

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I  
der Universität Würzburg**

**Direktor: Professor Dr. med. Georg Ertl**

**KLINISCHE PERFORMANCE UND BIOKOMPATIBILITÄT DER PUREMA® H-  
DIALYSEMEMBRAN**

**Inaugural - Dissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von**

**Artur Kirsch**

**aus Bad Bergzabern**

**Würzburg, November 2007**

**Referent :** Prof. Dr. med. C. Wanner

**Koreferent :** Prof. Dr. med. U. Bahner

**Dekan:** Prof. Dr. med. M. Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung :** 05.02.2009

**Der Promovend ist Zahnarzt**

## Inhaltverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1.	Übersicht	1
1.2.	Historische Entwicklung	1
1.3.	Biokompatibilität und Performance bei der Hämodialyse	4
1.4.	Ziel der Studie	8
<b>2.</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>9</b>
2.1.	Votum des Ethik-Komitees	9
2.2.	Kurzbeschreibung der Studie	9
2.3.	Studienein- und -ausschlusskriterien	10
2.4.	Patientencharakterisierung	10
2.5.	Dialysegeräte/ extrakorporales System/ Wasseraufbereitung	11
2.6.	Versuchsdialysatoren	13
2.6.1.	Die PUREMA <sup>®</sup> H - Dialysemembran	13
2.6.2.	Die Helixone <sup>®</sup> -Dialysemembran	14
2.7.	Versuchsdurchführung	15
2.7.1.	Dialysatsammlung	16
2.7.2.	Blutprobenentnahme	17
2.7.3.	Messung der Parameter in Plasma und Dialysat	19
2.8.	Berechnung der Behandlungseffizienz	23
2.9.	Statistische Auswertung	25
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>26</b>
3.1.	Klinische Beobachtung	26
3.2.	Erzielte Behandlungsparameter	26
3.3.	Performance-Messungen	27
3.3.1	Clearances	27
3.3.1.1.	Kleinmolekulare Substanzen	27
3.3.1.2.	Kleinmolekulargewichtige Proteine	29
3.3.2.	Reduktionsraten der kleinmolekulargewichtigen Proteine	33
3.3.3.	Dialysatmassentransfer	34
3.4.	Biokompatibilitätsmessungen	36
3.4.1.	Leukozytenverlauf	36
3.4.2.	Thrombozytenverlauf	37
3.4.3.	Komplementaktivierung	38
3.4.4.	Thrombin-Antithrombin-III-Komplexbildung	39
3.4.5.	Parameter des oxidativen Stresses	40
3.4.5.1.	Elastasebildung	40
3.4.5.2.	Myeloperoxidasebildung	41
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>44</b>
4.1	Bewertung der Performanceparameter	45
4.2	Bewertung der Biokompatibilitätsuntersuchungen	55
4.3	Fazit	65
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>66</b>
<b>6.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>68</b>

## **1. Einleitung**

### **1.1. Übersicht**

Die Niere ist das einzige Organ, dessen exkretorische Funktionen über Jahre hinweg durch eine apparative Therapie ersetzt werden können. Extrakorporale Nierenersatzverfahren sind seit der ersten erfolgreichen experimentellen Anwendung vor ca. 90 Jahren stetig weiterentwickelt worden. Bei akutem oder chronischem Nierenversagen stellen sie heute eine Routinetherapie dar. In Deutschland wurden dem „Bericht über Dialysebehandlung und Nierentransplantation in Deutschland 2002/ 2003“ zu Folge bis Ende 2002 fast 76000 Patienten mit den verschiedenen Nierenersatztherapien behandelt. Die Hämodialyse hatte dabei einen Anteil von ungefähr 85% und stellte damit das bedeutendste Nierenersatzverfahren dar (Frei und Schober-Halstenberg 2003). Als weitere Blutreinigungsverfahren sind neben der Hämodialyse die Hämofiltration, die Hämodiafiltration und die Peritonealdialyse mit den verschiedenen Modifikationen von Bedeutung (Klahr 1991).

Auch heute noch ist im Vergleich zur Normalbevölkerung die Morbidität und Mortalität von dialysepflichtig niereninsuffizienten Patienten stark erhöht (Chatenoud et al. 1990, Sieberth 1994, Hakim et al. 1996). Daher ist es erstrebenswert, Nierenersatzverfahren weiterzuentwickeln, um den dauerhaften Ersatz der physiologischen exokrinen, aber auch endokrinen Funktionen der Niere zu optimieren.

### **1.2. Historische Entwicklung**

Der Begriff Dialyse wurde erstmals im Jahre 1861 von dem schottischen Chemiker Thomas Graham verwendet. Er bezeichnete damit die Trennung von Salz und Proteinen aufgrund unterschiedlicher Diffusionsraten durch eine semipermeable Pergamentmembran (Schreiner 1993).

Im Jahr 1913 gelang Abel, Rowntree und Turner die Entwicklung eines ersten Dialysesystems, das aus einem mit Kochsalzlösung gefüllten Glaszylinder

bestand, in dem sich Kollodiumröhrchen befanden, die aufgrund ihrer porösen Wand zum Stoffaustausch durch Diffusion fähig waren. Hiermit konnten körpereigene und –fremde, wasserlösliche Substanzen aus dem Kreislauf eines Hundes eliminiert werden (Abel et al. 1914). Diese Versuchsanordnung bezeichneten sie mit dem noch heute gebräuchlichen Begriff „künstliche Niere“. Sie stellte die erste extrakorporale Hämodialyse überhaupt dar.

Georg Haas führte im Jahre 1924 die erste 15-minütige Hämodialyse am Menschen durch. Auch er verwendete Kollodiumröhrchen als Membran (Haas 1925).

Das erste für den klinischen Gebrauch eingesetzte Gerät wurde im Jahre 1943 von Kolff und Berk entwickelt (Kolff 1943). Sie benutzten Zellophanschläuche, die, auf ein Holzgitter gespannt, von Blut durchflossen waren und durch die Kraft eines Waschmaschinenmotors in einer mit Spülflüssigkeit gefüllten Wanne rotierten (Bundschu 1990).

Thalhimer hatte sechs Jahre zuvor den Nutzen von Zellophan als ein dünnes, starkes und permeables Material für die Dialyse erkannt, das dann über lange Zeit das am meisten verbreitete Material für diesen Zweck bleiben sollte (Thalhimer 1937).

1945 wurde zum ersten Mal in der Geschichte der Nierenersatztherapie ein Patient mit akutem Nierenversagen mittels Hämodialyse erfolgreich behandelt. Mit der von Kolff und Berk entwickelten rotierenden Trommelniere („rotating drum“) ließen sich mehrstündige Dialysebehandlungen durchführen, bei denen eine erhebliche Menge des damals als toxisch angesehenen Harnstoffs eliminiert werden konnte (Kolff 1965).

Der schwedische Arzt Alwall entwickelte 1947 einen vertikalen Trommelzylinder, der durch Erhöhung des blutseitigen Druckes eine echte Ultrafiltration erzeugte (Alwall 1947). Bis zu diesem Zeitpunkt war ein Stoffaustausch lediglich durch Diffusion möglich.

Der erste in Serie produzierte Dialysator, die „Twin-coil-Niere“, wurde dann wieder von Kolff und Mitarbeitern 1956 entwickelt. Damit konnte ein Einwegartikel zur Verfügung gestellt werden, so dass die Infektionsrate, bei

gleichzeitig stark verkürzten Vorbereitungszeiten der Dialysebehandlungen, erheblich reduziert werden konnte.

Kiil entwickelte 1960 einen Plattendialysator, der auf einem von Skeggs und Leonard im Jahre 1948 vorgestellten Modul basierte. Bei beiden wurde eine Zellophanmembran nicht als Schlauch, sondern als Folie, gespannt zwischen zwei Gummiplatten, verwendet. Ebenfalls im Jahre 1960 wurde der erste Kapillardialysator, bei dem ein Zellophanschlauch durch viele dünne Kapillaren ersetzt wurde, präsentiert (Stewart et al. 1964), der Ende der 60er Jahre klinisch eingesetzt wurde. Diese Filtergeometrie hat seitdem aufgrund von Vorteilen beim Stoffaustausch und kostengünstigerer Produktion im Vergleich zu anderen Dialysatorkonstruktionen keine wesentlichen Änderungen mehr erfahren (Schaefer et al. 1997, Lysaght 1995).

Das sich verbessernde Verständnis der physiko-chemischen Eigenschaften der Dialysemembranen ließ auch eine Weiterentwicklung in diesem Bereich möglich werden. So konnte die Kapillarmembrandicke im Laufe der Jahre verringert werden, womit sich die Diffusionspermeabilität für Moleküle, die sich umgekehrt proportional zur Membrandicke verhält, verbesserte (Lysaght 1995). Das wiederum hatte zur Folge, dass bei gleichbleibender Clearance die Membranoberfläche verkleinert werden konnte (Klinkmann et al. 1995).

Auch das Membranmaterial selbst war und ist Gegenstand intensiver Forschung. Vom Zellophan war es ein vergleichsweise kleiner Schritt zur regenerierten Zellulose. Auf der Suche nach verbesserten Eliminationseigenschaften bei gleichzeitig besserer Patientenverträglichkeit gelang schließlich die Entwicklung rein synthetisch hergestellter Membranen, die in vielen Punkten den alten Zellulosemembranen überlegen sind. Ausgangspunkt dieser neuen Membranentwicklung war die 1971 von Babb et al. formulierte „Quadratmeter-Hypothese“, die von ihnen 10 Jahre später in die „Mittelmolekül-Hypothese“ geändert wurde (Babb et al. 1981): Die ursprüngliche Annahme, dass die Größe der im Rahmen der Urämie ansteigenden toxischen Nierenretentionsprodukte maximal 300 Dalton beträgt, wurde durch weitere

Untersuchungen auf einen Molekulargewichtsbereich von 300 und 15 000 Dalton korrigiert. Die damals verfügbaren Membranen waren allerdings nicht so offenporig, um derart große sog. Mittelmoleküle ausreichend passieren zu lassen. Die zu entwickelnden Membranen sollten zwar einerseits diese Substanzen effizient eliminieren, andererseits durften sie nicht so durchlässig sein, dass wichtige, onkotisch wirksame Moleküle über das Dialysat verloren gingen (Brachtendorf et al. 1994). Daneben waren bei Hämodialysen mit Membranen aus regenerierter Zellulose eine Aktivierung des Komplementsystems, verbunden mit einer transienten Leukopenie, und klinische Unverträglichkeitsreaktionen beobachtet worden (Kaplow et al. 1968, Craddock et al. 1977). Auch diese Nebenwirkungen der Hämodialyse sollten durch eine Weiterentwicklung der Membranen möglichst vermieden werden.

Mit der ersten rein synthetisch aus Acrylonitril-Polymeren hergestellten Dialysemembran, der RP69 von Rhône-Poulenc, später geläufig unter der Bezeichnung AN69<sup>®</sup>, wurden diese Anforderungen zum ersten Mal umgesetzt (Schaefer 1997, Lysaght 1995). Das heutzutage am meisten verwendete synthetische Membranmaterial stellt jedoch Polysulfon dar (Brachtendorf 1994). Dieses Material wird durch Fällung in eine asymmetrische Kapillarform gebracht. Mittlerweile gibt es diverse Materialien, die zur Herstellung synthetischer Membranen benutzt werden. Allen gemeinsam ist der ursprünglich hydrophobe Charakter der Membran. Deshalb werden sie vor ihrer klinischen Anwendung mit verschiedenen Stoffen, in erster Linie Poly-Vinyl-Pyrolidon (PVP), hydrophilisiert, um eine effektive Reinigung des Blutes zu gewährleisten (Klinkmann et al. 1995).

### **1.3 Biokompatibilität und Performance bei der Hämodialyse**

Die bei der Hämodialyse auftretenden unerwünschten Nebenwirkungen lassen sich in Akut- und Langzeitreaktionen unterteilen. Zum Begriff Biokompatibilität werden dabei im weiteren Sinne alle Patientenreaktionen gezählt, die sich durch die Blut-Membran-Interaktionen ergeben (Schulman 1993). Im Rahmen

der „Consensus Conference on Biocompatibility“ von 1993 wurde, bezogen auf die Hämodialyse, Biokompatibilität als die Fähigkeit der verwendeten Materialien, Geräte oder des Systems definiert, keine klinisch signifikanten Patientenreaktionen zu bewirken (Gurland 1994).

Ursprünglich bezeichnete Biokompatibilität die transiente Leukopenie, die während der Hämodialyse zu beobachten ist (Schäfer und Hörl 1997). Schon 1977 war bekannt, dass diese vorübergehende Neutropenie auf eine komplementvermittelte pulmonale Sequestration von Leukozyten zurückzuführen ist (Craddock et al. 1977a). Die Aktivierung des Komplementsystems wird dabei über den sog. „Alternativen Weg“ vermittelt, d.h., dass die Komplementaktivierung über eine vermehrte Generierung der Komplementfaktoren C3a und C5a führt (Muller-Eberhard 1988, Chenoweth 1987). Dieser Anstieg ist in der Regel in den ersten 15 Minuten am ausgeprägtesten. Die im Dialyseverlauf bewirkte Leukozytolyse wird u.a. durch den fest in der Zellmembran verankerten Membran-Angriffs-Komplex, bestehend aus den Komplementfaktoren C5b bis C9, vermittelt (Hakim und Himmelfarb 1996, Bommer 1990). Aktivierte neutrophile Granulozyten haften aufgrund einer Vermehrung von Adhäsionsrezeptoren auf ihrer Zelloberfläche dem Endothel der Lungenkapillaren an und es kommt über eine Aggregation zur nachfolgenden Zerstörung der Zellen (Arnaout et al. 1985). Die hieraus resultierende Neutropenie verläuft parallel zur Komplementaktivierung und erreicht ebenfalls etwa 15 Minuten nach Beginn der Hämodialyse ihren Höhepunkt. Die anschließende Normalisierung der Zellzahl geschieht zum einen durch vermehrt aus dem Knochenmark freigesetzte Granulozyten, so dass sich im Blut zu diesem Zeitpunkt überproportional juvenile Zellen finden lassen (Kolb et al. 1989), und zum anderen durch eine verringerte Leukozytenaktivierung durch Verminderung der C5a-Rezeptoren auf der Zelloberfläche (Lewis et al. 1987).

Auch basophile Granulozyten, Mastzellen und Monozyten werden durch das Komplementsystem aktiviert. Aktivierte Basophile und Mastzellen sezernieren



vermehrt Histamin und Leukotriene (Bommer 1990), was mit einem Blutdruckabfall und ggf. Körpertemperaturanstieg einhergehen kann. Aktivierte Monozyten reagieren mit einer gesteigerten Synthese und Freisetzung von z.B. Interleukin 1 (IL-1) und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Diese beiden Zytokine werden für eine Vielzahl von metabolischen, pro-inflammatorischen und immunologischen Effekten verantwortlich gemacht (Shaldon und Dinarello 1987, Schindler et al. 1989, Abbas et al. 2000). Beispielsweise ließen sich Fieber, die Aktivierung von Lymphozyten, Freisetzung von  $\beta$ 2-Mikroglobulin sowie vermehrte Synthese von Akute-Phase-Proteinen und eine prokoagulatorische Wirkung in diesem Zusammenhang nachweisen (Hakim 1995). Die indirekte Zytokinfreisetzung durch den Dialysemembran-Blut-Kontakt soll ebenfalls eine Rolle beim häufig bei Dialysepatienten anzutreffenden Malnutrition-Inflammation-Atherosklerose-Syndrom (MIA-Syndrom) spielen, das mit einer vermehrten Mortalität assoziiert ist (Stenvinkel et al. 2000).

Ein weiterer unerwünschter Nebeneffekt der Dialysebehandlung ist die Aktivierung des Gerinnungssystems. Bei Kontakt des Blutes mit der Dialysemembran bildet sich eine Proteinschicht auf der Membran, sog. „coating“. Diese auch als „Sekundärmembran“ bezeichnete Schicht besteht u.a. aus Fibrinogen, Albumin,  $\beta$ 2-Mikroglobulin, und Gerinnungsfaktoren (Buscaroli 1991). Durch Aktivierung des Gerinnungsfaktors XII (Hageman-Faktor) kommt es zur Auslösung der endogenen Gerinnungskaskade bis hin zur Fibrinbildung (Hakim 1993). Desweiteren hat die Adhäsion von Thrombozyten deren Aktivierung, Aggregation und Degranulation zur Folge. Dabei werden u.a. Plättchen-Faktor 4 (PF4) und  $\beta$ -Thromboglobulin frei; beide hemmen Heparin in seiner Wirkung (Buscaroli 1991). Darüber hinaus bestehen noch viele weitere Interaktionen, die zur Aktivierung des Gerinnungssystems beitragen (Lüscher 1987, Feldman et al. 1991, Verbeelen et al. 1991). Um die Gerinnungs- und Thrombozytenaktivierung zu limitieren, das Koagulieren des extrakorporalen Systems zu verhindern und dadurch eine Durchführung der Dialysebehandlung überhaupt zu ermöglichen, ist die Gabe von Antikoagulantien in Form von z.B. Heparin unumgänglich.

