten Meert et al. (2009) keine höhere URR (Meert Prä-HDF $77,3 \pm 3,9$ %) als jene der vorliegenden Studie, was möglicherweise auf geringere prädialytische Harnstoffkonzentrationen sowie unterschiedliche Eigenschaften der Dialysemembranen zwischen den Studien zurückzuführen sein könnte.

Bei Krieter et al. (2010) lagen die Harnstoffclearances nach 30 min bzw. 180 min zwischen 257 ± 19 ml/min (HD) und 289 ± 21 ml/min (HDF) bzw. 256 ± 18 ml/min (HD) und 286 ± 23 ml/min (HDF) und damit über den in der vorliegenden Studie gezeigten Ergebnissen. Die größeren Harnstoffclearances lassen sich erneut gut durch den höher eingestellten Blutfluss erklären.

Die fehlenden Unterschiede im Vergleich mit den studieninternen Kontrollbehandlungen HD und HDF lassen zusammengefasst den Schluss zu, dass, gemessen an Harnstoff, bei der HDF-IPIS keine Einschränkungen bei der Entfernung kleinmolekularer Substanzen resultieren.

4.6.2. β 2-Mikroglobulin

β 2M gilt mit einem Molekulargewicht von 11,8 kDa als prototypischer Vertreter der Mittelmoleküle. Seine Kinetik ist repräsentativ für eine Gruppe von Stoffen, die auch als kleinmolekulargewichtige Moleküle bezeichnet werden (E. R. A. European Best Practice

Guidelines Expert Group on Hemodialysis, Section, 2002b). Es erreicht im urämischen Patienten eine vielfach höhere Konzentration im Blut gegenüber dem Normalwert und ist langfristig an der Entstehung der sog. dialyseassoziierten Amyloidose beteiligt (Yavuz et al., 2005; Mena et al., 2008), wird aber auch mit einer erhöhten Mortalität bei der HD in Verbindung gebracht (Cheung et al., 2008; Okuno et al., 2009). Zur Bestimmung der Eliminationsleistung wurden RR, Plasmaclearance und Masse im Dialysat für β 2M bestimmt. Zusätzlich zur Bestimmung von β 2M wurde in der vorliegenden Studie das etwas größere Mittelmolekül Myoglobin (17,8 kDa) untersucht. Die Plasmakonzentrationen von β 2M und Myoglobin wurden nach der Behandlung zum Ausgleich der ultrafiltrationsbedingten Hämokonzentration entsprechend der Gewichtsveränderungen vor und nach der Dialyse gemäß der modifizierten Formel von Bergström & Wehle korrigiert (1987).

Bei der Entfernung von β 2M gab es zwischen HDF-IPIS und HDF keinen Unterschied, jedoch wies die HDF gegenüber der HD eine bessere Eliminationsleistung im mittelmolekularen Bereich auf. Die Unterschiede waren jedoch nicht sehr groß. So betrugen die RR bei der HDF $70,3 \pm 4,8 \%$, bei der HD $66,2 \pm 6,7 \%$ und bei der HDF-IPIS $68,7 \pm 4,7 \%$. Bei den Plasmaclearances waren nach 30 min die HDF-IPIS mit $62,8 \pm 8,6$ ml/min und die HDF mit $66,0 \pm 5,4$ ml/min der HD mit $52,9 \pm 4,0$ ml/min signifikant überlegen. Nach 240 min war dann nur noch die Clearance der HDF mit $60,0 \pm 11,0$ ml/min signifikant größer als jene der HD mit $51,5 \pm 6,0$ ml/min.

Die bereits zuvor erwähnte Studie von Krieter et al. (2010) erreichte beim Vergleich zweier unterschiedlicher Dialysemembranen während der HD-Behandlung eine RR für β 2M von 68 %. In der vorliegenden Studie wurde bei der HD mit 66,2 % trotz niedrigerer Blutflüsse eine nur geringfügig geringere RR erreicht. Die β 2M-Clearance der HD nach 30 min bzw. 180 min betrug bei Krieter et al. (2010) zwischen 60 ml/min und 63 ml/min bzw. 59 ml/min und 62 ml/min. Damit war die β 2M-Clearance bei der HD-Behandlung der vorliegenden Studie um gut 20 % geringer. Diese Unterschiede waren aufgrund der Verwendung eines um 34 % geringeren Blutflusses sowie eines anderen Dialysators allerdings zu erwarten.

Meert et al. (2009) erzielten eine RR für β 2M von $67,2 \pm 8,8$ % während der Prädilutions-HDF. Die bei der vorliegenden Studie trotz geringerem Blutfluss erreichte, vergleichbare RR von $68,7$ % könnte auf Gewichtsunterschiede der Patienten und eine unterschiedliche Behandlungsdauer zurückgeführt werden. Die 30-min-Clearance der vorliegenden Studie war sowohl bei der HDF-IPIS mit $62,8 \pm 8,6$ ml/min als auch der HDF mit $66,0 \pm 5,4$ ml/min etwas geringer im Vergleich zu jener von Meert et al. (2009) mit $67,2 \pm 18,5$ ml/min. Auch hier kann der niedrigere Blutfluss der vorliegenden Studie (250 ml/min vs. 315 ml/min) die geringeren Werte erklären.

4.6.3. Myoglobin

Die HDF wies mit $39,7 \pm 5,7$ % eine signifikant größere RR für Myoglobin ($17,8$ kD) im Vergleich zur HD mit $30,4 \pm 9,8$ % auf, unterschied sich jedoch nicht signifikant von jener der HDF-IPIS mit $31,0 \pm 6,0$ %. Die tendenziell niedrigere, allerdings gerade noch nicht signifikant unterschiedliche RR der HDF-IPIS im Vergleich zur HDF ist überraschend. Man kann spekulieren, dass es durch die Hyperosmolarität entweder zu einer Änderung am Protein Myoglobin kommt, die dessen Eliminierung behindert, oder dass eine Veränderung an der Dialysemembran den Durchtritt von Myoglobin erschwert. Letzteres erscheint jedoch fraglich, da bei β 2M keine Unterschiede zwischen HDF-IPIS und HDF festgestellt werden konnten.