Überempfindlichkeitsreaktionen während der Hämodialyse sind u.a. auf eine IgE-Antikörperbildung gegen Ethylenoxid, das zur Desinfektion von Dialysematerialien benutzt wird, zurückzuführen (Lemke et al. 1990, Walter und Taraba 1991) und können sich klinisch über leichte Urtikaria und Pruritus bis hin zu Bronchospasmus und lebensbedrohlichem anaphylaktischen Schock manifestieren (Hakim et al. 1984). Des Weiteren sind akute lebensbedrohliche Zwischenfälle, sog. anaphylaktoide Reaktionen, während der Hämodialyse mit der AN69<sup>®</sup>-Dialysemembran bei Patienten bekannt geworden, die gleichzeitig unter einer Therapie mit ACE-Hemmern standen (Verresen et al. 1990, Schaefer et al. 1993). Dabei führt die charakteristische negative Ladung der AN69<sup>®</sup>-Membran zur Aktivierung des Kallikrein-Kinin-Systems mit Freisetzung von Bradykinin, das aufgrund der Hemmung der Kininase II (entspricht ACE), dem Schlüsselenzym des Bradykininabbaus, zu schweren Hypotensionen und weiteren akuten Symptomen führt (Schäfer und Hörl 1997, Krieter et al. 1998).

Während die bislang beschriebenen Nebenwirkungen akuten Ursprungs sind, treten im Zusammenhang mit der chronischen Dialysebehandlung auch Langzeitnebenwirkungen auf, die teils auf eine schlechte Biokompatibilität, teils auf eine ungenügende Effektivität der Blutreinigungsverfahren zurückgeführt werden (Wauters 1995). Hier sei insbesondere die sog. Dialyse-assoziierte Amyloidose genannt, deren Genese neben einer Retention von  $\beta_2$ -Mikroglobulin als Folge einer insuffizienten Elimination durch das Nierenersatzverfahren auch durch eine vermehrte Stimulation der  $\beta_2$ -Mikroglobulinsynthese erklärt wird (Vincent et al. 1978, Gejyo et al. 1985, Bardin et al. 1986). Letztere soll ihre Ursache nicht nur in Dialysemembran-spezifischen Eigenschaften, wie der direkten oder indirekten Aktivierung von monozytären und lymphozytären Blutzellen (Flöge et al. 1987), sondern auch in der Mikroinflammation vieler Dialysepatienten bedingt durch z.B. suboptimale mikrobiologische Dialysegwasserqualität haben (Baz et al. 1991).

#### **1.4. Ziel der Studie**

Die Morbidität und Mortalität von Dialysepatienten ist im Vergleich zur Normalbevölkerung stark erhöht. Als eine Ursache hierfür wird die Bioinkompatibilität und unzureichende Effizienz der Dialysetherapie angesehen. Daher ist u.a. die Entwicklung leistungsstärkerer und biokompatiblerer Dialysemembranen zur Nierenersatztherapie ein zentraler Bereich der Forschung auf diesem Gebiet.

Ziel der vorliegenden Studie ist der Vergleich zwischen einer neuartigen synthetischen High-flux-Dialysemembran aus Polyethersulfon (PUREMA<sup>®</sup> H) und einer bekannten, als Kontrolle dienenden, optimierten Polysulfonmembran (Helixone<sup>®</sup>) (Ronco et al. 2002). Dabei wurden in einem typischen Studiendesign sowohl klassische als auch neuartige Biokompatibilitäts- und Performanceparameter untersucht, um die vorteilhaftere, d.h. die exkretorischen renalen Funktionen physiologischer ersetzende Dialysemembran zu identifizieren.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1. Votum des Ethik-Komitees**

Die vorliegende Studie wurde von der „Freiburger Ethik-Kommission International“ begutachtet. Mit Votum vom 12.07.2004 wurde sie ohne Einschränkung genehmigt (laufende Antragsnummer 04/1077).

### **2.2. Kurzbeschreibung der Studie**

In einer randomisierten, prospektiven Cross-over-Studie an acht prävalenten chronischen Hämodialysepatienten wurde die Biokompatibilität und Performance einer neu entwickelten synthetischen High-Flux-Dialysemembran, PUREMA<sup>®</sup> H, im Vergleich mit einer Kontrolldialysemembran, Helixone<sup>®</sup>, untersucht. Jeder Patient wurde mit jeder Membran unter kontrollierten Behandlungsbedingungen (Blut- und Dialysatfluß, sowie Behandlungsdauer) dreimal hämodialysiert. Bei der jeweils dritten konsekutiven Behandlung mit der jeweiligen Dialysemembran wurden zu definierten Zeitpunkten Blut- und Dialysatproben zur Bestimmung der klein- (Harnstoff, Kreatinin und Phosphat) bzw. mittelmolekularen ( $\beta_2$ -Mikroglobulin und Cystatin C) Clearance und Reduktionsratio bestimmt. Ferner wurde der Dialysatmassentransfer der genannten mittelmolekularen Substanzen und von Albumin gemessen. Die Biokompatibilität der Membranen wurde durch Messung der Leuko- und Thrombopenierate, der Komplement- (Komplementfaktor C5a) und Gerinnungsaktivierung (Thrombin-Antithrombin-III-Komplex) und durch Messung von Parametern des oxidativen Stresses (Elastase, Myeloperoxidase) ermittelt.

### **2.3. Studienein- und -ausschlusskriterien**

In die vorliegende Studie wurden acht Patienten eingeschlossen, die alle regelmäßig im Dialysezentrum Erlenbach hämodialysiert werden. Sie wurden vor Beginn der Studie über den Ablauf und die damit verbundenen Blutentnahmen und möglichen Risiken eingehend informiert und wurden nach schriftlicher Einwilligung in die Studie aufgenommen. Dabei gab es folgende Einschlusskriterien:

- Alter  $\geq 18$  Jahre
- Chronisch dialysepflichtige Niereninsuffizienz
- Hämodialyse seit mehr als drei Monaten
- Hämatokrit  $> 30$  %
- Stabile Antikoagulation während der Hämodialyse
- Stabile Erythropoietintherapie
- Funktionstüchtige arteriovenöse Fistel als Dialysezugang
- Schriftliche Einwilligung zur Studienteilnahme

Demgegenüber standen folgende Ausschlusskriterien:

- Nicht erfüllte Einschlusskriterien
- Patientenwunsch
- Schwangerschaft
- Klinisch instabile Patienten
- Lebenserwartung unter 12 Monate
- Gleichzeitige Teilnahme an anderen Studien

### **2.4. Patientencharakterisierung**

Fünf weibliche und drei männliche Patienten nahmen an der Studie teil. Ihr Alter lag zwischen 36 und 78 Jahren bzw. im Mittel  $62,1 \pm 13,8$  Jahre. Ihr Körpergewicht betrug 61,5 - 83,5 kg (Mittelwert  $68,5 \pm 7,5$  kg). Die Dialysepflichtigkeit reichte von 20 bis 195 Monate (Mittelwert  $76,0 \pm 55,3$  Monate). Zur terminalen Niereninsuffizienz führte bei zwei Patienten eine fokal-

segmentale Glomerulosklerose. Bei jeweils zwei weiteren Patienten lag eine diabetische Nephropathie bzw. eine autosomal dominante polyzystische Nierenerkrankung vor. Bei jeweils einem Patienten verursachte eine chronische Glomerulonephritis bzw. Analgetikanephropathie die Niereninsuffizienz. Eine detaillierte Charakterisierung der einzelnen Patienten zeigt Tabelle 1.

## **2.5. Dialysegeräte/ extrakorporales System/ Wasseraufbereitung**

Im Rahmen der Studie kamen ausschließlich Gambro-Hämodialysegeräte des Typs AK 200 S (Gambro AB, Lund, Schweden) zur Anwendung. Alle Geräte waren mit einem Filter (gambro® Ultrafilter U 8000 S) zur Ultrareinfiltration des Dialysats ausgestattet. Das Dialysat wurde unter Verwendung von Natriumbikarbonat-Trockenkartuschen (Bicart® 720g, gambro lundia AB, solution division, Lund, Schweden) und in Einwegkanistern vorgefertigter Dialysekonzentratlösung (saurer Dialysekonzentrat, Gambro MTN Neu-Brandenburg, Deutschland) aufbereitet. Das Dialysewasser wurde durch eine zentrale Umkehrosmoseanlage des Typs Osmose-Kompaktanlage MSC der Firma Culligan® Wassertechnik Deutschland (Ratingen, Deutschland) eingespeist.

Als Blutschlauchsystem wurde bei allen Dialysen dieser Studie ein extrakorporaler Kreislauf der Firma Gambro (Gambro medical line BL 100-8, 6440309E, Gambro Dasco S.p.A., Medolla, Italien) verwendet.

Tabelle 1: Detaillierte Charakterisierung der in die Studie eingeschlossenen Patienten

Patienten-initialen	Alter (Jahre)	Geschlecht	Trockengewicht (kg)	Gefäßzugang	Standarddialysator	Heparingesamtdosis (I.E.)	Dialyse seit (Monate)	Renale Grunderkrankung	Nebendiagnosen / wesentliche Vorerkrankungen
R.W.	36	weiblich	62,0	Linker Unterarm	Polyflux 140 H	9000	195	fokal-segmentale Glomerulosklerose	Nierenarterienstenose bds., Z.n. Hüftkopfnekrose, akute NTx-Rejektion '96
Z.Y.	52	weiblich	74,5	Linker Unterarm	Polyflux 17L	9500	72	fokal-segmentale Glomerulosklerose	keine
I.W.	62	weiblich	66,5	Linker Unterarm	Polyflux 140 H	3500 (Fraxiparin)	25	Zystennieren	Mitralklappeninsuff., absolute Arrhythmie, schwere sek. Hyperparathyreoidismus
E.U.	78	weiblich	61,5	Linker Unterarm	Polyflux 17L	7500	74	Analgetikaneuropathie	Aortenklappeninsuff., Linksherzhypertrophie, AV-Block III.°; Schrittmacher, pAVK, Totalendoprothese re. Hüfte '03
E.G.	68	weiblich	71,0	Linker Unterarm	Polyflux 17L	6500	95	Zystennieren	Diab. mell. II, KHK, Vorderwandinfarkt '02, pAVK, schwere sek. Hyperparathyreoidismus
G.S.	78	männlich	83,5	Rechter Unterarm	Polyflux 17L	6000	43	diabetische Nephropathie	Diab. mell. II, pAVK
K.R.	59	männlich	63,5	Rechter Unterarm	Polyflux 17L	5500	84	chronische Glomerulonephritis	keine
I.D.	64	männlich	65,5	Rechter Oberarm	Polyflux 17L	5500	20	diabetische Nephropathie	Diab. mell. II, KHK, absolute Arrhythmie, AV-Block III.°, Aortenersatz bei Aneurysma '99

## **2.6. Versuchsdialysatoren**

Beide in dieser Studie untersuchte Hohlfaser-Dialysemembranen stellen synthetische High-flux-Membranen dar, die im Hämodialysemodus getestet wurden, prinzipiell aber auch für die Hämofiltration und Hämodiafiltration geeignet sind. Der neuen PUREMA<sup>®</sup> H-Dialysemembran der Firma Membrana GmbH, Wuppertal, Deutschland, die in Form eines 1,7 m<sup>2</sup> großen, gamma-sterilisierten Kapillardialysators zum Einsatz kam, wurde als Kontrolle die 2001 eingeführte Helixone<sup>®</sup>-Membran (Ronco et.al. 2002) der Firma Fresenius Medical Care AG, Bad Homburg, Deutschland, gegenübergestellt. Hierzu wurde ein FX 80-Kapillardialysator mit 1,8m<sup>2</sup> Oberfläche verwendet. Die Helixone<sup>®</sup>-Dialysemembran wird derzeit als eine der leistungsfähigsten und biokompatibelsten Membranen überhaupt angesehen und stellt so etwas wie den „Goldstandard“ in der Hämodialyse dar (Ronco et.al. 2002). Weitere Details zu den Dialysatoren siehe unter 2.6.1 bzw. 2.6.2.

### **2.6.1. Die PUREMA<sup>®</sup> H - Dialysemembran**

Die PUREMA<sup>®</sup> H-Dialysemembran, die im Rahmen dieser Studie getestet wurde, stellt eine neuartige Membran dar, bei der es Entwicklungsziel war, die mittelmolekulare Clearance zu optimieren, ohne dass es zu einem überhöhten Albuminverlust kommt. Sie besteht aus dem hydrophoben Polymer Polyethersulfon und dem hydrophilen Poly-Vinyl-Pyrolidone (PVP). Aus der Art des Spinnprozesses ergibt sich ein asymmetrischer Aufbau der Membran. Dabei ist die innere Schicht für die Filtrationseigenschaften verantwortlich. Die mittlere Schicht bildet das grobporige Stützgerüst der Membran. Die äußere Schicht verfügt über Poren von etwa 10 nm Durchmesser und ist maßgeblich für die Art der Flüssigkeitsströmungen verantwortlich. Zwischen den einzelnen Dialysekapillaren sind noch einzelne Kunstfaserbündel, PET<sup>®</sup> genannt, eingebracht, um, zusätzlich zur Ondulation der Dialysemembranfaser, ein



möglichst gleichmäßiges Umspülen der Kapillaren mit Dialysat zu gewährleisten. Weitere technische Daten sind der Tabelle 2 zu entnehmen.

### **2.6.2. Die Helixone<sup>®</sup>-Dialysemembran**

Die Helixone<sup>®</sup>-Dialysemembran besteht aus zwei Schichten, die aus dem hydrophoben Polymer Polysulfon bestehen. Es findet sich ein asymmetrischer Wandaufbau. Auch diese Membran enthält zusätzlich PVP (Ronco et al. 2002). Tabelle 2 stellt die wesentlichen technischen Daten der beiden Dialysemembranen gegenüber. Die Dialysemembran­kapillaren sind zur besseren Dialysat­umspülung ebenfalls mikroonduliert. Allerdings wird in diesem Fall kein PET<sup>®</sup> verwendet. Die Helixone<sup>®</sup>-Dialysemembran ist zur weiteren Clearanceverbesserung in ein spezielles, strömungsoptimiertes Gehäuse verbaut und wird in dieser Form als FX80<sup>®</sup>-Dialysator vertrieben (Ronco et al. 2002), so wie er auch in der vorliegenden Studie Verwendung fand.

Tabelle 2: Technische Daten der untersuchten Dialysemembranen

	PUREMA® H	Helixone®	Einheit
<i>Dialysatorbezeichnung</i>	-	FX80®	-
<i>Membranmaterial</i>	Polyethersulfon/ PVP-Blend	Polysulfon/ PVP-Blend	-
<i>Kapillarlumen</i>	200	185	µm
<i>Kapillarwandstärke</i>	30	35	µm
<i>Oberfläche</i>	1,7	1,8	m <sup>2</sup>
<i>Sterilisationsverfahren</i>	γ-Strahlen	Dampf	-
<i>Ultrafiltrationskoeffizient</i>	85	62	ml / mmHg*h*m <sup>2</sup>
<i>Maximaler TMP</i>	600	600	mmHg

## 2.7. Versuchsdurchführung

Jeder Patient wurde jeweils dreimal mit jedem der beiden Dialysatoren entsprechend des individuellen Dialyserhythmus behandelt. Die Blutentnahmen und die Dialysatsammlung erfolgten jeweils erst bei der dritten Behandlung zu festgesetzten Zeiten. Die Versuchsdialysedauer betrug zwischen 210 und 240 Minuten, war aber immer identisch für die individuellen Patienten. Der Blutfluss wurde auf 300 ml/min, der Dialysatfluss auf 500 ml/min eingestellt und während der gesamten Versuchsdauer konstant beibehalten. Die individuell angepasste Antikoagulation wurde unverändert von den Routinedialysebehandlungen übernommen und erfolgte bei sechs Patienten mit unfraktioniertem Heparin-Natrium (Heparin-Natrium-25.000-ratiopharm®, ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland), das nach initialem Bolus anschließend kontinuierlich während der Behandlung infundiert wurde. Zwei Patienten erhielten fraktioniertes Heparin

(Dalteparin-Natrium, FRAGMIN<sup>®</sup> 10 ml MULTIDOSE, PHARMACIA GmbH, Karlsruhe, Deutschland). Hier wurde jeweils nur mittels Initialbolus antikoaguliert. Vor Dialyse erfolgte das Entlüften und Spülen des extrakorporalen Kreislaufs mit 1500 ml isotoner Kochsalzlösung (1500 ml Isotonische Natriumchlorid-Lösung, Gambro Dasco S.p.A. Sondalo, Italien) im „Single Pass“-Verfahren, wobei die letzten ca. 200 ml bis zum Anschluß des Patienten im System rezirkulierten. Am Versuchsende wurde zur Blutrückgabe ebenfalls mit isotonischer Kochsalzlösung (500 ml Isotonische Natriumchlorid-Lösung, Gambro Dasco S.p.A. Sondalo, Italien) gespült.