Krieter et al. (2010) erzielten bei der HD-Behandlung mit zwei unterschiedlichen Dialysemembranen RR für Myoglobin zwischen 37 % bzw. 46 %, die somit um 20 % bzw. 34 % größer waren als die Werte der vorliegenden Studie. Die 30-min-Clearance betrug bei Krieter et al. (2010) 25 ml/min; 26 % mehr als jene der vorliegenden Studie. Die Unterschiede zwischen den HD-Behandlungen lassen sich am ehesten auf die Verwendung eines anderen Dialysators und der bereits o.g. höheren Blutflüsse zurückführen.

In einer prospektiven Cross-over-Studie von Potier et al. (2013) wurde die Entfernung der Mittelmoleküle durch Mixed-Dilutions-HDF im Vergleich zur Prädilutions-HDF bei Behandlungen mit niedrigen Blutflussraten ($Q_B = 250\text{--}300$ ml/min, $Q_D = 600$ ml/min) an 38 Patienten untersucht. Der verwendete Dialysator enthielt eine Polyethersulfon-Membran mit einer Oberfläche von $2,2$ m², die Dialysedauer betrug 240 min. Dabei

wurden bei der Prädilutions-HDF bei einem Blutfluss von 250 ml/min eine RR für Myoglobin von $42,6 \pm 2,6$ % erreicht. Bei gleichem Blutfluss und ähnlichem Dialysatfluss (575 ml/min vs. 600 ml/min) waren sie somit um 7 % bzw. 37 % größer als die RR der HDF bzw. HDF-IPIS bei der vorliegenden Studie.

Bei ähnlicher β 2M-Elimination erscheint die Entfernung von Myoglobin bei der HDF-IPIS verglichen mit den Angaben in der Literatur (Krieter et al., 2010; Potier et al., 2013) zur HDF tendenziell geringer zu sein. Da mit zunehmender Molekülgröße, Myoglobin war mit 17,6 kD die größte im Rahmen der Studie gemessene Substanz, der Trennschärfe und Permeabilität der High-flux-Membran eine gewichtigere Rolle bei der Passage durch die Dialysemembran und damit der Elimination von Stoffen zukommt, ist die verwendete Dialysemembran die vermutliche Ursache für diesen Unterschied. Die vorliegende PUREMA® H-Membran war eine elektronenstrahlsterilisierte Variante, die vermutlich eine geringere Permeabilität als die aus der Literatur bekannten gammastrahlsterilisierten Typen aufwies (Krieter et al., 2007; Krieter et al., 2010). Dass die verwendete Sterilisationsart und -weise einen erheblichen Einfluss auf diese Dialysemembraneigenschaft hat, ist wissenschaftlich gut belegt (K. Sakai, 1989; Gavioli et al., 2002).

4.7. Effekte auf die Entfernung von Albumin

Bei der Bestimmung der Albuminkonzentration in Plasma und Dialysat ging es um die Überprüfung eines eventuellen Albuminverlustes während der HDF-IPIS-Behandlung. Einerseits geht eine Hypalbuminämie bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität einher (Foley et al., 1996), andererseits war die Bestimmung von Albumin im Dialysat für die Bewertung der freien Toxinentfernung von Bedeutung. Ein bedeutsamer Albuminverlust wäre in der vorliegenden Studie möglicherweise auch mit einer signifikanten Entfernung an Albumin gebundener Toxine verbunden gewesen bzw. ein hoher Albuminverlust ins Dialysat hätte also ggf. auch Auswirkungen auf die Beurteilung der Menge an herausgelöstem und anschließend frei ins Dialysat filtriertem pCS und IS gehabt.

Lesaffer et al. (2000) stellten fest, dass ein zu 100 % an Albumin gebundenes Protein nicht im Dialysat nachweisbar war, obwohl es Albuminverluste von 1,97–4,42 g über die

verwendete synthetische Polysulfon-Membran bzw. Cellulose-Triacetat-Membran gegeben hatte. Daraus folgerten sie, dass die durch einen derartigen Albuminverlust entfernte Menge proteingebundener Toxine extrem gering, d.h. unter der Nachweisgrenze, zu sein scheint (Lesaffer et al., 2000). Etwas weniger stark proteingebundene Urämietoxine wie pCS und IS sollten sich nicht anders verhalten.

Die gemessene Albuminmasse im Dialysat war zwischen den drei Behandlungsarten der vorliegenden Studie nicht signifikant unterschiedlich und maß bei der HDF-IPIS $0,37 \pm 0,05$ g, der HDF $0,47 \pm 0,19$ g und der HD $0,30 \pm 0,04$ g. Die Albuminverluste lagen damit im Bereich der bereits oben erwähnten Studie von Potier et al. (2013), die bei Prä-HDF-Behandlungen mit einer synthetischen Membran (FX1000HDF, Polysulfon, $2,2 \text{ m}^2$) mit gleichem Siebkoeffizienten für Albumin ($< 0,001$) wie bei der Membran der vorliegenden Studie einen vergleichbaren Albuminverlust von $0,3 \pm 0,2$ g bzw. $0,5 \pm 0,4$ g bei einem Blutfluss von 250 ml/min bzw. 300 ml/min bestimmten.

Der bei der HDF-IPIS festgestellte Albuminverlust lag in der vorliegenden Studie auf einem für die verwendete Membran bekannten Niveau bei gleichzeitig guter Eliminationsleistung im mittelmolekularen Bereich (Krieter et al., 2007; Krieter et al., 2008) und war vergleichbar mit den Angaben in der Literatur zu den etablierten Verfahren HD (Albuminverlust: 0,5 g) (Krieter et al., 2010) bzw. Prä-HDF (Albuminverlust: 0,3 g) (Potier et al., 2013). Bei der Erhöhung der Ionenstärke im Plasma der Prädilutions-HDF konnte somit einerseits kein erhöhter Albuminverlust während der Behandlung festgestellt werden, andererseits war der gemessene Albuminverlust so gering, dass er für die quantitative Erfassung eliminerter und noch proteingebundener Urämietoxine keine wesentliche Bedeutung spielt.

Schlussfolgerung

Die vorliegende Pilotstudie zeigt die prinzipielle technische und klinische Durchführbarkeit der HDF-IPIS. Bei nachgewiesener adäquater Hämokompatibilität könnte eine effektivere HDF-IPIS mit einer weiteren Steigerung der Toxinentfernung durch eine stärkere Erhöhung der $[\text{Na}^+]$ im Plasma erzielt werden. Hierfür bedarf es jedoch weiterer

Anpassungen am Dialysegerät, wie etwa einer geringeren $[\text{Na}^+]$ im Dialysat, um eine Kontrolle der Na^+ -Bilanz zu ermöglichen.