Nach der Shuntpunktion wurden die ersten Blutentnahmen direkt aus der Dialylenadel gemäß Entnahmenprotokoll durchgeführt. Sodann wurde der Patient mit dem arteriellen Schenkel des Blutschlauchsystems an die Maschine angeschlossen, die Blutpumpe war dabei auf eine Geschwindigkeit von 100 ml/min. eingestellt. Nach der vollständigen Füllung des extrakorporalen Systems mit Blut wurde auch der venöse Schenkel des Blutschlauchsystems mit dem Patienten verbunden. Dann erfolgte die Erhöhung des Blutflusses auf 300 ml/min. Der anschließende Start der Ultrafiltration war gleichbedeutend mit dem Versuchsbeginn.

### **2.7.1. Dialysatsammlung**

Während der gesamten Versuchsdauer wurde durch eine hochpräzise Rollerpumpe (IPC-4 (V2.00), App-Nr. ISM 760B-0366, Ismatec, Glattbrugg-Zürich, Schweiz) über ein spezielles Schlauchsystem (A/V 2000, Medizintechnik Promedt GmbH, Tornesch, Deutschland) kontinuierlich das anfallende Dialysat mit einer Geschwindigkeit von 10 ml/min gesammelt. Dabei wurde das zu sammelnde Dialysat aus dem abführenden Dialysatschlauch des Dialysegerätes mittels eines T-Stücks abgeleitet. Das abgepumpte Dialysat wurde in einem Auffangbehälter gesammelt.

Am Versuchsende wurden aus dem gewonnenen Dialysat nach nochmaliger Durchmischung 100 ml mit einer Perfusorspritze (Infusobject 50 ml, Dispomed Witt oHG, Gelnhausen, Deutschland) in zwei Falcon-Tubes (Blue Max<sup>™</sup> 50 ml

Polypropylene Conical Tube 30 x 115 mm style) der Firma Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, NJ, USA, überführt und danach bei -20°C bis zur Probenmessung eingefroren. Das restliche Dialysat wurde verworfen.

### **2.7.2. Blutprobenentnahme**

Die Tabellen 3 und 4 zeigen Schemata zu Art und Zeitpunkt der Blutentnahmen. Prä-Dialyseabnahmen (0 min) wurden direkt aus der Punktionsnadel unmittelbar nach der Shuntpunktion durchgeführt; während der Behandlung wurden arterielle Abnahmen (a) stets aus einer Gummimuffe des arteriellen Schlauches und venöse Abnahmen (v) aus einer Gummimuffe des venösen Schlauches des extrakorporalen Systems entnommen. Zur Probengewinnung kam das Blutmonovetten-System der Firma Sarstedt Nümbrecht, Deutschland, zur Anwendung. Alle Blutproben wurden innerhalb von 30 min nach der Entnahme für 10 min bei 4000 Umdrehungen/min zentrifugiert; das überstehende Plasma wurde in Eppendorf-Reagiergefäße (Micro-Tubes, 1 ml, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) pipettiert und bei -20°C bis zur Weiterbearbeitung eingefroren.

Tabelle 3: Darstellung zur Art und zum Zeitpunkt der Blutentnahmen zur Leistungscharakterisierung der Dialysatoren. a = arterieller Schenkel, v = venöser Schenkel des Blutschlauchsystems

Performance		0 min					30 min					210/240 min														
<i>kleinmolekulare Clearance</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Harnstoff</li> <li>• Kreatinin</li> <li>• Phosphat</li> </ul>	–					a					v					a					v				
<i>mittelmolekulare Clearance</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta_2</math>-Mikroglobulin</li> <li>• Cystatin C</li> <li>• Myoglobin</li> <li>• Retinol-bindendes Protein</li> </ul>	–					a					v					a					v				
<i>Reduktionsratio</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Harnstoff</li> <li>• <math>\beta_2</math>-Mikroglobulin</li> <li>• Cystatin C</li> <li>• Myoglobin</li> <li>• Retinol-bindendes Protein</li> </ul>	a					–					a														
<i>Dialysatmassen-transfer</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta_2</math>-Mikroglobulin</li> <li>• Albumin</li> </ul>	Kontinuierliche Dialysatsammlung																								

Tabelle 4: Art und Zeitpunkt der Blutabnahmen zur Biokompatibilität.  
a=arterieller Schenkel, v= venöser Schenkel des  
Blutschlauchsystems.

Biokompatibilität	0	5	10	15	30	60	210/240
	min	min	min	min	min	min	min
<i>Blutbild</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Leukozyten</i></li> <li>• <i>Thrombozyten</i></li> </ul>	a	a	a	a	a	a	a
<i>Komplementfaktor C5a</i>	a	v	v	v	v	v	v
<i>Thrombin-Antithrombin-III-Komplex</i>	a	–	–	–	v	v	v
<i>Myeloperoxidase</i>	a	–	–	–	v	v	v
<i>Elastase</i>	a	–	–	–	v	v	v

### 2.7.3. Messung der Parameter in Plasma und Dialysat

Zur quantitativen Messung von Leukozyten und Thrombozyten wurde ein Coulter Counter (MAXM-AL, Seriennr. AB18194, Coulter® Electronics GmbH, Krefeld, Deutschland) verwendet. Dabei fanden die Sarstedt-Monovetten 1,2 ml S-Monovette® KE (1,6 mg EDTA/ml Blut) Anwendung.

Ein Hitachi 911 automatic analyzer (Fabrikationsnummer 0425-19, Böhringer, Mannheim, Deutschland) diente zur vollautomatischen Bestimmung von Kreatinin, Harnstoff und Phosphat im Blutplasma, welches nach Blutentnahme (4,5 ml S-Monovette® KE (1,6 mg EDTA/ml Blut)) durch Zentrifugieren gewonnen wurde.

Wie aus Tabelle 5 ersichtlich wird, wurden die Werte für  $\beta_2$ -Mikroglobulin, Cystatin C, Myoglobin, Retinol-bindendes Protein und Albumin nephelometrisch

ermittelt. Bei der Nephelometrie wird Streulicht benutzt, um von der charakteristischen Streuung eines sich in Lösung befindlichen Antigen-Antikörper-Komplexes auf die Konzentration des enthaltenen Antigens zu schließen. Da eine ausreichende Präzipitation im Reagenzansatz für die Trübungsmessung (Nephelometrie) bei den hier zu bestimmenden Proteinen nicht gewährleistet ist, werden die zu testenden Proteine an Latex agglutiniert (latex enhanced), um größere und damit besser zu detektierende Immunkomplexe zu erhalten. Anhand einer durch Verdünnung erstellten Referenzkurve einer bekannten Konzentration des jeweiligen Testproteins kann auf die Konzentration des gesuchten Proteins geschlossen werden. In dieser Studie kam der Behring Nephelometry Analyzer (BNA, Seriennummer 2071 27, Behring GmbH, Marburg, Deutschland) zur Anwendung. Die auf  $-20^{\circ}\text{C}$  gefrorenen Proben wurden im Wasserbad für 10 min bei  $37^{\circ}\text{C}$  aufgetaut. 1 ml einer Mischung aus Plasma (K-EDTA-Plasma) und dem jeweils spezifischen Antikörper mit den Latex-Partikeln wurde in das BNA eingesetzt, das die Messung im Weiteren automatisch durchführte.

Der Komplementfaktor C5a und der Thrombin-Antithrombin-III-Komplex wurden aus Plasma nach Zentrifugieren der Sarstedt 2,7 ml S-Monovette<sup>®</sup> KE (1,6 mg EDTA/ml Blut) bzw. der S-Monovette<sup>®</sup>: 1,4 ml 9 NC (0,3 ml Citratlösung) mithilfe eines entsprechenden ELISA bestimmt (siehe Tabelle 6). Dabei handelt es sich um ein Enzymimmunoassay nach dem „sandwich“-Prinzip. In der Probe befindliches, zu bestimmendes Protein bindet sich während einer ersten Inkubation an einen korrespondierenden Antikörper, der wiederum an die Oberfläche einer Mikrotitrationsplatte gebunden ist. Nach einem Waschvorgang wird während einer zweiten Inkubation ein zweiter Peroxidase-konjugierter Antikörper an das Protein fixiert. Nach nochmaligem Waschen wird die Lichtintensität, die von der Menge an Antikörper abhängt, photometrisch bestimmt.

Tabelle 5: Überblick über die Bestimmung der verschiedenen Performanceparameter in Plasma und Dialysat

Parameter	Meßmethode	Hersteller	Testbezeichnung
<i>β<sub>2</sub>-Mikroglobulin</i>	Immuno-nephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer Analyzer (BNA), latex enhanced
<i>Cystatin C</i>	Immuno-nephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer Analyzer (BNA), latex enhanced
<i>Myoglobin</i>	Immuno-nephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer Analyzer (BNA), latex enhanced
<i>Retinol-bindendes Protein</i>	Immuno-nephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer Analyzer (BNA), latex enhanced
<i>Albumin</i>	Immuno-nephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer Analyzer (BNA)



Tabelle 6: Überblick über die Bestimmung der Biokompatibilitätsparameter im Plasma

Parameter	Meßmethode	Hersteller	Testbezeichnung
<i>Komplementfaktor C5a</i>	ELISA	Dade Behring	Enzygnost C5a micro
<i>Thrombin-Antithrombin-III-Komplex</i>	ELISA	Dade Behring	Enzygnost TAT micro
<i>Myeloperoxidase</i>	ELISA	Immundiagnostik	Myeloperoxidase
<i>Elastase</i>	ELISA	Milenia Biotec	Milenia PMN-Elastase

Die Parameter des oxidativen Stresses, Myeloperoxidase und Elastase (siehe Tabelle 6), wurden aus Plasma nach Zentrifugieren der Sarstedt 2,7 ml S-Monovette® KE (1,6 mg EDTA/ml Blut) mittels der jeweiligen ELISA bestimmt. Myeloperoxidase wurde mittels eines auf einem Peroxidase-markierten Kaninchen-Anti-MPO-Antikörper basierenden ELISA gemessen (Tabelle 6; zur prinzipiellen Funktionsweise eines ELISA siehe oben). Der Normalbereich im Plasma bei dem verwendeten Assay beträgt 50-125 ng/ml.

Die Elastasebestimmungsmethodik beruhte auf einem Festphasen-ELISA (Tabelle 6), der quantitativ den Komplex aus PMN-Elastase und dem  $\alpha_1$ -

Proteinase-Inhibitor maß. Die Festphase war dabei mit einem polyklonalen Hühnereigelb-Antikörper gegen humane PMN-Elastase beschichtet. Der verwendete Assay weist in einem Normalkollektiv eine mediane PMN-Elastasekonzentration im Plasma von 35 ng/ml und eine 95%-Percentile von 64,9 ng/ml auf.

Die Bestimmung der Peroxide erfolgte über eine Peroxidasereaktion mit Peroxid und einer anschließenden Substratumsetzung mit TMB (Tabelle 6). Dabei wurde die gestoppte chromogene Flüssigkeit bei einer Wellenlänge von 450 nm quantitativ photometrisch unter Abgleich mit einem Kalibrator gemessen. Eine mäßige oxidative Belastung soll bei Werten von 200-350 µmol/l, eine starke bei Werten von mehr als 350 µmol/l vorliegen.

Die Antioxidantienbestimmung wurde mit einem photometrischen Test, der die Reaktion von exogenem Peroxid mit den in der Probe vorliegenden Antioxidantien zeitabhängig maß, durchgeführt (Tabelle 6). Auch hier wurde die gestoppte chromogene Flüssigkeit bei 450 nm quantifiziert. Die Angabe des antioxidativen Potentials erfolgte in Wasserstoffperoxidäquivalenten. Eine niedrige antioxidative Kapazität findet sich bei diesem Test bei Werten unter 280 µmol/l, hohe Werte liegen jenseits von 320 µmol/ vor.

## **2.8. Berechnung der Behandlungseffizienz**

Die Ermittlung der Clearances ( $K$ ) der beiden Dialysatoren erfolgte nach der von Hoenich und Mitarbeitern (1979) vorgeschlagenen Formel (Geichung 1):

$$K_{\text{Substanz}} = Q_B \times (C_{\text{art}} - C_{\text{ven}}/C_{\text{art}}) + (Q_{\text{UF}} \times C_{\text{ven}}/ C_{\text{art}}) \quad [\text{ml}/\text{min}] \quad (\text{Gleichung 1})$$

Wobei  $Q_B$  den Blutfluss,  $C_{\text{art}}$  die Konzentration der gemessenen Substanz vor und  $C_{\text{ven}}$  die Konzentration der gemessenen Substanz nach dem Dialysator, sowie  $Q_{\text{UF}}$  die Ultrafiltrationsrate pro min bezeichnet. Vorteil dieser Formel ist die Berücksichtigung der während der Behandlung anliegenden Ultrafiltrationsrate.

Da die Vollblutclearances die tatsächlichen Clearances überschätzen, wurden ebenfalls die jeweiligen Plasmaclearances entsprechend Gleichung 5 errechnet. Hierzu wurden der Patientenhämatokrit (Hkt) zum Zeitpunkt der jeweiligen Clearance-Probenabnahme und das Plasmagesamteiweiß (TP, g/L) vor Behandlungsbeginn bestimmt (Henderson et al. 1996). Um die Verteilung der verschiedenen gemessenen Substanzen von der Zelle ins Blut zu berücksichtigen, wurden die jeweiligen Distributionskoeffizienten (SPC) verwendet. Diese betragen für Harnstoff 0,86, für Kreatinin 0,73, für Phosphat 0,5 und für die restlichen kleinmolekulargewichtigen Eiweiße jeweils 0 (Henderson et al. 1996).

Gleichung 5:

$$K_{\text{Plasma}} = K_{\text{Substanz}} \times (1 - 0.0107 \times \text{TP}) \times (\text{SPC} \times \text{Hkt} + (1 - \text{Hkt})) \text{ [ml/min]}$$

Die Reduktionsratio (*RR*) wurde nach Gleichung 2 (Basile et al. 1990) errechnet.

$$RR = (1 - C_{\text{post}} / C_{\text{pre}}) \times 100 \text{ [%]} \quad (\text{Gleichung 2})$$

$C_{\text{pre}}$  meint die Konzentration der gemessenen Substanz vor Beginn der Behandlung und  $C_{\text{post}}$  die Konzentration nach der Behandlung. Der  $C_{\text{post}}$ -Wert wurde für die Berechnung der Mittelmolekül-Reduktionsrate ( $\beta$ 2-Mikroglobulin, Cystatin C, Myoglobin und Retinol-bindendes Protein) zuvor nach der von Bergström und Wehle beschriebenen Formel für Veränderungen des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens korrigiert (Bergström et al. 1987).

Der Massentransfer der verschiedenen Substanzen ins Dialysat ( $MT_D$ ) wurde entsprechend Gleichung 3 ermittelt (Krieter et al. 2005):

$$MT_D = C_{D \text{ Substanz}} \times (Q_D + Q_{UF}) \times t \quad [\text{mg}] \quad (\text{Gleichung 3})$$

$C_{D \text{ Substanz}}$  entspricht der Konzentration der gemessenen Substanz im gesammelten Dialysat und  $t$  der Versuchsdauer in Minuten.

## 2.9. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des SAS software package für Windows<sup>TM</sup>, Version 8.2, Cary, NC, USA. Es wurden für alle Ergebnisse die Mittelwerte (MW) und die Standardabweichung (SD) errechnet. Die statistische Signifikanz der Versuchsergebnisse wurde unter Verwendung des Student'schen t-Tests für paarig verbundene Stichproben kalkuliert. Unterschiede wurden ab einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  als statistisch signifikant gewertet.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. Klinische Beobachtung**

Sämtliche Hämodialysebehandlungen mit der neuen PUREMA<sup>®</sup> H - und der Helixone<sup>®</sup>-Membran wurden ohne jegliche Nebenwirkungen oder Zwischenfälle von allen Patienten toleriert. Die Handhabbarkeit der PUREMA<sup>®</sup> H - wie auch der Helixone<sup>®</sup>-Dialysatoren war einfach. Füllen, Luftentleeren, Spülen und Rückspülen mit physiologischer Kochsalzlösung waren bei beiden Filtern unkompliziert. Nach der Behandlung waren in keinem der extrakorporalen Systeme größere Thrombenbildungen zu beobachten. Es traten keinerlei technische Probleme wie Blutlecks oder Gerinnung des extrakorporalen Systems auf.

#### **3.2. Erzielte Behandlungsparameter**

Da alle Patienten während des Studienverlaufs durchgehend individuell identisch behandelt wurden, ergab sich kein Unterschied zwischen PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> bezüglich der Dauer der Studiendialyse, die jeweils  $236,3 \pm 10,6$  min betrug. Ebenso waren die erzielten Blut- und Dialysatflüsse jeweils mit  $300 \pm 0$  bzw.  $500 \pm 0$  ml/min identisch. Die Gesamt-Ultrafiltrationsrate betrug bei Helixone<sup>®</sup> im Mittel  $2838 \pm 746$  ml und bei PUREMA<sup>®</sup> H  $2900 \pm 816$  ml, ohne dass ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen vorlag. Bei Verwendung von Helixone<sup>®</sup> betrug das Gewicht der Patienten vor der Dialyse  $75 \pm 11,6$  kg und nach der Dialyse  $72,6 \pm 11,4$  kg. Unter PUREMA<sup>®</sup> H wogen die Patienten vorher  $75,1 \pm 11,1$  und nachher  $72,5 \pm 11,2$  kg. Auch hier fanden sich keine signifikanten Unterschiede.