5. Zusammenfassung

Eine Erhöhung der Ionenstärke im Plasma durch Steigerung der $[Na^+]$ schwächt die Bindung proteingebundener Urämietoxine im Plasma, erhöht die Konzentration freier Toxine und macht sie auf diese Weise zugänglich für eine dialytische Elimination. Basierend auf diesen Zusammenhängen wurde ein bestehendes Prädilutions-Hämodiafiltrationsverfahren modifiziert (HDF-IPIS), indem NaCl hyperosmolar der verwendeten Infusionslösung zugesetzt wurde und eine regionale Hypernatriämie im Plasma resultierte. Die klinische Anwendbarkeit, Verträglichkeit und Effizienz der HDF-IPIS wurde in der vorliegenden Studie an acht Dialysepatienten randomisiert, kontrolliert und cross-over im Vergleich zur Hämodialyse (HD) und unmodifizierter Hämodiafiltration (HDF) demonstriert. Bei fehlenden klinischen Symptomen der Unverträglichkeit erzielte die HDF-IPIS verglichen mit der HD eine um 39 % größere Reduktionsratio für freies IS ($67,8 \pm 7,9$ % vs. $48,7 \pm 23,6$ %; $P = 0,013$). Im Vergleich zu HD und normaler HDF war die dialytische Clearance von freiem IS bei der HDF-IPIS ($31,6 \pm 12,8$ ml/min; $P = 0,017$) ebenfalls signifikant größer. Sämtliche Parameter der Hämokompatibilität, einschließlich der Hämolyseparameter, verhielten sich im Wesentlichen nicht anders als bei den Vergleichsbehandlungen. Über die Behandlungsdauer kam es jedoch beim modifizierten HDF-Verfahren zu einer unzureichenden Netto- Na^+ -Entfernung mit Anstieg der $[Na^+]$ im arteriellen Plasma von 132 ± 2 mmol/l auf 136 ± 3 mmol/ ($P < 0,001$). Die vorliegende Pilotstudie zeigt die prinzipielle technische und klinische Durchführbarkeit der HDF-IPIS. Eine effektivere HDF-IPIS mit einer weiteren Steigerung der Toxinentfernung könnte durch eine stärkere Erhöhung der $[Na^+]$ im Plasma erzielt werden. Hierfür bedarf es jedoch weiterer Anpassungen am Dialysegerät, wie etwa einer geringeren $[Na^+]$ im Dialysat, um eine Kontrolle der Na^+ -Bilanz zu ermöglichen.

Abkürzungsverzeichnis

C5a	Komplementfaktor C5a
HD	Hämodialyse
HDF	Hämodiafiltration
HDF-IPIS	Prä-HDF bei erhöhter Ionenstärke im Plasma (engl. Pre-HDF at increased plasma ionic strength)
HF	Hämofiltration
IS	Indoxylsulfat
LDH	Laktatdehydrogenase
MCV	Mittleres Erythrozytenvolumen (engl. Mean corpuscular volume)
NaCl	Natriumchlorid
PBS	Phosphat gepufferte Salzlösung (engl. Phosphat buffered saline)
pCS	Paracresylsulfat
PES	Polyethersulfon
Prä-HDF	Prädilutions-Hämodiafiltration
RP-HPLC	Reverse-Phase Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. Reversed-phase high performance liquid chromatography)
RR	Reduktionsratio
TAT	Thrombin-Antithrombin-III-Komplex
URR	Harnstoff Reduktionsratio (engl. Urea reduction ratio)
β2M	β2-Mikroglobulin

6. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der HDF-IPIS	9
Abb. 2: Reduktionsratio pCS frei und gesamt im Plasma, Hämatokrit-korrigiert	30
Abb. 3: Reduktionsratio IS frei und gesamt im Plasma, Hämatokrit-korrigiert	32
Abb. 4: Vergleich der Harnstoffplasmaclearances von HD, HDF und HDF-IPIS nach 30 bzw. 240 min ...	33
Abb. 5: Vergleich von Kt/V für HD, HDF und HDF-IPIS	35
Abb. 6: Na ⁺ -Verlauf arteriell und venös.....	40
Abb. 7: Cl ⁻ -Verlauf arteriell und venös	41
Abb. 8: Leukozytenverlauf über die Zeit. Absolute Werte	42
Abb. 9: Leukozytenverlauf über die Zeit relativ im Verhältnis zum Ausgangswert	43
Abb. 10: Verlauf der absoluten neutrophilen Granulozytenzahlen über die Zeit.....	44
Abb. 11: Monozytenverlauf über die Zeit. Absolute Werte	45
Abb. 12: Lymphozytenverlauf über die Zeit. Absolute Werte	46
Abb. 13: Thrombozytenverlauf über die Zeit. Absolute Werte	47
Abb. 14: Thrombozytenverlauf über die Zeit. Relative Werte im Verhältnis zum Ausgangswert.....	48
Abb. 15: Freies Hämoglobin im Verlauf über die Zeit	49
Abb. 16: Freies Hämoglobin im Verhältnis zum Gesamthämoglobin im Verlauf über die Zeit	49
Abb. 17: LHD-Verlauf über die Zeit.....	50
Abb. 18: C5a-Verlauf über die Zeit	51
Abb. 19: TAT-Verlauf über die Zeit	52

7. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Art und Zeitpunkt der Blutentnahmen für die Performancemessungen	14
Tab. 2: Art und Zeitpunkt der Blutabnahmen für Elektrolytverlauf und der Hämokompatibilität	15
Tab. 3: Überblick über die Bestimmung der Performanceparameter in Plasma und Dialysat.....	21
Tab. 4: Überblick über die Bestimmung der Biokompatibilitätsparameter im Plasma.....	22
Tab. 5: Bestimmung der proteingebundenen Urämietoxine im Blutplasma und Dialysat	22
Tab. 6: Detaillierte Charakterisierung der in die Studie eingeschlossenen Patienten	27
Tab. 7: Konzentration, dialytische Clearance und Masse im Dialysat von pCS frei und gesamt	29
Tab. 8: Konzentration, dialytische Clearance und Masse im Dialysat von IS frei und gesamt	31
Tab. 9: Plasmaclearance, RR, Masse im Dialysat, Kt/V und dialytische Clearance für Harnstoff	34
Tab. 10: Reduktionsratio, Plasmaclearance und Masse im Dialysat für β 2-Mikroglobulin.....	36
Tab. 11: Plasmaclearance und Reduktionsratio für Myoglobin	37
Tab. 12: Albuminkonzentration im Plasma vor (Prä) und nach (Post) der Behandlung.....	38
Tab. 13: Übersicht zu den Behandlungsparametern der Vergleichsstudien.....	63