### 3.3. Performance-Messungen

#### 3.3.1 Clearances

##### 3.3.1.1. Kleinmolekulare Substanzen

Die Abbildungen 1 bis 3 geben die Vollblutclearances der kleinmolekularen Substanzen Harnstoff, Kreatinin und Phosphat zum Zeitpunkt 30 und 240 min der Studiendialysen wider. Die mittleren Harnstoffclearances befanden sich mit beiden Dialysemembranen auf einem nahezu identischen Niveau ohne signifikante Unterschiede und betragen nach 30 min für Helixone<sup>®</sup>  $256 \pm 4$  ml/min bzw. für PUREMA<sup>®</sup> H  $255 \pm 9$  ml/min (Abb. 1). Gegenüber 30 min kam es bei Helixone<sup>®</sup> nach 240 min zu einem hochsignifikanten Abfall der Harnstoffclearance auf  $247 \pm 5$  ml/min.

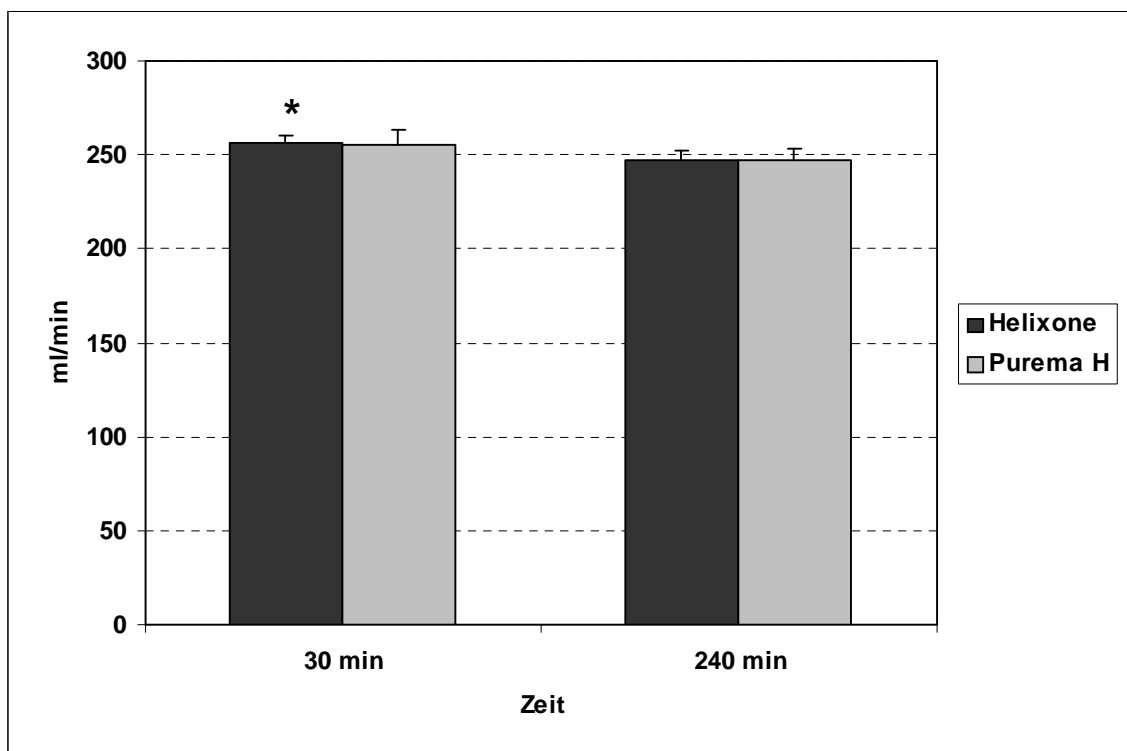


Abb. 1: Vergleich der Harnstoffvollblutclearances von Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H nach 30 und 240 min; \*  $p < 0,001$  vs. 240 min

Obwohl sich bei PUREMA<sup>®</sup> H eine gleichartige Tendenz mit einer Reduktion auf  $247 \pm 6$  ml/min zeigte, war hier der Unterschied jedoch nicht signifikant. Die

entsprechenden Harnstoffplasmaclearances für PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> betragen nach 30 min 225 ± 8 bzw. 226 ± 5 ml/min und nach 240 min 217 ± 6 bzw. 217 ± 5 ml/min.

Abbildung 2 gibt die Ergebnisse der Kreatininvollblutclearance wider. Es fanden sich keine Unterschiede zwischen den Membranen, allerdings kam es sowohl bei Helixone<sup>®</sup> (p < 0,01) als auch bei PUREMA<sup>®</sup> H (p < 0,05) nach 240 min (236 ± 9 vs. 239 ± 9 ml/min) zu einer signifikanten Abnahme der Werte gegenüber 30 min (249 ± 8 vs. 250 ± 9 ml/min). Die Kreatininplasmaclearances für PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> lagen nach 30 min mit 209 ± 8 bzw. 209 ± 7 ml/min und nach 240 min mit 197 ± 8 bzw. 197 ± 7 ml/min niedriger als die Vollblutclearances.

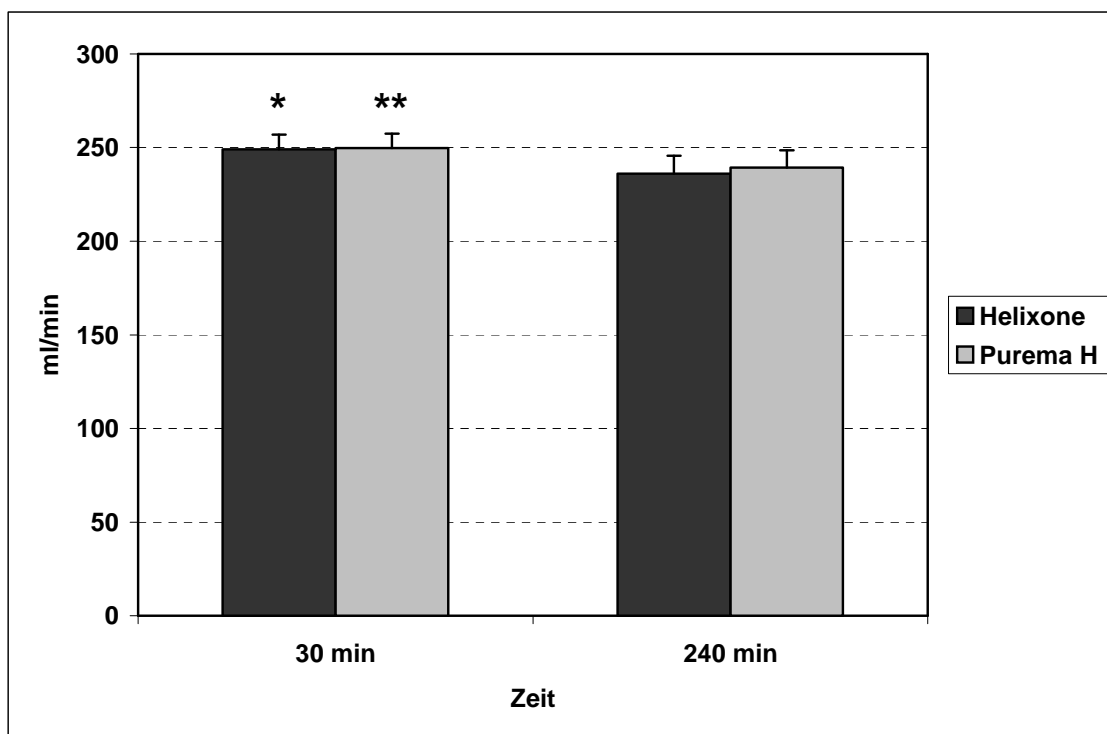


Abb. 2: Vergleich der Kreatininvollblutclearances von Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H nach 30 und 240 min; \* p < 0,01 vs. 240 min, \*\* p < 0,05 vs. 240 min

Auch bei den Phosphatvollblutclearances fand sich kein Unterschied zwischen Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H, lediglich konnte eine signifikante Reduktion (p <

0,05) der 30- gegenüber der 240-Minuten-Werte bei Helixone<sup>®</sup> ( $259 \pm 4$  bzw.  $254 \pm 6$  ml/min) ermittelt werden. Die Phosphatvollblutclearances von PUREMA<sup>®</sup> H waren demgegenüber bei 30 min mit  $259 \pm 8$  ml/min und bei 240 min mit  $257 \pm 5$  ml/min nahezu identisch. Die Phosphatplasmaclearances für PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> betragen nach 30 min  $195 \pm 7$  bzw.  $197 \pm 4$  ml/min und nach 240 min  $189 \pm 6$  bzw.  $190 \pm 5$  ml/min.

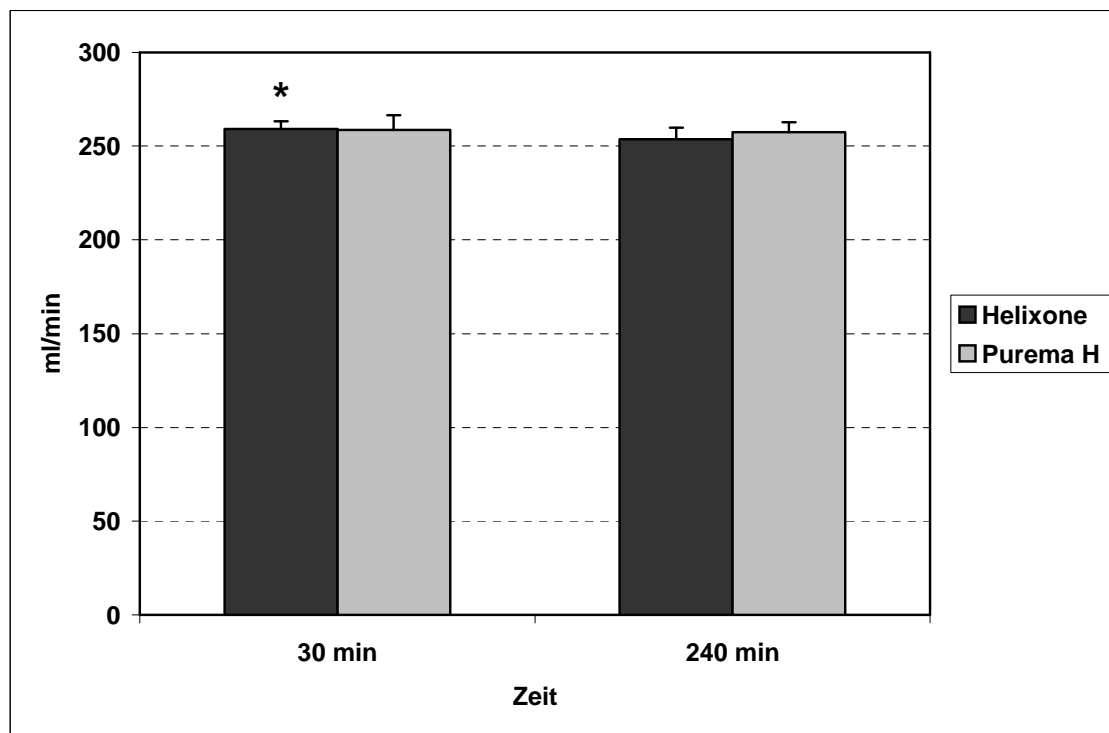


Abb. 3: Vergleich der Phosphatvollblutclearances von Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H nach 30 und 240 min; \*  $p < 0,05$  vs. 240 min

### 3.3.1.2. Kleinmolekulargewichtige Proteine

Bei den kleinmolekulargewichtigen Proteinen wurden die Clearancewerte von  $\beta_2$ -Mikroglobulin, Cystatin C, Myoglobin und Retinol-bindendem Protein gemessen.

Bezüglich der  $\beta_2$ -Mikroglobulinclearance war PUREMA<sup>®</sup> H verglichen mit Helixone<sup>®</sup> über die gesamte Behandlung hochsignifikant überlegen (Abb. 4).



Während bei Helixone<sup>®</sup> nach 30 min im Vollblut ein Mittelwert von  $98 \pm 9$  ml/min gemessen wurde, betrug dieser bei PUREMA<sup>®</sup> H  $120 \pm 15$  ml/min ( $p < 0,001$ ). Bei 240 min war der Unterschied zwischen den beiden Membranen noch größer ( $88 \pm 8$  vs.  $119 \pm 10$  ml/min;  $p < 0,001$ ). Während bei PUREMA<sup>®</sup> H nahezu kein messbarer Vollblutclearanceabfall im Dialyseverlauf nachweisbar war, kam es bei Helixone<sup>®</sup> von 30 nach 240 min zu einer signifikanten Clearanceabnahme ( $p < 0,01$ ) (Abb. 4). Die  $\beta_2$ -Mikroglobulinplasmaclearances für PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> lagen deutlich niedriger als die Vollblutclearances und betrug nach 30 min  $69 \pm 8$  bzw.  $58 \pm 3$  ml/min sowie nach 240 min  $63 \pm 5$  bzw.  $50 \pm 3$  ml/min.

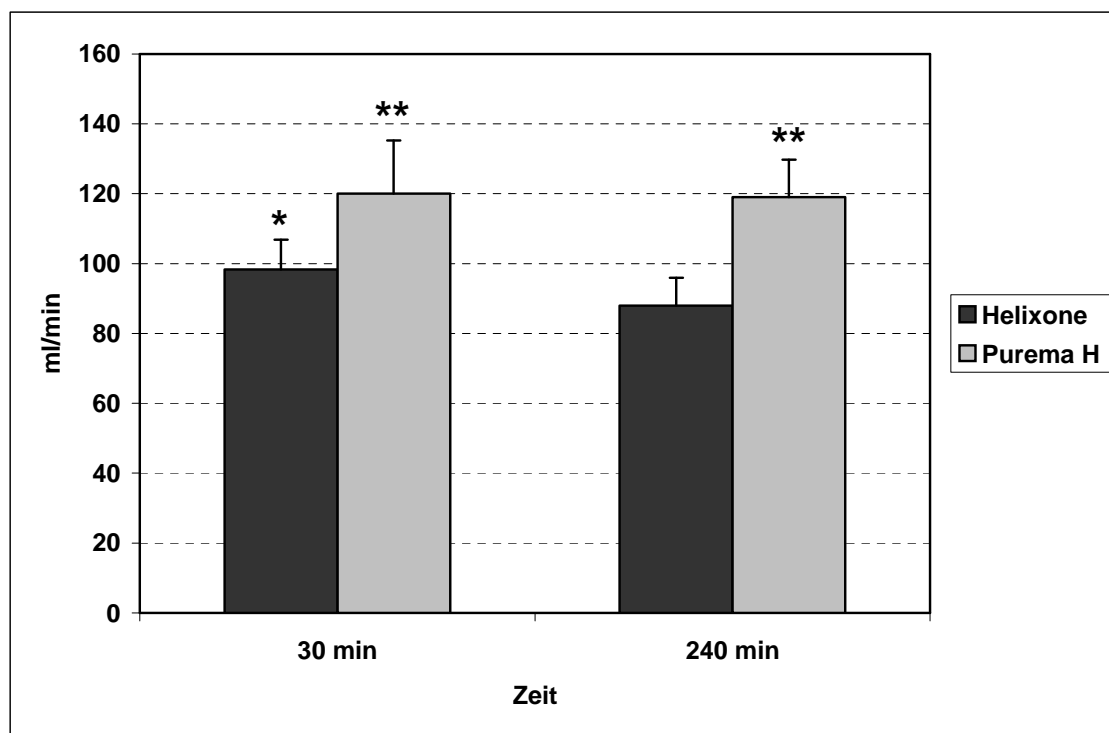


Abb. 4: Vergleich der  $\beta_2$ -Mikroglobulinvollblutclearances von Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H nach 30 und 240 min; \*  $p < 0,01$  vs. 240 min, \*\*  $p < 0,001$  vs. Helixone<sup>®</sup>

Das Verhalten der Vollblutclearances von Cystatin C entsprach im Wesentlichen dem von  $\beta_2$ -Mikroglobulin, jedoch waren die Unterschiede zwischen PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> nochmals größer (Abb. 5). Nach 30 min standen einem Mittelwert von  $116 \pm 13$  ml/min bei PUREMA<sup>®</sup> H  $74 \pm 8$  ml/min bei Helixone<sup>®</sup> gegenüber, während bei 240 min  $107 \pm 9$  ml/min bzw.  $64 \pm 12$

ml/min gemessen wurden (jeweils  $p < 0,001$ ). Bei beiden Membranen kam es zwischen der 30. und 240. min zu einer signifikanten Clearanceabnahme ( $p < 0,05$ ) (Abb. 5). Die Cystatin C-Plasmaclearances für PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> betragen nach 30 min  $67 \pm 3$  bzw.  $44 \pm 6$  ml/min und nach 240 min  $57 \pm 3$  bzw.  $36 \pm 5$  ml/min.