Literaturverzeichnis

- Ahrenholz, P., Winkler, R. E., Ramlow, W., Tiess, M., & Thews, O. (1998). On-line hemodiafiltration with pre- and postdilution: impact on the acid-base status. *Int J Artif Organs*, 21(6), 321-327.
- Andrassy, K., Ritz, E., & Bommer, J. (1987). Effects of hemodialysis on platelets. *Contrib Nephrol*, 59, 26-34.
- Bammens, B., Evenepoel, P., Verbeke, K., & Vanrenterghem, Y. (2004). Removal of the protein-bound solute p-cresol by convective transport: A randomized crossover study. *American Journal of Kidney Diseases*, 44(2), 278-285. doi:10.1053/j.ajkd.2004.04.033
- Basile, C., Casino, F., & Lopez, T. (1990). Percent reduction in blood urea concentration during dialysis estimates Kt/V in a simple and accurate way. *Am J Kidney Dis*, 15(1), 40-45.
- Beerenhout, C., Dejagere, T., van der Sande, F. M., Bekers, O., Leunissen, K. M., & Kooman, J. P. (2004). Haemodynamics and electrolyte balance: a comparison between on-line pre-dilution haemofiltration and haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 19(9), 2354-2359. doi:10.1093/ndt/gfh315
- Bergstrom, J., & Wehle, B. (1987). No change in corrected beta 2-microglobulin concentration after cuprophane haemodialysis. *Lancet*, 1(8533), 628-629.
- Betticher, D. C., & Geiser, J. (1989). Resistance of mammalian red blood cells of different size to hypertonic milieu. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*, 93(2), 429-432.
- Boschetti-de-Fierro, A., Voigt, M., Storr, M., & Krause, B. (2015). MCO Membranes: Enhanced Selectivity in High-Flux Class. *Sci Rep*, 5, 18448. doi:10.1038/srep18448
- Canaud, B., Bosc, J. Y., Leray, H., Stec, F., Argiles, A., Leblanc, M., & Mion, C. (1998). On-line haemodiafiltration: state of the art. *Nephrol Dial Transplant*, 13 Suppl 5, 3-11.
- Canaud, B., Bragg-Gresham, J. L., Marshall, M. R., Desmeules, S., Gillespie, B. W., Depner, T., . . . Port, F. K. (2006). Response to 'Mortality risk for patients receiving hemodiafiltration versus hemodialysis'. *Kidney International*, 70(8), 1524-1525. doi:10.1038/sj.ki.5001771
- Cases, A., Reverter, J. C., Escolar, G., Sanz, C., Sorribes, J., & Ordinas, A. (1997). In vivo evaluation of platelet activation by different cellulosic membranes. *Artif Organs*, 21(4), 330-334.
- Chanard, J., Lavaud, S., Randoux, C., & Rieu, P. (2003). New insights in dialysis membrane biocompatibility: relevance of adsorption properties and heparin binding. *Nephrol Dial Transplant*, 18(2), 252-257.
- Cheung, A. K. (1990). Biocompatibility of hemodialysis membranes. *J Am Soc Nephrol*, 1(2), 150-161.
- Cheung, A. K., Greene, T., Leypoldt, J. K., Yan, G., Allon, M., Delmez, J., . . . Eknoyan, G. (2008). Association between serum 2-microglobulin level and infectious mortality in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 3(1), 69-77. doi:10.2215/cjn.02340607
- Chiu, C. A., Lu, L. F., Yu, T. H., Hung, W. C., Chung, F. M., Tsai, I. T., . . . Lee, Y. J. (2010). Increased levels of total P-Cresylsulphate and indoxyl sulphate are associated

- with coronary artery disease in patients with diabetic nephropathy. *Rev Diabet Stud*, 7(4), 275-284. doi:10.1900/rds.2010.7.275
- Cornelis, T., Eloot, S., Vanholder, R., Glorieux, G., van der Sande, F. M., Scheijen, J. L., . . . Schalkwijk, C. G. (2015). Protein-bound uraemic toxins, dicarbonyl stress and advanced glycation end products in conventional and extended haemodialysis and haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant*, 30(8), 1395-1402. doi:10.1093/ndt/gfv038
- Craddock, P. R., Fehr, J., Brigham, K. L., Kronenberg, R. S., & Jacob, H. S. (1977). Complement and leukocyte-mediated pulmonary dysfunction in hemodialysis. *N Engl J Med*, 296(14), 769-774. doi:10.1056/NEJM197704072961401
- Cripps, C. M. (1968). Rapid method for the estimation of plasma haemoglobin levels. *J Clin Pathol*, 21(1), 110-112.
- Daugirdas, J. T. (1993). Second generation logarithmic estimates of single-pool variable volume Kt/V: an analysis of error. *J Am Soc Nephrol*, 4(5), 1205-1213.
- Daugirdas, J. T., & Bernardo, A. A. (2012). Hemodialysis effect on platelet count and function and hemodialysis-associated thrombocytopenia. *Kidney Int*, 82(2), 147-157. doi:10.1038/ki.2012.130
- Daugirdas, J. T., Depner, T. A., Inrig, J., Mehrotra, R., Rocco, M. V., Suri, R. S., & Weiner, D. E. (2015). Kdoqi Clinical Practice Guideline for Hemodialysis Adequacy: 2015 Update. *American Journal of Kidney Diseases*, 66(5), 884-930.
- Davenport, A., Peters, S. A., Bots, M. L., Canaud, B., Grooteman, M. P., Asci, G., . . . Blankestijn, P. J. (2016). Higher convection volume exchange with online hemodiafiltration is associated with survival advantage for dialysis patients: the effect of adjustment for body size. *Kidney Int*, 89(1), 193-199. doi:10.1038/ki.2015.264
- David, S., Gerra, D., De Nitti, C., Bussolati, B., Teatini, U., Longhena, G. R., . . . Tetta, C. (2003). Hemodiafiltration and high-flux hemodialysis with polyethersulfone membranes. *Contrib Nephrol*(138), 43-54.
- de Jager, D. J., Grootendorst, D. C., Jager, K. J., & et al. (2009). Cardiovascular and noncardiovascular mortality among patients starting dialysis. *JAMA*, 302(16), 1782-1789. doi:10.1001/jama.2009.1488
- Deltombe, O., de Loor, H., Glorieux, G., Dhondt, A., Van Biesen, W., Meijers, B., & Eloot, S. (2017). Exploring binding characteristics and the related competition of different protein-bound uremic toxins. *Biochimie*, 139, 20-26. doi:10.1016/j.biochi.2017.05.010
- Deltombe, O., Van Biesen, W., Glorieux, G., Massy, Z., Dhondt, A., & Eloot, S. (2015). Exploring Protein Binding of Uremic Toxins in Patients with Different Stages of Chronic Kidney Disease and during Hemodialysis. *Toxins*, 7(10), 3933-3946. doi:10.3390/toxins7103933
- Devine, E. (2013). *Increased removal of protein bound uremic toxins through reversible modification of the ionic strength during hemodiafiltration - Erhöhte Elimination proteingebundener Urämietoxine durch reversible Modifikation der Ionenstärke während der Hämodiafiltration*. Retrieved from <https://opus.bibliothek.uni-wuerzburg.de/frontdoor/index/index/docId/6823>

- Devine, E., Krieter, D. H., Ruth, M., Jankovski, J., & Lemke, H. D. (2014). Binding affinity and capacity for the uremic toxin indoxyl sulfate. *Toxins (Basel)*, 6(2), 416-429. doi:10.3390/toxins6020416
- Dou, L., Bertrand, E., Cerini, C., Faure, V., Sampol, J., Vanholder, R., . . . Brunet, P. (2004). The uremic solutes p-cresol and indoxyl sulfate inhibit endothelial proliferation and wound repair. *Kidney Int*, 65(2), 442-451. doi:10.1111/j.1523-1755.2004.00399.x
- Duranton, F., Cohen, G., De Smet, R., Rodriguez, M., Jankowski, J., Vanholder, R., . . . on behalf of the European Uremic Toxin Work, G. (2012). Normal and Pathologic Concentrations of Uremic Toxins. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 23(7), 1258-1270. doi:10.1681/ASN.2011121175
- Eknoyan, G., Beck, G. J., Cheung, A. K., Daugirdas, J. T., Greene, T., Kusek, J. W., . . . Toto, R. (2002). Effect of Dialysis Dose and Membrane Flux in Maintenance Hemodialysis. *New England Journal of Medicine*, 347(25), 2010-2019. doi:doi:10.1056/NEJMoa021583
- European Best Practice Guidelines Expert Group on Hemodialysis, E. R. A. (2002). Section II. Haemodialysis adequacy. *Nephrol Dial Transplant*, 17 Suppl 7, 16-31.
- European Best Practice Guidelines Expert Group on Hemodialysis, E. R. A., Section. (2002a). II.1 Haemodialysis dose quantification: small solutes. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 17(suppl 7), 17-21. doi:10.1093/ndt/17.suppl_7.17
- European Best Practice Guidelines Expert Group on Hemodialysis, E. R. A., Section. (2002b). II.2 Haemodialysis dose quantification: middle molecules (MM). *Nephrology Dialysis Transplantation*, 17(suppl 7), 21-23. doi:10.1093/ndt/17.suppl_7.21
- Farrell, P. C., Grib, N. L., Fry, D. L., Popovich, R. P., Broviac, J. W., & Babb, A. L. (1972). A COMPARISON OF IN VITRO AND IN VIVO SOLUTE-PROTEIN BINDING INTERACTIONS IN NORMAL AND UREMIC SUBJECTS. *ASAIO Journal*, 18(1), 268-276.
- Flanigan, M. J. (2000). Role of sodium in hemodialysis. *Kidney Int Suppl*, 76, S72-78.
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., Harnett, J. D., Kent, G. M., Murray, D. C., & Barre, P. E. (1996). Hypoalbuminemia, cardiac morbidity, and mortality in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 7(5), 728-736.
- Frei, U., Schober-Halstenberg, H.-J. (2008). Nierenersatztherapie in Deutschland. QuaSi-Niere Jahresbericht 2006/2007, Berlin, Deutschland.
- Gavioli, G., Gennari, M., & Bruns, S. (2002). Methods of sterilisation and their effects on membrane performance and safety. *Contrib Nephrol*(137), 78-84.
- Gelde, M., Singer, D. (2014). *Wärmehaushalt und Temperaturregulation*. In: Pape, H.-C., Kurtz (Hrsg.), Kurtz, A. (Hrsg.), Silbernagl, S. (Hrsg.). *Physiologie (7. Auflage)*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 567-568
- Gemeinsamer Bundesausschuss. (2016). Jahresbericht 2016 zur Qualität in der Dialyse. Retrieved from
- Grooteman, M. P., Nube, M. J., van Limbeek, J., van Houte, A. J., Daha, M. R., & van Geelen, J. A. (1995). Biocompatibility and performance of a modified cellulosic and a synthetic high flux dialyzer. A randomized crossover comparison between cellulose triacetate and polysulphon. *ASAIO J*, 41(2), 215-220.