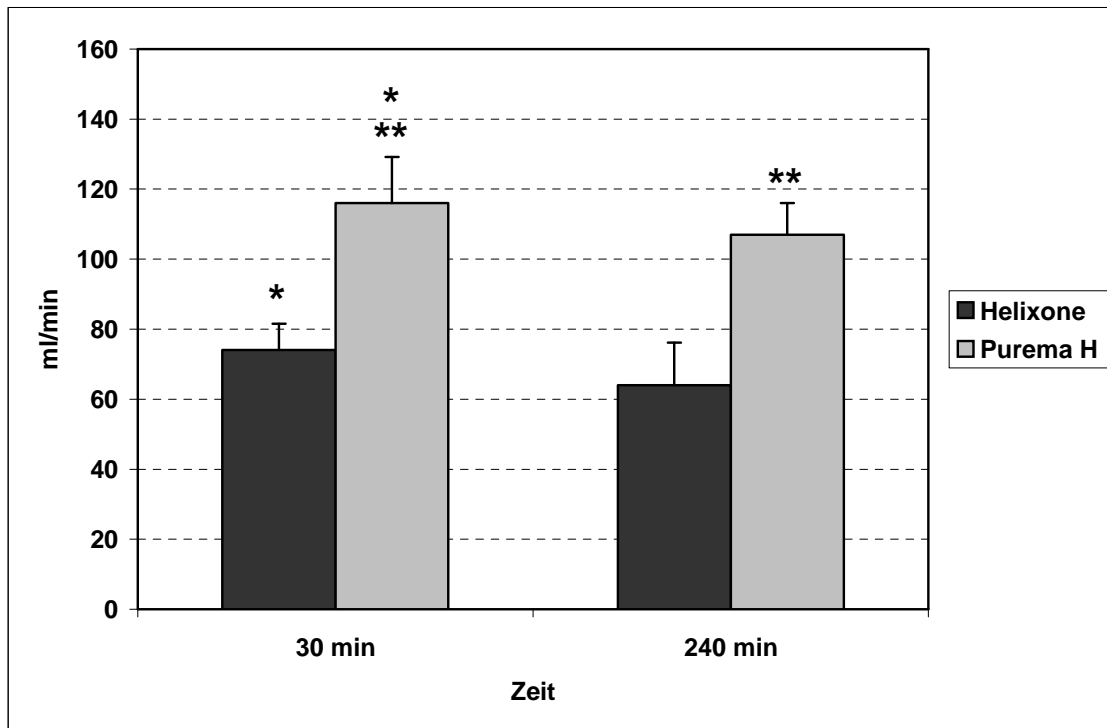


Abb. 5: Vergleich der Cystatin C-Vollblutclearances von Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H nach 30 und 240 min; \*  $p < 0,05$  vs. 240 min, \*\*  $p < 0,001$  vs. Helixone<sup>®</sup>

Bei der Myoglobinvollblutclearance wies PUREMA<sup>®</sup> H nach 30 min mit  $52 \pm 17$  ml/min einen mehr als dreimal so hohen Mittelwert als Helixone<sup>®</sup> ( $15 \pm 11$  ml/min) auf ( $p < 0,001$ ). Nach 240 min war die Differenz mit  $39 \pm 8$  ml/min bei PUREMA<sup>®</sup> H und  $15 \pm 12$  ml/min bei Helixone<sup>®</sup> etwas kleiner, aber immer noch hochsignifikant unterschiedlich (Abb. 6). Erneut lagen die Myoglobinplasmaclearances von PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> nach 30 min mit  $30 \pm 9$  bzw.  $9 \pm 7$  ml/min und nach 240 min mit  $21 \pm 5$  bzw.  $8 \pm 6$  ml/min niedriger als die Vollblutclearances.

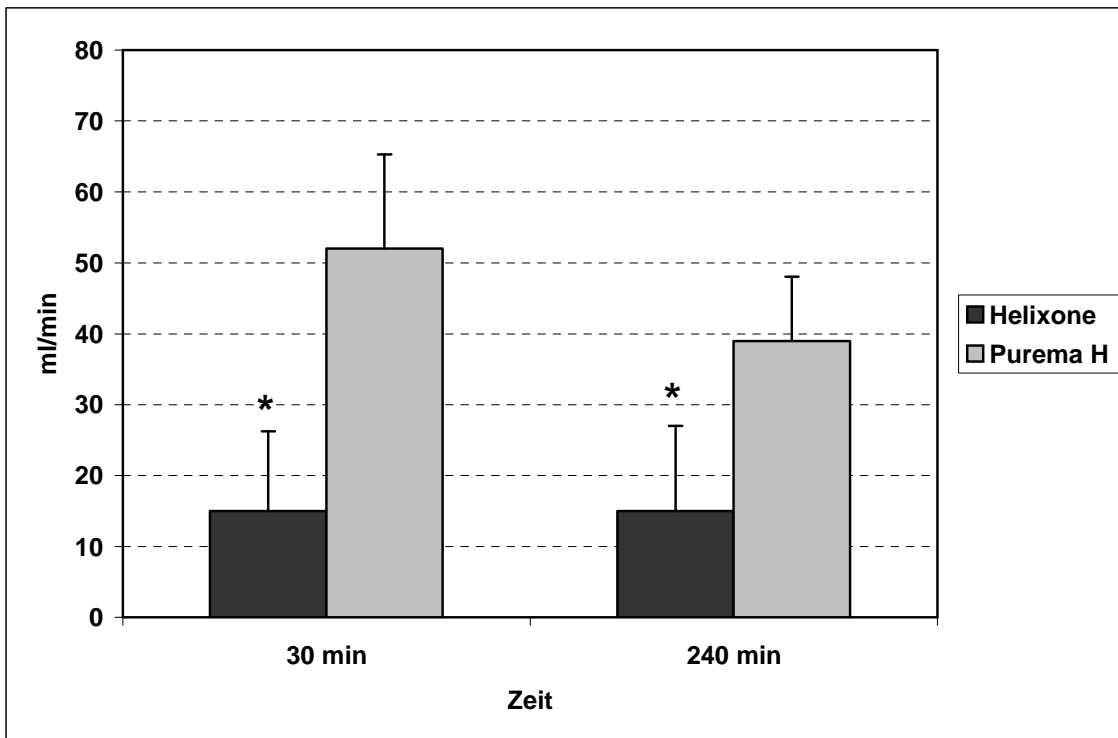


Abb. 6: Vergleich der Myoglobinvollblutclearances von Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H nach 30 und 240 min; \* p < 0,001 vs. PUREMA<sup>®</sup> H

Die Ergebnisse der Vollblutclearances des Retinol-bindenden-Proteins unterschieden sich grundsätzlich von denen der anderen kleinmolekulargewichtigen Substanzen. Zum einen wurden jeweils negative Werte ermittelt. Zum anderen fand sich kein statistischer Unterschied zwischen den beiden Dialysemembranen. Bei Helixone<sup>®</sup> betragen die Mittelwerte nach 30 und 240 min  $-22 \pm 16$  bzw.  $-7 \pm 11$  ml/min, während bei der Dialyse mit PUREMA<sup>®</sup> H  $-11 \pm 13$  bzw.  $-12 \pm 9$  ml/min gemessen wurden. Die Plasmaclearances für Retinol-bindendes-Protein von PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> betragen nach 30 min  $-6 \pm 7$  bzw.  $-13 \pm 9$  ml/min und nach 240 min  $-6 \pm 5$  bzw.  $-4 \pm 6$  ml/min.

Fasst man die Ergebnisse bezüglich der Clearances der kleinmolekulargewichtigen Proteine zusammen, bleibt festzustellen, dass

PUREMA<sup>®</sup> H durchweg zu höheren Mittelwerten führte, was nochmals in Abbildung 7 illustriert ist.

### **3.3.2. Reduktionsraten der kleinmolekulargewichtigen Proteine**

Im Rahmen der Studie wurden ebenfalls die Reduktionsraten der kleinmolekulargewichtigen Proteine ermittelt. Vergleichbar mit den Clearances konnten auch hier durchweg höhere Resultate für PUREMA<sup>®</sup> H erzielt werden (Abb. 8). So betrug die Reduktionsrate für  $\beta_2$ -Mikroglobulin nach Dialyse mit PUREMA<sup>®</sup> H  $72,3 \pm 5$  %, während mit Helixone<sup>®</sup>  $66,2 \pm 6,1$  % erreicht wurden ( $p < 0,001$ ). Für Cystatin C lagen die Mittelwerte bei  $69,5 \pm 4,6$  bzw.  $55,6 \pm 10,1$  % und für Myoglobin betragen sie  $51,7 \pm 7,3$  bzw.  $23 \pm 10,4$  % (Unterschied jeweils  $p < 0,001$ ). Trotz negativer Clearances für Retinol-bindendes Protein konnte eine geringe Entfernung dieses Proteins aus dem Plasma nachgewiesen werden. Die Reduktionsrate für Helixone<sup>®</sup> betrug hier  $2,2 \pm 20,1$  und für PUREMA<sup>®</sup> H  $8,4 \pm 27,9$  %, ohne dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Dialysemembranen vorlag (Abb. 8).

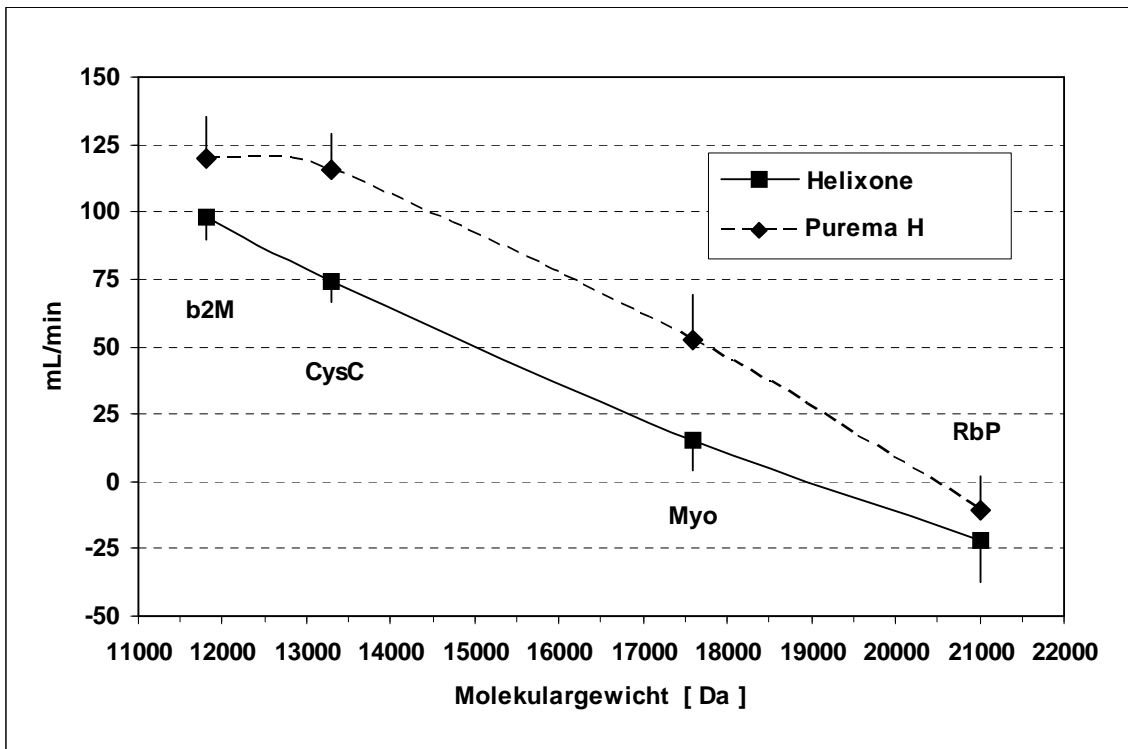


Abb. 7: Klinische Darstellung der steileren Siebkurve von PUREMA<sup>®</sup> H gegenüber Helixone<sup>®</sup> anhand des Vergleiches der Clearances der kleinemolekulargewichtigen Eiweiße in Abhängigkeit von ihrem Molekulargewicht; b2M =  $\beta_2$ -Mikroglobulin, CysC = Cystatin C, Myo = Myoglobin, RbP = Retinol-bindendes Protein

### 3.3.3. Dialysatmassentransfer

Es wurde lediglich die transmembranöse Elimination von  $\beta_2$ -Mikroglobulin und Albumin gemessen. Hinsichtlich des Dialysatmassentransfers von  $\beta_2$ -Mikroglobulin fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Membrantypen. Mit  $124 \pm 27$  und  $135 \pm 33$  mg für Helixone<sup>®</sup> bzw. PUREMA<sup>®</sup> H war die Entfernung ins Dialysat nur geringfügig unterschiedlich (Abb. 9). Jedoch führte die Dialyse mit PUREMA<sup>®</sup> H zu einem signifikant höheren Albuminverlust ( $530 \pm 170$  mg;  $p < 0,01$ ). Bei Helixone<sup>®</sup> war der Albumingehalt im Dialysat unter der Nachweisgrenze, die 220 mg betrug (Abb. 9).

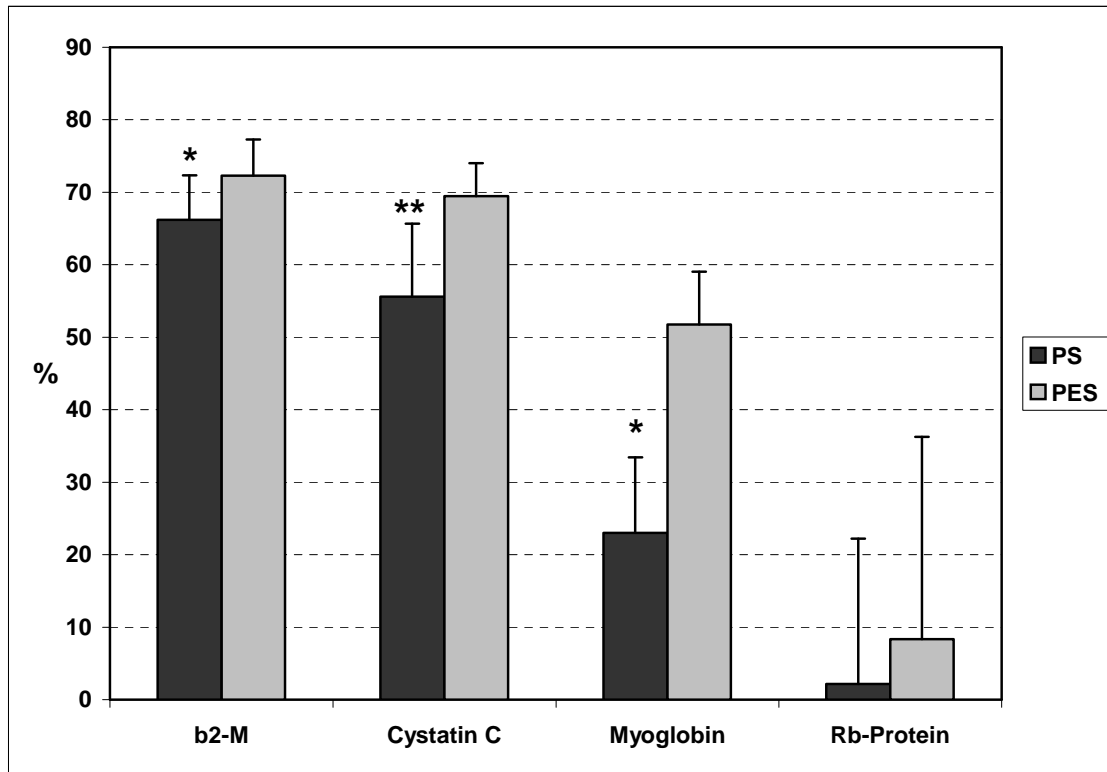


Abb. 8: Vergleich der mittelmolekularen Reduktionsraten von Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H; \* p < 0,001 vs. PUREMA<sup>®</sup> H, \*\* p < 0,01 vs. PUREMA<sup>®</sup> H

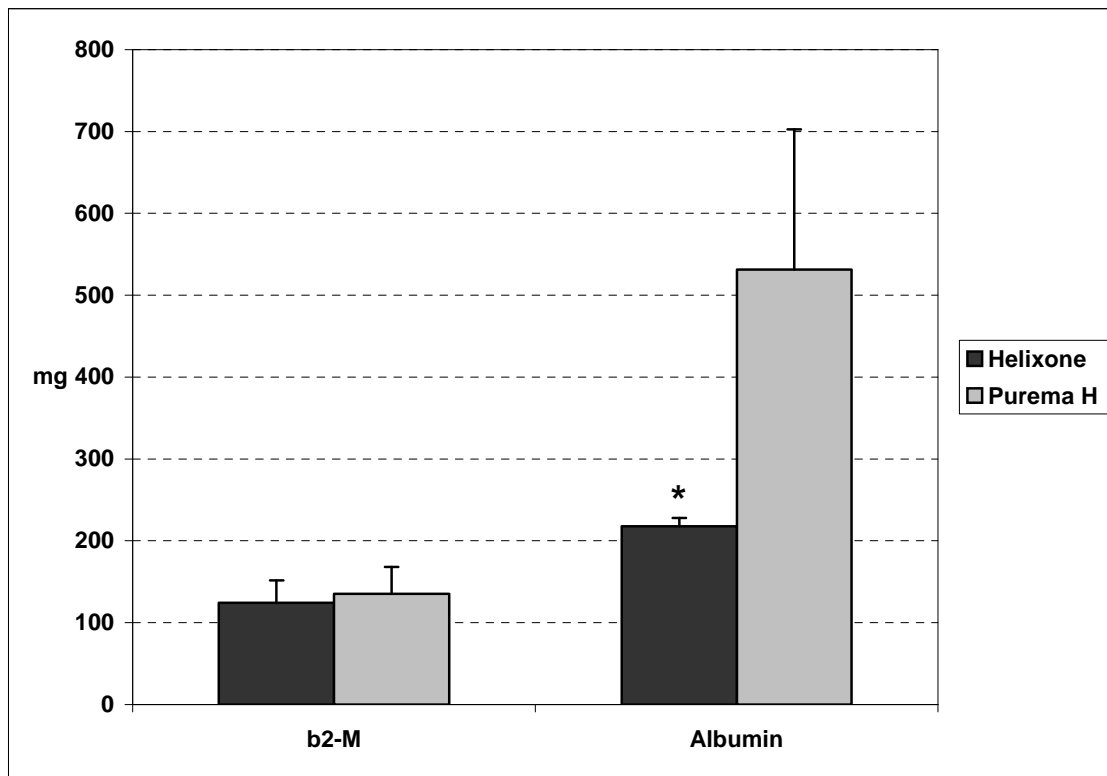


Abb. 9: Vergleich von Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H bezüglich des  $\beta_2$ -Mikroglobulinmassentransfers und des Albuminverlustes ins Dialysat; \*  $p < 0,01$  vs. PUREMA<sup>®</sup> H

### 3.4. Biokompatibilitätsmessungen

#### 3.4.1. Leukozytenverlauf

Der Verlauf der Leukozytenzahlen im Blut während der Dialyse war mit beiden Membranen gleichartig. Gegenüber dem Ausgangswert von  $6600 \pm 2300$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$  kam es bei PUREMA<sup>®</sup> H zu einem Nadir nach 5 min von  $6000 \pm 1900$  Zellen/ $\mu\text{l}$  (Abb. 10). Dieser Abfall war allerdings nicht signifikant. Im weiteren Dialyseverlauf erreichten die Leukozytenzahlen unter PUREMA H nach 30 min wieder das Ausgangsniveau ( $6700 \pm 2000$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$ ) und veränderten sich bis zum Ende der Behandlung nur noch unwesentlich. Bei der Dialyse mit Helixone trat der Nadir der Leukozytenzahlen zu einem etwas

späteren Zeitpunkt auf, und es kam zu signifikanten Veränderungen. Gegenüber dem Ausgangswert von  $7100 \pm 2500$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$  fand sich nach 5 min ein signifikanter Abfall auf  $6100 \pm 2500$  Zellen/ $\mu\text{l}$  (Abb. 10). Der niedrigste Wert von  $5700 \pm 2000$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$  wurde nach 10 min beobachtet, der verglichen mit dem Ausgangswert signifikant ( $p < 0,01$ ) unterschiedlich war. Bis zum Zeitpunkt 60 min stieg die Leukozytenzahl dann wieder auf Höhe der Ausgangswerte ( $7100 \pm 2300$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$ ).

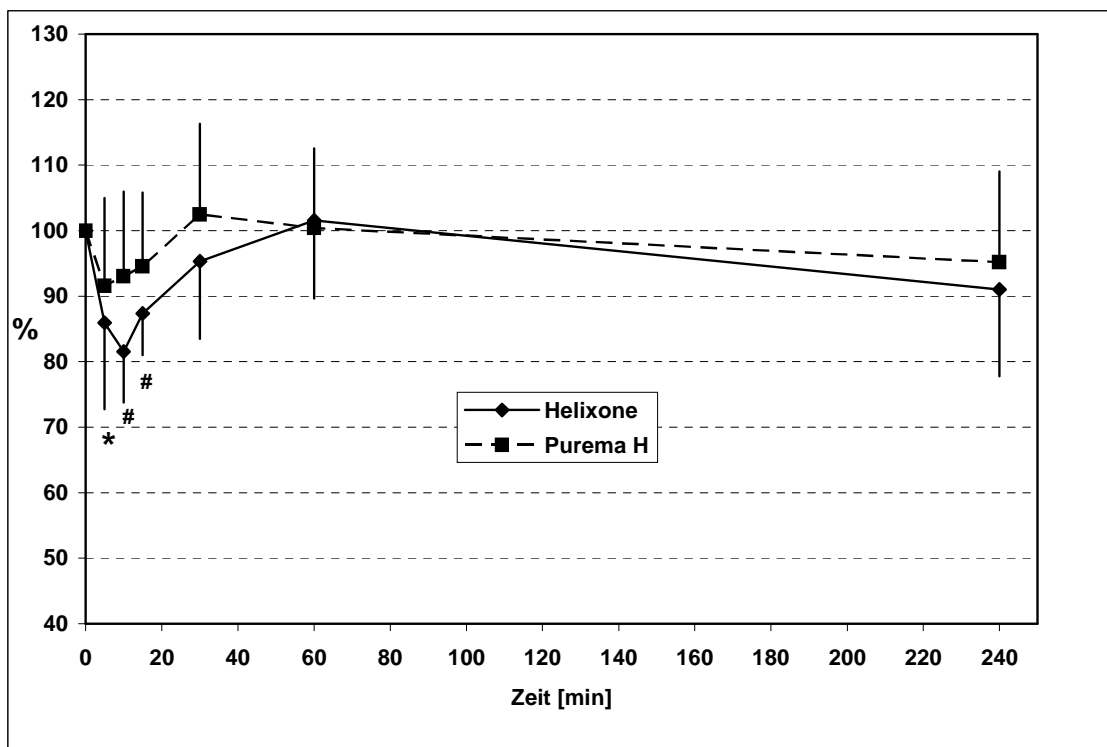


Abb. 10: Verlauf der Leukozytenwerte bezogen auf 100% während der Hämodialyse mit Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H; \*  $p < 0,05$  vs. 0 min; #  $p < 0,01$  vs. 5 min

### 3.4.2. Thrombozytenverlauf

Der Thrombozytenverlauf war mit beiden Dialysemembranen ähnlich und es traten während der gesamten Behandlung keine signifikanten Veränderungen auf (Abb. 11). Bei Helixone<sup>®</sup> kam es ausgehend von einem Wert von  $199 \pm 77 \times 10^3$  Zellen/ $\mu\text{l}$  erst nach 15 min zu einem Abfall der Thrombozytenzahl auf  $190 \pm 69 \times 10^3$  Zellen/ $\mu\text{l}$ , um im weiteren Verlauf der Dialyse bis zum Ende wieder



den Ausgangswert zu erreichen. Bei PUREMA<sup>®</sup> H trat nach 5 min ein Abfall der Plättchenzahl von  $214 \pm 90$  auf  $193 \pm 68 \times 10^3$  Zellen/ $\mu$ l auf. Nach 10 min fanden sich dann bereits wieder Werte von  $203 \pm 73 \times 10^3$  Zellen/ $\mu$ l. Während der weiteren Behandlung kam es dann nicht mehr zu größeren Schwankungen bei den Thrombozyten (Abb. 11).

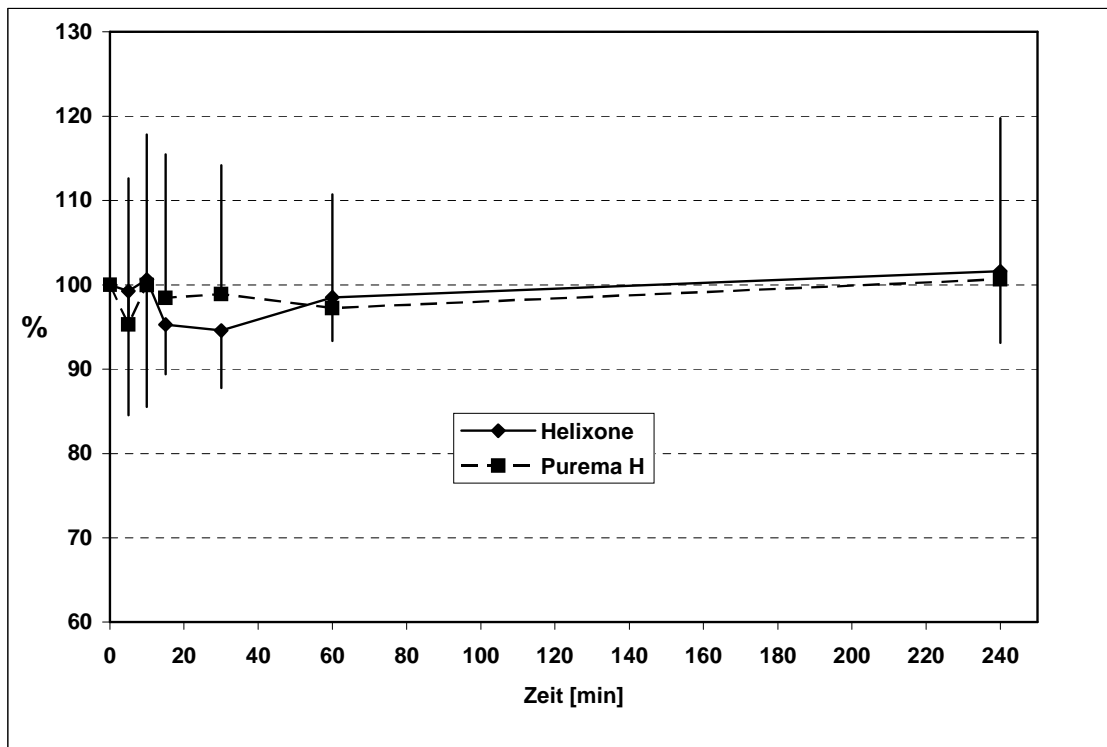


Abb. 11: Verlauf der Thrombozytenwerte bezogen auf 100% während der Hämodialyse mit Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H

### 3.4.3. Komplementaktivierung

Die Kinetik der Komplementfaktor C5a-Freisetzung war zwar mit beiden Membranen gleich, fand jedoch auf einem sich unterscheidenden Niveau statt (Abb. 12). So wurde das Maximum der C5a-Generierung bei Helixone<sup>®</sup> bereits nach 5 min beobachtet und betrug  $2,9 \pm 2,3$  mg/l bei einem Ausgangswert von  $0,4 \pm 0,5$  mg/l. Dieser Anstieg war signifikant. Nach einem relativ schnellen Abfall der Konzentration innerhalb der folgenden 10 min kam es anschließend zu einer langsameren Reduktion der Werte, ohne dass das Ausgangsniveau

wieder erreicht wurde. Ausgehend von  $0,4 \pm 0,2$  mg/l war der C5a-Zenith bei PUREMA® H erst nach 10 min nachweisbar und betrug  $1,2 \pm 1,2$  mg/l. Das Maximum war signifikant niedriger als das bei Helixone®. Signifikante Veränderungen gegenüber dem 0-Minutenwert fanden sich bei PUREMA® H erst nach 30 min, zu einem Zeitpunkt, an dem die Konzentration bereits wieder auf einen Wert von  $0,8 \pm 0,5$  mg/l abgefallen war. Auch hier wurde im Weiteren nicht mehr das Ausgangsniveau erreicht (Abb. 12).

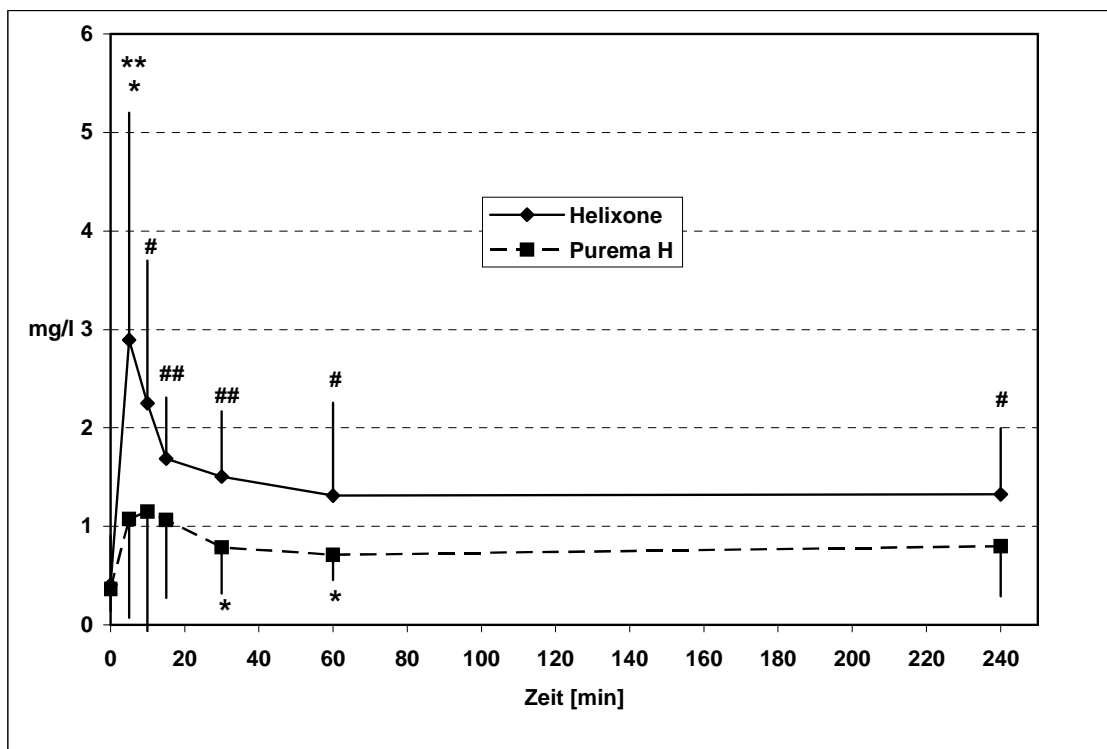


Abb. 12: Verlauf der Komplementfaktor C5a-Generierung während der Hämodialyse mit Helixone® und PUREMA® H; \*  $p < 0,05$  vs. 0 min, \*\*  $p < 0,05$  vs. PUREMA® H, #  $p < 0,01$  vs. 0 min, ##  $p < 0,001$  vs. 0 min

#### 3.4.4. Thrombin-Antithrombin-III-Komplexbildung

Die Thrombin-Antithrombin-III-Komplexbildung war mit Helixone® und PUREMA® H nahezu identisch (Abb. 13). Erst nach 240 min kam es zu einem nicht signifikanten Anstieg der Mittelwerte, die noch bei 60 min keine Veränderung gegenüber dem Ausgangswert gezeigt hatten. Im Einzelnen

betrug die Thrombin-Antithrombin-III-Konzentration bei Helixone<sup>®</sup> nach 240 min  $6,6 \pm 6,3$  mg/l bei einem Ausgangswert von  $2,3 \pm 0,4$  mg/l. Für PUREMA<sup>®</sup> H betrug die Konzentrationen  $6 \pm 7,8$  bzw.  $2,1 \pm 0,3$  mg/l. Signifikante Unterschiede fanden sich weder im Verlauf der Dialysebehandlungen, noch zwischen den Membranen (Abb. 13).

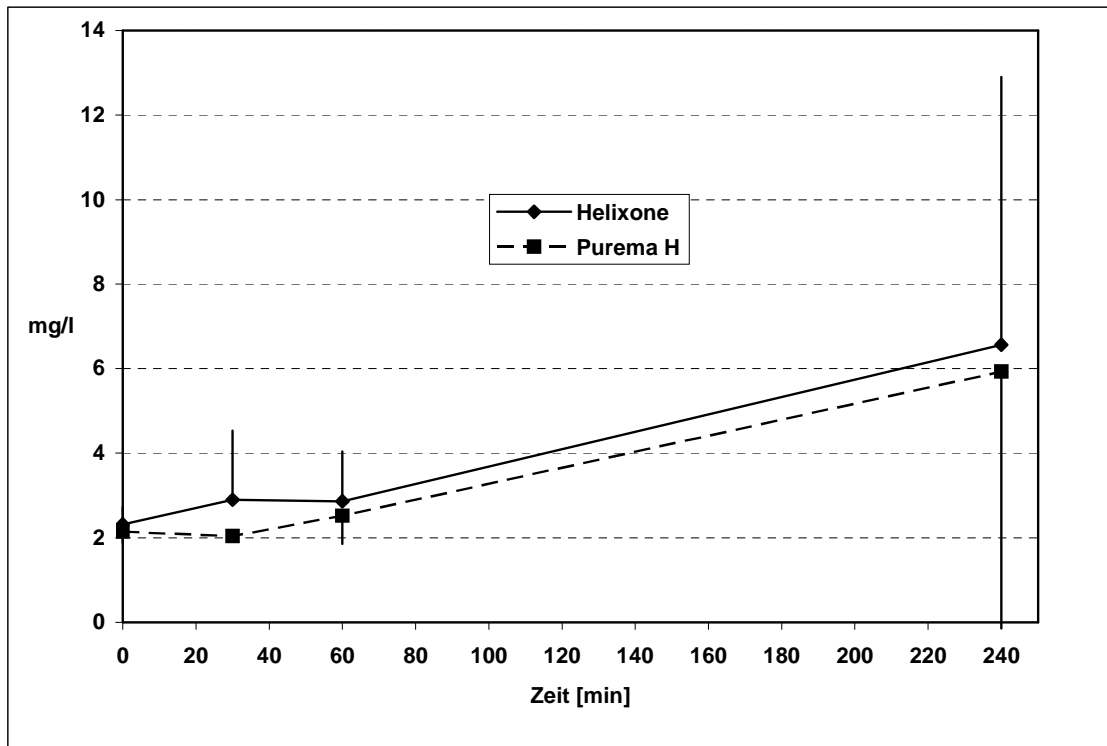


Abb. 13: Thrombin-Antithrombin-III-Komplexbildung im Verlauf der Hämodialyse mit Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H

### 3.4.5. Parameter des oxidativen Stresses

#### 3.4.5.1. Elastasebildung

Bezüglich der Elastasefreisetzung kam es über die gesamte Dialysezeit zu einem kontinuierlichen Anstieg der Mittelwerte, der während der ersten 15 min besonders steil verlief (Abb. 14). Bei Helixone<sup>®</sup> fand sich 15 min nach Dialysebeginn ein signifikant höherer Wert von  $66,7 \pm 23,8$  µg/l bezogen auf den Ausgangswert von  $52,2 \pm 23,2$  µg/l. Das Maximum nach 240 min betrug  $107,8 \pm 48,3$  µg/l. Die erste signifikante Veränderung gegenüber dem

Ausgangswert ( $42,8 \pm 25,2 \mu\text{g/l}$ ) wurde bei PUREMA<sup>®</sup> H bereits nach 10 min gemessen ( $56,1 \pm 23,6 \mu\text{g/l}$ ). Nach 240 min lag der Wert mit  $93,3 \pm 25,7 \mu\text{g/l}$  deutlich unter dem von Helixone<sup>®</sup> zum selben Zeitpunkt. Signifikante Veränderungen konnten zwischen den Membranen nicht identifiziert werden (Abb. 14).