- Grooteman, M. P., van den Dorpel, M. A., Bots, M. L., Penne, E. L., van der Weerd, N. C., Mazairac, A. H., . . . Blankestijn, P. J. (2012). Effect of online hemodiafiltration on all-cause mortality and cardiovascular outcomes. *J Am Soc Nephrol*, *23*(6), 1087-1096. doi:10.1681/asn.2011121140
- Hakim, R. M., Held, P. J., Stannard, D. C., Wolfe, R. A., Port, F. K., Daugirdas, J. T., & Agodoa, L. (1996). Effect of the dialysis membrane on mortality of chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*, *50*(2), 566-570.
- Hernandez, M. R., Galan, A. M., Cases, A., Lopez-Pedret, J., Pereira, A., Tonda, R., . . . Ordinas, A. (2004). Biocompatibility of cellulosic and synthetic membranes assessed by leukocyte activation. *American Journal of Nephrology*, *24*(2), 235-241. doi:10.1159/000077395
- Hoening, N. A., Woffindin, C., Brennan, A., Cox, P. J., Matthews, J. N., & Goldfinch, M. (1996). A comparison of three brands of polysulfone membranes. *J Am Soc Nephrol*, *7*(6), 871-876.
- Hoening, N. A., Woffindin, C., Mathews, J. N., & Vienken, J. (1995). Biocompatibility of membranes used in the treatment of renal failure. *Biomaterials*, *16*(8), 587-592.
- Hoening, N. A., Woffindin, C., Stamp, S., Roberts, S. J., & Turnbull, J. (1997). Synthetically modified cellulose: an alternative to synthetic membranes for use in haemodialysis? *Biomaterials*, *18*(19), 1299-1303.
- Hörl, W., Wanner, C. (2004). Dialyseverfahren in Klinik und Praxis (6. Auflage), *Kapitel II: Verfahren der Nierenersatztherapie, 4. Hämodialyse, Hämofiltration und Hämodiafiltration, Adäquate Dialyse und Dialyseeffizienz*. Stuttgart: Thieme Verlag, 37-49.
- Hsu, C. C., Lu, Y. C., Chiu, C. A., Yu, T. H., Hung, W. C., Wang, C. P., . . . Tsai, I. T. (2013). Levels of indoxyl sulfate are associated with severity of coronary atherosclerosis. *Clin Invest Med*, *36*(1), E42-49.
- Hwang, K. S., Choi, E. Y., Park, J. S., Lee, C. H., Kang, C. M., & Kim, G. H. (2013). Postdialysis serum sodium changes and systolic blood pressure in patients undergoing online hemodiafiltration and high-flux hemodialysis. *Kidney Res Clin Pract*, *32*(2), 62-65. doi:10.1016/j.krcp.2013.04.007
- Jha, V., Garcia-Garcia, G., Iseki, K., Li, Z., Naicker, S., Plattner, B., . . . Yang, C. W. (2013). Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet*, *382*(9888), 260-272. doi:10.1016/s0140-6736(13)60687-x
- Jourde-Chiche, N., Dou, L., Cerini, C., Dignat-George, F., Vanholder, R., & Brunet, P. (2009). Protein-Bound Toxins-Update 2009. *Seminars in Dialysis*, *22*(4), 334-339. doi:10.1111/j.1525-139X.2009.00576.x
- Kandouz, S., Mohamed, A. S., Zheng, Y. S., Sandeman, S., & Davenport, A. (2016). Reduced protein bound uraemic toxins in vegetarian kidney failure patients treated by haemodiafiltration. *Hemodialysis International*, *20*(4), 610-617. doi:10.1111/hdi.12414
- Kerr, P. G., & Toussaint, N. D. (2013). KHA-CARI guideline: dialysis adequacy (haemodialysis): dialysis membranes. *Nephrology (Carlton)*, *18*(7), 485-488. doi:10.1111/nep.12096
- Klammt, S., Wojak, H. J., Mitzner, A., Koball, S., Rychly, J., Reisinger, E. C., & Mitzner, S. (2012). Albumin-binding capacity (ABiC) is reduced in patients with chronic

- kidney disease along with an accumulation of protein-bound uraemic toxins. *Nephrol Dial Transplant*, 27(6), 2377-2383. doi:10.1093/ndt/gfr616
- Klingel, R., Ahrenholz, P., Schwarting, A., & Röckel, A. (2002). Enhanced Functional Performance Characteristics of a New Polysulfone Membrane for High-Flux Hemodialysis. *Blood Purification*, 20(4), 325-333.
- Klingel, R., Schaefer, M., Schwarting, A., Himmelsbach, F., Altes, U., Uhlenbusch-Korwer, I., & Hafner, G. (2004). Comparative analysis of procoagulatory activity of haemodialysis, haemofiltration and haemodiafiltration with a polysulfone membrane (APS) and with different modes of enoxaparin anticoagulation. *Nephrol Dial Transplant*, 19(1), 164-170.
- Kolb, G., Fischer, W., Seitz, R., Müller, T., Egbring, R., Lange, H., & Havemann, K. (1991). Hemodialysis and blood coagulation: the effect of hemodialysis on coagulation factor XIII and thrombin-antithrombin III complex. *Nephron*, 58(1), 106-108.
- Krieter, D. H., Devine, E., Koerner, T., Ruth, M., Wanner, C., Raine, M., . . . Lemke, H. D. (2016). Haemodiafiltration at Increased Plasma Ionic Strength for Improved Protein-Bound Toxin Removal. *Acta Physiol (Oxf)*. doi:10.1111/apha.12730
- Krieter, D. H., Hackl, A., Rodriguez, A., Chenine, L., Moragues, H. L., Lemke, H. D., . . . Canaud, B. (2010). Protein-bound uraemic toxin removal in haemodialysis and post-dilution haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant*, 25(1), 212-218. doi:10.1093/ndt/gfp437
- Krieter, D. H., Lemke, H. D., & Wanner, C. (2008). A new synthetic dialyzer with advanced permselectivity for enhanced low-molecular weight protein removal. *Artif Organs*, 32(7), 547-554. doi:10.1111/j.1525-1594.2008.00583.x
- Krieter, D. H., Morgenroth, A., Barasinski, A., Lemke, H. D., Schuster, O., von Harten, B., & Wanner, C. (2007). Effects of a polyelectrolyte additive on the selective dialysis membrane permeability for low-molecular-weight proteins. *Nephrol Dial Transplant*, 22(2), 491-499. doi:10.1093/ndt/gfl610
- Kuragano, T., Kuno, T., Takahashi, Y., Yamamoto, C., Nagura, Y., Takahashi, S., & Kanmatsuse, K. (2003). Comparison of the effects of cellulose triacetate and polysulfone membrane on GPIIb/IIIa and platelet activation. *Blood Purif*, 21(2), 176-182. doi:69157
- Lane, D. A., & Bowry, S. K. (1994). The scientific basis for selection of measures of thrombogenicity. *Nephrol Dial Transplant*, 9 Suppl 2, 18-28.
- Ledebo, I. (1998). Principles and practice of hemofiltration and hemodiafiltration. *Artif Organs*, 22(1), 20-25.
- Leong, S. C., & Sirich, T. L. (2016). Indoxyl Sulfate-Review of Toxicity and Therapeutic Strategies. *Toxins (Basel)*, 8(12). doi:10.3390/toxins8120358
- Lesaffer, G., De Smet, R., Lameire, N., Dhondt, A., Duym, P., & Vanholder, R. (2000). Intradialytic removal of protein-bound uraemic toxins: role of solute characteristics and of dialyser membrane. *Nephrol Dial Transplant*, 15(1), 50-57.
- Liabeuf, S., Barreto, D. V., Barreto, F. C., Meert, N., Glorieux, G., Schepers, E., . . . Massy, Z. A. (2010). Free p-cresylsulphate is a predictor of mortality in patients at different stages of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 25(4), 1183-1191. doi:10.1093/ndt/gfp592