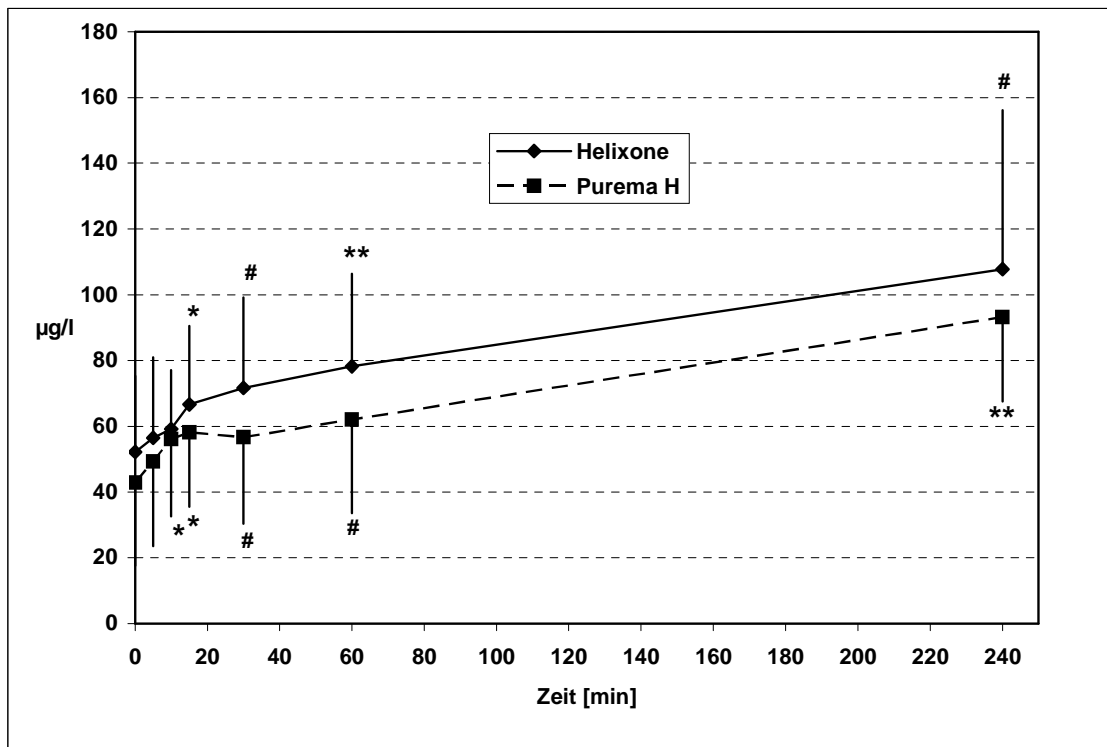


Abb. 14: Elastasefreisetzung während der Hämodialyse mit Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H; \*  $p < 0,05$  vs. 0 min, #  $p < 0,01$  vs. 0 min; \*\*  $p < 0,001$  vs. 0 min

### 3.4.5.2. Myeloperoxidasebildung

Bereits zwischen den Myeloperoxidaseausgangswerten von Helixone<sup>®</sup> ( $54,7 \pm 20,3 \mu\text{g/l}$ ) und PUREMA<sup>®</sup> H ( $90,5 \pm 30 \mu\text{g/l}$ ) fand sich ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ), der ca. 65 % betrug (Abb. 15). Zum besseren Vergleich der Myeloperoxidasekinetik bietet sich daher die relativ auf den Ausgangswert bezogene Darstellung an (Abb. 16). Nach abruptem, signifikantem Ansteigen der Werte innerhalb von 5 min nach Dialysebeginn, stellte sich nach 10 min ein Plateau ein, das bis zum Zeitpunkt 60 min nur geringe Veränderungen aufwies.

Das Maximum bei PUREMA<sup>®</sup> H fand sich nach 10 min und lag  $498 \pm 260$  % über dem Ausgangswert. Bei Helixone<sup>®</sup> betrug der höchste Wert  $577 \pm 244$  % und wurde ebenfalls nach 10 min beobachtet. Auch nach 240 min waren die Myeloperoxidasekonzentrationen bei Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H mit  $430 \pm 246$  bzw.  $295 \pm 138$  % signifikant höher als zu Beginn der Dialysebehandlung.

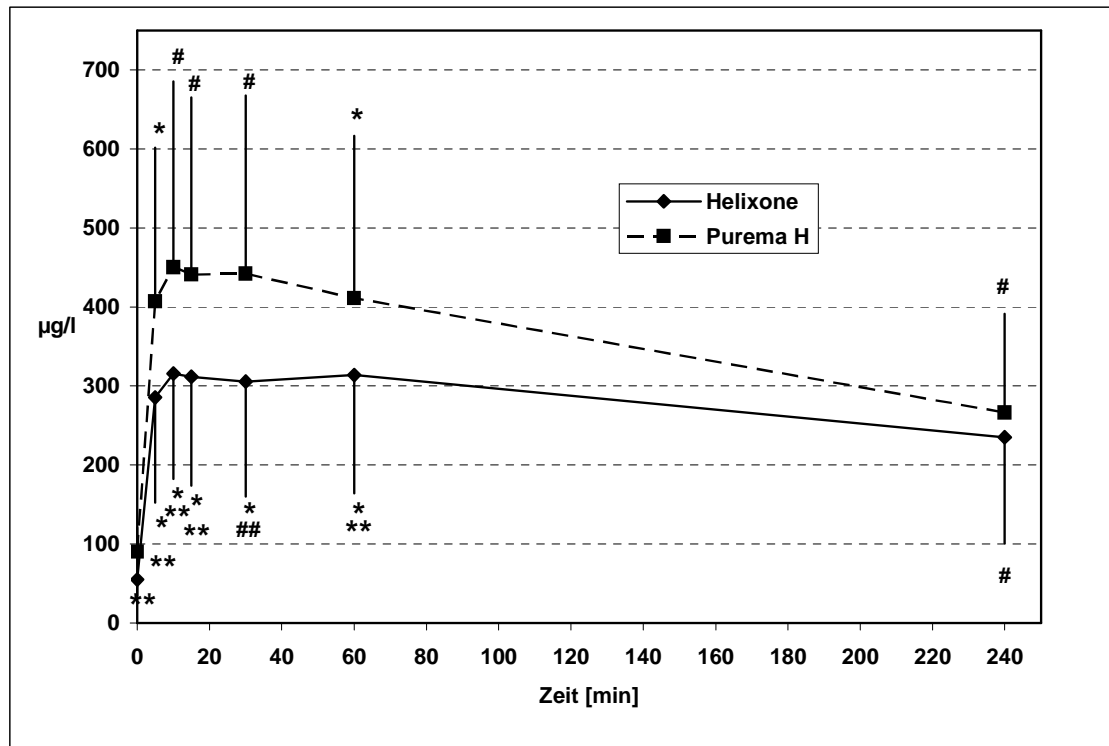


Abb. 15: Myeloperoxidasefreisetzung während der Hämodialyse mit Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H; \*  $p < 0,001$  vs. 0 min, #  $p < 0,01$  vs. 0 min, \*\*  $p < 0,05$  vs. PUREMA<sup>®</sup>, ##  $p < 0,01$  vs. Helixone<sup>®</sup>

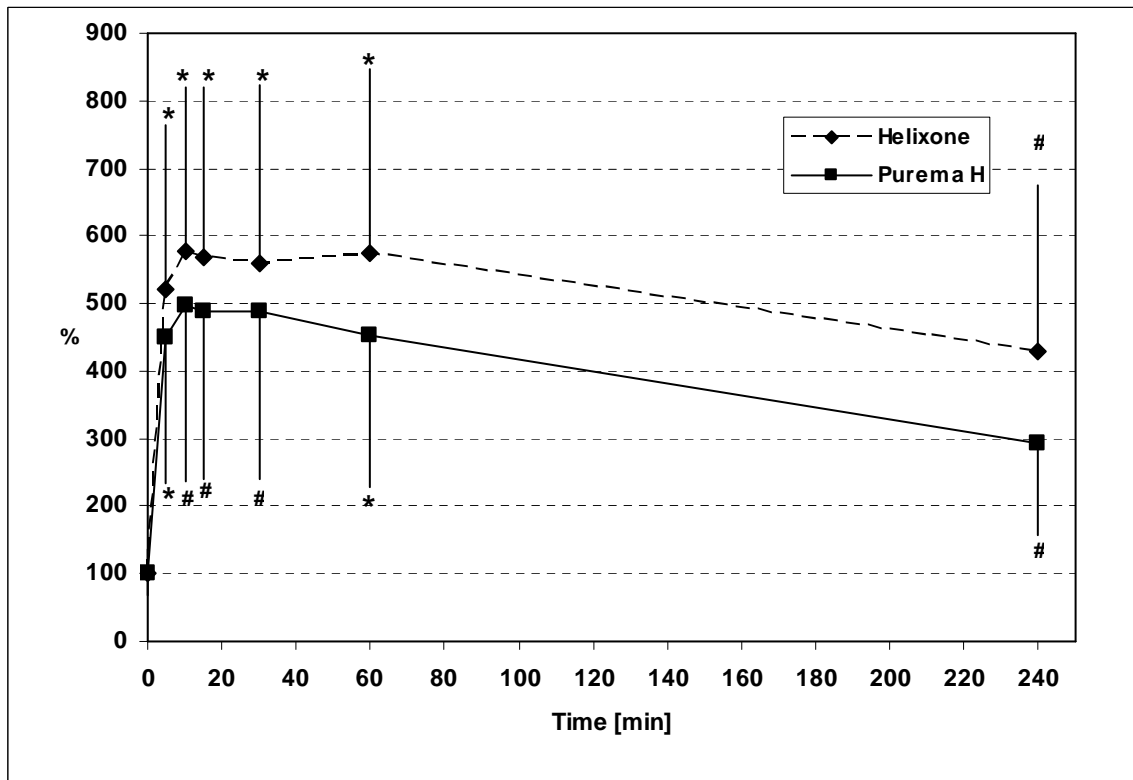


Abb. 16: Relative Myeloperoxidasefreisetzung bezogen auf den Ausgangswert (100 %) während der Hämodialyse mit Helixone<sup>®</sup> und PUREMA<sup>®</sup> H; \* p < 0,001 und # p < 0,01 vs. 0 min.

#### 4. Diskussion

Seit Beginn der 90er Jahre hat die Diskussion um die Biokompatibilität von Dialysemembranen dazu geführt, dass eine Vielzahl von synthetischen und damit verträglicheren Dialysatoren die zellulosischen Filter, die mehreren retrospektiven Analysen zufolge mit einem höheren Mortalitätsrisiko behaftet sind (Hakim et al. 1996), zunehmend verdrängt haben. Dennoch ist die Morbidität und Mortalität von chronischen Dialysepatienten im Vergleich zur Normalbevölkerung auch weiterhin deutlich erhöht. So ist das Mortalitätsrisiko dieser Patientengruppe bezogen allein auf kardiovaskuläre Erkrankungen ca. 3,5- bis 20-fach höher (Greaves et al. 1992, Boaz et al. 2000). Einer der Faktoren, die als Ursache für diese erhöhte Sterberate angesehen werden, ist die weiterhin inadäquate Nierenersatztherapie. Eine Möglichkeit, diese zu verbessern, ist die Entwicklung noch leistungsfähigerer und verträglicherer Dialysemembranen, die als „künstliche Niere“ das wesentlichste Element jeder extrakorporalen Nierenersatztherapie darstellen.

PUREMA<sup>®</sup> H ist eine neu entwickelte synthetische High-flux-Dialysemembran aus Polyethersulfon und Polyvinylpyrrolidon. Im Gegensatz zu herkömmlichen Kapillardialysemembranen wurde die innere Oberfläche von PUREMA<sup>®</sup> H mit einem Polyelektrolytadditiv behandelt. Diesem negativ geladenen Additiv wird eine Neuausrichtung der polaren Polyvinylpyrrolidon-Moleküle in der Membran zugeschrieben, was ein höheres Z-Potential der Membranoberfläche zur Folge hat. Dadurch kommt es zu einer Optimierung der Porenmorphologie und -verteilung, was seinerseits zu einer Verbesserung der Filtereigenschaften führen soll (Krieter et al. 2007). Ob diese Modifikation sich tatsächlich auch auf eine bessere Performance in der klinischen Situation übertragen lässt, war die Fragestellung der vorliegenden Studie, in der PUREMA<sup>®</sup> H erstmals am Menschen getestet wurde.

Dazu wurde eine prospektive, randomisierte „Cross-over“-Studie an acht terminal niereninsuffizienten Patienten durchgeführt. Als Kontrolle diente eine

seitens der Oberflächengröße vergleichbare Helixone<sup>®</sup>-Dialysemembran, eine Polysulfon-Polyvinylpyrrolidonmembran, bei der nanotechnologische Herstellungsmethoden zur Anwendung kommen und die als besonders leistungsstark und biokompatibel (Bowry und Ronco 2001, Ronco und Bowry 2001, Ronco et al. 2002) gilt. Test- und Kontrollmembran wurden bei standardisierten Behandlungseinstellungen (Blut- und Dialysatfluss, Versuchsdauer, Antikoagulation) im Hämodialysemodus verglichen. Zu definierten Zeitpunkten wurden Blutabnahmen zur Bestimmung der klinischen Performance über ein breites Molekulargewichtsspektrum vorgenommen. Im Einzelnen waren dies die Clearances der kleinmolekularen Substanzen Harnstoff, Kreatinin und Phosphat, sowie der größermolekularen Eiweiße  $\beta_2$ -Mikroglobulin, Cystatin C, Myoglobin und Retinol-bindendes Protein. Für letztere wurden darüber hinaus auch die Reduktionsraten gemessen. Ferner wurde der Albuminverlust und die Entfernung von  $\beta_2$ -Mikroglobulin ins Dialysat bestimmt. Die Biokompatibilität wurde anhand des Verlaufs der Leukozytenwerte und Komplementfaktor C5a-Konzentration, die als klassische Parameter der Biokompatibilität gelten (Cheung 1994, Cheung und Lemke 1994, Johnson 1994), gemessen. Als Maß der Zellaktivierung wurden neben dem Leukozytenabfall der Thrombozytenverlauf und die Elastasebildung bestimmt. Schließlich wurden die Effekte der Membranen auf die Thrombin-Antithrombin-III-Komplexgenerierung als Maß der Gerinnungsaktivierung ebenso wie ihr Einfluss auf den oxidativen Stress anhand von Myeloperoxidasebildung während der Hämodialyse untersucht.