- Lindsay, R. M., Prentice, C. R., Burton, J. A., Ferguson, D., & Kennedy, A. C. (1973). The role of the platelet-dialysis membrane interaction in thrombus formation and blood loss during hemodialysis. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, *19*, 487-491.
- Liyanage, T., Ninomiya, T., Jha, V., Neal, B., Patrice, H. M., Okpechi, I., . . . Perkovic, V. (2015). Worldwide access to treatment for end-stage kidney disease: a systematic review. *Lancet*, *385*(9981), 1975-1982. doi:10.1016/s0140-6736(14)61601-9
- Locatelli, F., Andrulli, S., Di Filippo, S., Redaelli, B., Mangano, S., Navino, C., . . . Tetta, C. (1998). Effect of on-line conductivity plasma ultrafiltrate kinetic modeling on cardiovascular stability of hemodialysis patients. *Kidney Int*, *53*(4), 1052-1060. doi:10.1111/j.1523-1755.1998.00844.x
- Maduell, F., Moreso, F., Pons, M., Ramos, R., Mora-Macia, J., Carreras, J., . . . Martinez-Castelao, A. (2013). High-efficiency postdilution online hemodiafiltration reduces all-cause mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, *24*(3), 487-497. doi:10.1681/asn.2012080875
- Martinez, A. W., Recht, N. S., Hostetter, T. H., & Meyer, T. W. (2005). Removal of P-cresol sulfate by hemodialysis. *J Am Soc Nephrol*, *16*(11), 3430-3436. doi:10.1681/ASN.2005030310
- Meert, N., Eloit, S., Waterloos, M. A., Van Landschoot, M., Dhondt, A., Glorieux, G., . . . Vanholder, R. (2009). Effective removal of protein-bound uraemic solutes by different convective strategies: a prospective trial. *Nephrol Dial Transplant*, *24*(2), 562-570. doi:10.1093/ndt/gfn522
- Meijers, B. K., Bammens, B., De Moor, B., Verbeke, K., Vanrenterghem, Y., & Evenepoel, P. (2008). Free p-cresol is associated with cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int*, *73*(10), 1174-1180. doi:10.1038/ki.2008.31
- Meijers, B. K., Weber, V., Bammens, B., Dehaen, W., Verbeke, K., Falkenhagen, D., & Evenepoel, P. (2008). Removal of the uremic retention solute p-cresol using fractionated plasma separation and adsorption. *Artif Organs*, *32*(3), 214-219. doi:10.1111/j.1525-1594.2007.00525.x
- Menea, C., Esser, E., & Sprague, S. M. (2008). Beta2-microglobulin stimulates osteoclast formation. *Kidney Int*, *73*(11), 1275-1281. doi:10.1038/ki.2008.100
- Meyer, T. W., Leeper, E. C., Bartlett, D. W., Depner, T. A., Lit, Y. Z., Robertson, C. R., & Hostetter, T. H. (2004). Increasing dialysate flow and dialyzer mass transfer area coefficient to increase the clearance of protein-bound solutes. *J Am Soc Nephrol*, *15*(7), 1927-1935.
- Meyer, T. W., Walther, J. L., Pagtalunan, M. E., Martinez, A. W., Torkamani, A., Fong, P. D., . . . Hostetter, T. H. (2005). The clearance of protein-bound solutes by hemofiltration and hemodiafiltration. *Kidney Int*, *68*(2), 867-877. doi:10.1111/j.1523-1755.2005.00469.x
- Myhre, E., & Rasmussen, K. (1970). Serum-lactic-dehydrogenase activity and intravascular haemolysis. *Lancet*, *1*(7642), 355.
- Nistor, I., Palmer, S. C., Craig, J. C., Saglimbene, V., Vecchio, M., Covic, A., & Strippoli, G. F. (2014). Convective versus diffusive dialysis therapies for chronic kidney failure: an updated systematic review of randomized controlled trials. *Am J Kidney Dis*, *63*(6), 954-967. doi:10.1053/j.ajkd.2013.12.004

- Ok, E., Asci, G., Toz, H., Ok, E. S., Kircelli, F., Yilmaz, M., . . . Ozkahya, M. (2013). Mortality and cardiovascular events in online haemodiafiltration (OL-HDF) compared with high-flux dialysis: results from the Turkish OL-HDF Study. *Nephrol Dial Transplant*, *28*(1), 192-202. doi:10.1093/ndt/gfs407
- Okuno, S., Ishimura, E., Kohno, K., Fujino-Katoh, Y., Maeno, Y., Yamakawa, T., . . . Nishizawa, Y. (2009). Serum beta2-microglobulin level is a significant predictor of mortality in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, *24*(2), 571-577. doi:10.1093/ndt/gfn521
- Peters, S. A., Bots, M. L., Canaud, B., Davenport, A., Grooteman, M. P., Kircelli, F., . . . Blankestijn, P. J. (2016). Haemodiafiltration and mortality in end-stage kidney disease patients: a pooled individual participant data analysis from four randomized controlled trials. *Nephrol Dial Transplant*, *31*(6), 978-984. doi:10.1093/ndt/gfv349
- Pippias, M., Kramer, A., Noordzij, M., Afentakis, N., Alonso de la Torre, R., Ambühl, P. M., . . . Stel, V. S. (2017). The European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association Registry Annual Report 2014: a summary. *Clinical Kidney Journal*, *10*(2), 154-169. doi:10.1093/ckj/sfw135
- Polaschegg, H. D. (2009). Red blood cell damage from extracorporeal circulation in hemodialysis. *Semin Dial*, *22*(5), 524-531. doi:10.1111/j.1525-139X.2009.00616.x
- Potier, J., Le Roy, F., Faucon, J. P., Besselièvre, T., Renaudineau, E., Farquet, C., . . . Ilinca, T. (2013). Elevated Removal of Middle Molecules without Significant Albumin Loss with Mixed-Dilution Hemodiafiltration for Patients Unable to Provide Sufficient Blood Flow Rates. *Blood Purification*, *36*(2), 78-83.
- Redinbo, M. R. (2014). The microbiota, chemical symbiosis, and human disease. *J Mol Biol*, *426*(23), 3877-3891. doi:10.1016/j.jmb.2014.09.011
- Sagedal, S., Hartmann, A., Sundstrom, K., Bjornsen, S., & Brosstad, F. (2001). Anticoagulation intensity sufficient for haemodialysis does not prevent activation of coagulation and platelets. *Nephrol Dial Transplant*, *16*(5), 987-993.
- Sakai, K. (1989). Structure and permeability of dialysis membranes sterilized by various methods. *J Biomater Appl*, *4*(2), 71-101. doi:10.1177/088532828900400201
- Sakai, T., Yamasaki, K., Sako, T., Kragh-Hansen, U., Suenaga, A., & Otagiri, M. (2001). Interaction mechanism between indoxyl sulfate, a typical uremic toxin bound to site II, and ligands bound to site I of human serum albumin. *Pharm Res*, *18*(4), 520-524.
- Schepers, E., Meert, N., Glorieux, G., Goeman, J., Van der Eycken, J., & Vanholder, R. (2007). P-cresylsulphate, the main in vivo metabolite of p-cresol, activates leucocyte free radical production. *Nephrol Dial Transplant*, *22*(2), 592-596. doi:10.1093/ndt/gfl584
- Schneditz, D., Putz-Bankuti, C., Ribitsch, W., & Schilcher, G. (2012). Correction of plasma concentrations for effects of hemoconcentration or hemodilution. *ASAIO J*, *58*(2), 160-162. doi:10.1097/MAT.0b013e318243660f
- Schoorl, M., Schoorl, M., Nubé, M. J., & Bartels, P. C. M. (2011). Platelet depletion, platelet activation and coagulation during treatment with hemodialysis. *Scand J Clin Lab Invest*, *71*(3), 240-247. doi:10.3109/00365513.2011.558106

- Senecal, L., Krieter, D. H., Moragues, H. L., Martin, K., & Canaud, B. (2003). High-flux on-line hemodiafiltration with polyethersulfone membranes: performances in hemodiafiltration and impact of glucose administration. *Contrib Nephrol*(138), 88-98.
- Shimazu, S., Hirashiki, A., Okumura, T., Yamada, T., Okamoto, R., Shinoda, N., . . . Murohara, T. (2013). Association between indoxyl sulfate and cardiac dysfunction and prognosis in patients with dilated cardiomyopathy. *Circ J*, 77(2), 390-396.
- Stefoni, S., Coli, L., Cianciolo, G., Donati, G., Ruggeri, G., Ramazzotti, E., . . . Lang, D. (2003). Inflammatory response of a new synthetic dialyzer membrane. A randomised cross-over comparison between polysulfone and helixone. *Int J Artif Organs*, 26(1), 26-32.
- Tonelli, M., Wiebe, N., Knoll, G., Bello, A., Browne, S., Jadhav, D., . . . Gill, J. (2011). Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. *Am J Transplant*, 11(10), 2093-2109. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03686.x
- United States Renal Data System. (2016). *USRDS annual data report: Epidemiology of kidney disease in the United States*. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2016.
- Vanholder, R., Hoefliger, N., De Smet, R., & Ringoir, S. (1992). Extraction of protein bound ligands from azotemic sera: comparison of 12 deproteinization methods. *Kidney Int*, 41(6), 1707-1712.
- Vanholder, R., Schepers, E., Pletinck, A., Nagler, E. V., & Glorieux, G. (2014). The uremic toxicity of indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate: a systematic review. *J Am Soc Nephrol*, 25(9), 1897-1907. doi:10.1681/ASN.2013101062
- Veelken R., D. T. (2013). *Teil I - Nephrologie: 10 Wasser und Elektrolythaushalt*. In: *Arastéh, K., Baenkler, H.-W., Bieber, C., Brandt, R., Chatterjee, T., Dill, T., ..., Zipfe, S. Innere Medizin (3. Auflage)*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 967-972.
- Wang, A. Y., Ninomiya, T., Al-Kahwa, A., Perkovic, V., Gallagher, M. P., Hawley, C., & Jardine, M. J. (2014). Effect of hemodiafiltration or hemofiltration compared with hemodialysis on mortality and cardiovascular disease in chronic kidney failure: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Am J Kidney Dis*, 63(6), 968-978. doi:10.1053/j.ajkd.2014.01.435
- Wu, C. C., Chen, J. S., Wu, W. M., Liao, T. N., Chu, P., Lin, S. H., . . . Lin, Y. F. (2005). Myeloperoxidase serves as a marker of oxidative stress during single haemodialysis session using two different biocompatible dialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant*, 20(6), 1134-1139. doi:10.1093/ndt/gfh764
- Wu, I. W., Hsu, K. H., Hsu, H. J., Lee, C. C., Sun, C. Y., Tsai, C. J., & Wu, M. S. (2012). Serum free p-cresyl sulfate levels predict cardiovascular and all-cause mortality in elderly hemodialysis patients--a prospective cohort study. *Nephrol Dial Transplant*, 27(3), 1169-1175. doi:10.1093/ndt/gfr453
- Yamamoto, K., Eguchi, K., Kaneko, I., Akiba, T., & Mineshima, M. (2013). In vitro study of removal of protein-bound toxins. *Blood Purif*, 35 Suppl 1, 51-54. doi:10.1159/000346373

- Yang, M. C., & Lin, C. C. (2000). In vitro characterization of the occurrence of hemolysis during extracorporeal blood circulation using a mini hemodialyzer. *ASAIO J*, 46(3), 293-297.
- Yavuz, A., Tetta, C., Ersoy, F. F., D'Intini, V., Ratanarat, R., De Cal, M., . . . Ronco, C. (2005). Uremic toxins: a new focus on an old subject. *Semin Dial*, 18(3), 203-211. doi:10.1111/j.1525-139X.2005.18313.x