#### **4.1 Bewertung der Performanceparameter**

Die Bestimmung der Leistungsfähigkeit einer Dialysemembran stellt sich in der klinischen Situation sehr komplex dar. Hier kommen im Gegensatz zur In-vitro-Untersuchung, die vor allem Clearances und Siebkoeffizienten zumeist auf Basis von wässrigen Lösungen misst, u. a. Verteilungsphänomene im Organismus auf Grund des Vorliegens verschiedener Kompartimente sowie individuelle Unterschiede in der Zusammensetzung von zellulären und gelösten



Substanzen, wie Eiweißen, zur Geltung. Während für die kleinmolekulare Substanz Harnstoff, der das Markerprotein zur Messung der Dialyseeffizienz in Form von Harnstoffreduktionsrate oder Kt/V darstellt (European Best Practice Guidelines Expert Group on Haemodialysis 2002 a), relativ einfache Bezüge zwischen Dialysatorleistung und Entfernung aus dem Körper bestehen, ist dies für größere Moleküle, hier gilt das Mittelmolekül  $\beta_2$ -Mikroglobulin als Referenzprotein (European Best Practice Guidelines Expert Group on Haemodialysis 2002 b), wesentlich komplizierter. So scheinen weder ein Ein- noch ein Zwei-Kompartiment-Modell geeignet, um die interkompartimentelle Verteilung von  $\beta_2$ -Mikroglobulin hinreichend zu charakterisieren (Yamada et al. 2001, Stiller et al. 2002). Für diese Substanz und stellvertretend für die Entfernung von Mittelmolekülen werden die Messung der Reduktionsrate, der mittleren Clearance und des Massentransfers ins Dialysat als Maß der Dialyseeffizienz seitens der Europäischen Richtlinien empfohlen (European Best Practice Guidelines Expert Group on Haemodialysis 2002 b). Dennoch handelt es sich auch hier lediglich um eine Annäherung an die tatsächliche Entfernung, da sowohl die Reduktionsrate als auch die mittlere Clearance die Behandlungseffizienz überschätzen, auch wenn die in die Berechnung eingehende Konzentration im Plasma am Ende der Dialyse hinsichtlich der Volumenkontraktion normalisiert wird (Leypoldt 2000). Der Massentransfer ins Dialysat unterliegt anderen Fehlerquellen. Hier haben die Eiweißadsorption an die Dialysemembran, die  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Plasmawerte vor Therapiebeginn und die  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Bestimmungsmethode großen Einfluss auf die Messergebnisse (Krieter et al. 2005 b). Während die genannten Parameter sich auf die Performance der Gesamtbehandlung beziehen, stellt die Dialysatorclearance, die lediglich die Leistungsfähigkeit des Filters zu einem definierten Zeitpunkt beschreibt, eine relativ zuverlässige Messgröße dar. Für Vergleiche und Reproduzierbarkeit sind die exakte Einhaltung der Abnahmebedingungen Voraussetzung (Krieter et al. 2005 b).

In der vorliegenden Studie wies die neue Dialysemembran PUREMA<sup>®</sup> H (1,7 m<sup>2</sup>) verglichen mit der oberflächengrößenähnlichen Kontrollmembran Helixone<sup>®</sup>

(1,8 m<sup>2</sup>) nahezu identisch hohe kleinmolekulare Vollblut- und Plasma-Clearances auf. Bei einem eingestellten Blut- und Dialysatfluß von 300 bzw. 500 ml/min wurden Harnstoff-Plasmaclearances von 225 ± 8 bzw. 226 ± 5 ml/min nach 30 min und von 217 ± 6 bzw. 217 ± 5 ml/min nach 240 min erzielt. Obwohl der Clearanceabfall am Ende der Dialyse im Mittel nahezu identisch war, war er lediglich für Helixone<sup>®</sup> statistisch signifikant, was sich aber am ehesten durch die etwas größere Streuung der Werte bei PUREMA<sup>®</sup> H erklären lässt. Die Kreatinin-Plasmaclearances, die auf Grund einer im Vergleich zu Harnstoff langsameren Diffusion von Kreatinin aus der Blutzelle ins Plasma (Henderson et al. 1996) erwartungsgemäß insgesamt niedriger ausfielen (Helixone<sup>®</sup> 209 ± 7 vs. PUREMA<sup>®</sup> H 209 ± 8 ml/min nach 30 min; 197 ± 8 vs. 197 ± 7 ml/min nach 240 min), verhielten sich ähnlich, jedoch war der Abfall nach 240 min bei beiden Membranen signifikant. Die Phosphat-Plasmaclearances bei 30 und 240 min entsprachen im Wesentlichen den Kreatinin-Plasmaclearances, lagen allerdings noch etwas niedriger (Helixone<sup>®</sup> 197 ± 4 bzw. 190 ± 5 ml/min; PUREMA<sup>®</sup> H 195 ± 7 bzw. 189 ± 6 ml/min). Dieser Unterschied lässt sich mit dem von Harnstoff und Kreatinin abweichenden interkompartimentellen Verteilungsverhalten des Phosphats erklären (Spalding et al. 2002).

Die von uns gemessenen kleinmolekularen In-vivo-Clearances befinden sich gegenüber den Angaben in der Literatur in einem sehr hohen Bereich. Allerdings ist die Vergleichbarkeit zwischen den Studien durchweg sehr schwierig, da große Unterschiede in der Methodik – hier sind sowohl die eingestellten Dialyseparameter wie insbesondere der Blutfluss als auch die Berechnung der Clearance selbst stark unterschiedlich – vorliegen. Entsprechend finden sich nur zwei Studien, bei der die gleichen Dialyseparameter und eine vergleichbare Größe der Dialysatoroberfläche verwendet wurden (Murthy et al. 1998, Lornoy et al. 2000). Verglichen mit den Studien von Murthy et al. (1998) und Lornoy et al. (2000), in denen konventionelles High-Flux-Polysulfon der gleichen Oberflächengröße (1,8 m<sup>2</sup>) bei identischen Blut- und Dialysatflußraten untersucht wurde, lagen die 30 min-

Harnstoff-Vollblut-Clearances von PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> um ca. 6 bzw. 11% höher (256 bzw. 255 ml/min vs. 241 ml/min). Die bei Lornoy et al. (2000) gemessene Kreatinin-Vollblutclearance lag bezogen auf die 30-min-Messung um 19%, die Phosphat-Vollblutclearance um 15% niedriger. Gegenüber den 30-min-Werten kam es in der vorliegenden Studie bei den gegen Ende der Dialyse gemessenen Clearances der kleinmolekularen Substanzen sowohl bei PUREMA<sup>®</sup> H als auch bei Helixone<sup>®</sup> zu einem signifikanten Abfall um 4% bei Harnstoff, 6% bei Kreatinin und 3,5% bei Phosphat, bezogen auf die Plasmaclearances.

Im Gegensatz zu den vergleichbaren Werten bei den Clearances der kleinmolekularen Substanzen führte die Hämodialyse mit PUREMA<sup>®</sup> H gegenüber Helixone<sup>®</sup> zu signifikant höheren Ergebnissen bei allen kleinmolekulargewichtigen Proteinen. Mit zunehmendem Molekulargewicht der gemessenen Substanz vergrößerte sich dieser Unterschied zu Gunsten von PUREMA<sup>®</sup> H. So betrug die 30-min- $\beta_2$ -Mikroglobulin-Plasmaclearance  $69 \pm 8$  ml/min gegenüber  $58 \pm 3$  ml/min bei Helixone<sup>®</sup>. Bei Cystatin C, das mit 13,4 kDa ein etwas höheres Molekulargewicht als  $\beta_2$ -Mikroglobulin mit 11,8 kDa aufweist, lagen die 30-min-Clearances bei  $67 \pm 6$  ml/min bzw.  $44 \pm 3$  ml/min und beim abermals größeren Myoglobin, Molekulargewicht 16,8 kDa, bei  $30 \pm 9$  bzw.  $9 \pm 7$  ml/min. Gleichartig verhielt es sich mit den 240-min-Plasma-Clearances. Während bei der  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Vollblut-Clearance von PUREMA<sup>®</sup> H im Gegensatz zu der von Helixone<sup>®</sup> bezogen auf die 30-min-Clearance kein Abfall zu verzeichnen war, relativierte sich diese erstaunliche Konstanz der Clearancemessung nach Korrektur auf die Plasma-Clearancewerte ( $63 \pm 5$  bzw.  $50 \pm 3$  ml/min). Unter Berücksichtigung des Flüssigkeitsverlustes durch Ultrafiltration fand sich dann ebenfalls ein Abfall der 240 min- $\beta_2$ -Mikroglobulin-Clearance, wenn auch nicht so ausgeprägt wie bei Helixone<sup>®</sup> (Abfall um  $-8,7$  gegenüber  $-16,0$  %). Für Cystatin C (PUREMA<sup>®</sup> H vs. Helixone<sup>®</sup>  $57 \pm 3$  bzw.  $36 \pm 5$  ml/min) wie auch für Myoglobin (PUREMA<sup>®</sup> H vs. Helixone<sup>®</sup>  $21 \pm 5$  bzw.  $8 \pm 6$  ml/min) wurden gegenüber 30 min mit beiden

Membranen nach 240 min niedrigere Werte sowohl im Vollblut als auch im Plasma ermittelt.

Lornoy et al. (2000) ermittelten unter identischen Blut- und etwas höheren Dialysatflüssen (300 bzw. 600 ml/min) mit einem bezüglich der Oberflächengröße vergleichbaren High-Flux-Polysulfondialysator (1,8 m<sup>2</sup>) deutlich niedrigere  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Vollblutclearances. So betrug diese unter Hämodialysebedingungen nur ca. 64 ml/min und lag damit gegenüber den von uns nach 30 min ermittelten Werten für PUREMA<sup>®</sup> H um etwa 47% und für Helixone<sup>®</sup>, eine bezüglich der kleinmolekulargewichtigen Proteinentfernung verbesserte Weiterentwicklung der von Lornoy et al. (2000) verwendeten Dialysemembran (Ronco et al. 2000), um ca. 14% niedriger. Erst unter Hämodiafiltrationsbedingungen mit einer postdilutionellen Infusion von 100 ml/min wurde eine der PUREMA<sup>®</sup> H-Membran vergleichbare  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Vollblutclearance von ca. 117 ml/min erreicht (Lornoy et al. 2000). Studien, in denen ebenfalls Clearances von kleinmolekulargewichtigen Proteinen größer als  $\beta_2$ -Mikroglobulin unter vergleichbaren Behandlungsbedingungen gemessen wurden, liegen nicht vor und können somit zur Interpretation der vorliegenden Ergebnisse nicht herangezogen werden.

Für den Clearanceabfall über die Dialysezeit, wie er sowohl für die kleinmolekularen Substanzen als auch für die größeren kleinmolekulargewichtigen Eiweiße beobachtet wurde, lassen sich zwei mögliche Ursachen vermuten. Zum einen ist dies die stetige Reduktion der Plasmakonzentrationen vor dem Dialysator mit zunehmender Dialysedauer auf Grund der Elimination der gemessenen Substanzen. Hierdurch kommt es zu einem Abnehmen des Diffusionsgradienten und damit zu einem Nachlassen der treibenden Kraft bei der Entfernung kleinmolekularer Substanzen mittels Dialyse (Sargent und Gotch 1996). Folgerichtig fanden sich zumeist niedrigere Harnstoff-, Kreatinin- und Phosphatclearances nach 240 min. Andererseits lagern sich im Laufe der Dialysebehandlung Eiweiße und zelluläre Bestandteile an die Membranoberfläche an („fouling“). Dies führt zur Bildung der sog.

Sekundärmembran, die die transmembranöse Passage höhermolekularer Stoffe, deren Elimination vor allem durch Konvektion herbeigeführt wird (Henderson 1996), behindern kann (Clark und Gao 2002). Besonders betroffen von diesem Phänomen sind Moleküle, deren Größe sich nah an der Trenngrenze der Membran befindet, so dass eine weitere Verringerung der Permeabilität durch die Sekundärmembran ihre Passage bzw. Clearance zunehmend einschränkt. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen diese Theorie. Generell nahm mit steigender Größe der hier gemessenen kleinemolekulargewichtigen Moleküle ( $\beta_2$ -Mikroglobulin < Cystatin C < Myoglobin) die Clearance zwischen der 30. und 240. Minute stärker ab.

Die Clearances für Retinol-bindendes Protein, das mit 21,2 kDa größte in dieser Studie gemessene kleinemolekulargewichtige Eiweiß, verhielten sich grundsätzlich anders. Mit beiden Dialysemembranen wurden ausschließlich negative Werte im Vollblut (Helixone<sup>®</sup> 30 / 240 min  $-22 \pm 16$  /  $-7 \pm 11$  ml/min; PUREMA<sup>®</sup> H  $-11 \pm 13$  /  $-12 \pm 9$  ml/min) und Plasma (Helixone<sup>®</sup> 30 / 240 min  $-13 \pm 9$  /  $-4 \pm 6$  ml/min; PUREMA<sup>®</sup> H  $-6 \pm 7$  /  $-6 \pm 5$  ml/min) ermittelt, wobei mit der verwendeten Meßmethode für Retinol-bindendes Protein spezifisch die freie Form dieses Moleküls, das im Plasma niereninsuffizienter Patienten zu etwa 50% an Transthyretin gebunden vorliegt und dann über ein für Dialysemembranen impermeables Molekulargewicht verfügt (Jaconi et al. 1996), bestimmt wurde. Offensichtlich liegt die Trenngrenze („Cut-off“) beider Membranen zwischen Myoglobin, bei dem noch positive Clearances erzielt wurden, und Retinol-bindendem Protein. Obwohl bei der Berechnung der Plasma-Clearances die Ultrafiltration von Plasmawasser, die zum Erreichen der notwendigen Gewichtsreduktion (Volumenkontraktion) bei den Patienten im Rahmen der Dialyse eingestellt wurde, berücksichtigt wurde, fanden sich negative Mittelwerte. Diese Beobachtung ist nur schwer zu erklären. Möglicherweise korrigiert die verwendete Clearanceformel (Henderson 1996) die Volumenkontraktion nicht ausreichend, so dass leicht überhöht bestimmte Plasmakonzentrationen nach Passage des Dialysators vorlagen. Diese Erklärung ist allerdings rein spekulativ.

Die im Rahmen dieser Studie gemessenen Vollblut- und Plasma-Clearances stellen die Eliminationsleistung des jeweiligen Dialysators für die jeweiligen Substanzen zu einem definierten Zeitpunkt während der Behandlung dar (Krieter et al. 2005 b). Im Gegensatz dazu steht die Reduktionsrate für die Entfernung dieser Substanzen aus dem Organismus über den gesamten Dialyseverlauf. Problematisch ist hierbei, dass, obwohl die Vollblut-Clearance für zwei verschiedene Substanzen identisch sein kann, völlig unterschiedliche Reduktionsraten resultieren können. Dies hat seinen Grund in den erheblichen Unterschieden in der interkompartimentellen Verteilung der Vielzahl der gelösten Stoffe. Als Beispiel seien hier die nahezu gleich großen kleinmolekularen Substanzen Harnstoff und Phosphat genannt, für die in der vorliegenden Studie ähnlich hohe Clearances gemessen wurden. Während für Harnstoff auf Grund seiner sehr raschen Äquilibrierung zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit häufig und hinreichend präzise von einem Ein-Kompartimentmodell ausgegangen wird, ist für Phosphat ein kompliziertes Vier-Kompartimentmodell beschrieben worden (Spalding et al. 2002). Für Harnstoff bedeutet dies, dass die gemessene Reduktionsrate mit der Dialysedauer relativ eng korreliert und als Maß der Dialyseudosis etabliert ist (Bankhead et al. 1995). Die Phosphatreduktionsrate stellt hingegen eine völlig unzulängliche Messgröße der Phosphatelimination dar, da jeder Patient über einen individuell unterschiedlichen, kritisch niedrigen Phosphatserumspiegel verfügt, der trotz nachweisbar fortgesetzter Elimination von Phosphat ins Dialysat niemals unterschritten und bereits nach ca. 90 min Dialysedauer erreicht wird. Hieraus folgt, dass die Reduktionsrate von Phosphat für den individuellen Patienten trotz unterschiedlich effektiver Dialyse immer nahezu gleichbleibend ist und lediglich von der Konzentration vor Therapiebeginn abhängt (Spalding et al. 2002, Vaithilingam et al. 2004). Als Konsequenz wurde in der vorliegenden Studie auf die Bestimmung der Reduktionsraten der kleinmolekularen Substanzen zur Charakterisierung der untersuchten Dialysemembran verzichtet.

Für die kleinmolekulargewichtigen Eiweiße existieren nur wenige Untersuchungen bezüglich ihrer Verteilung im Körper. Wie bereits oben erwähnt, wird die Bestimmung der Plasmareduktionsrate von  $\beta_2$ -Mikroglobulin als Messgröße der Mittelmolekülf Entfernung empfohlen (European Best Practice Guidelines Expert Group on Haemodialysis 2002 b). Die mit PUREMA<sup>®</sup> H in dieser Studie erzielten, im Vergleich zu Helixone<sup>®</sup> höheren Clearances für kleinmolekulargewichtige Eiweiße wurden auch entsprechend von den für diese Substanzen gemessenen Reduktionsraten reflektiert. So fand sich ein signifikant höherer Wert von  $72,3 \pm 5$  % für PUREMA<sup>®</sup> H gegenüber  $66,2 \pm 6,1$  % für Helixone<sup>®</sup>. Für Cystatin C lagen die Reduktionsraten bei  $69,5 \pm 4,6$  bzw.  $55,6 \pm 10,1$  % und für Myoglobin betrugen sie  $51,7 \pm 7,3$  bzw.  $23 \pm 10,4$  %. Die Entfernung von Retinol-bindendem Protein war mit beiden Membranen vernachlässigbar, auch wenn hier ebenfalls mit PUREMA<sup>®</sup> H tendenziell höhere, aber stark variierende Resultate erzielt wurden ( $8,4 \pm 27,9$  vs.  $2,2 \pm 20,1$  %).

Reduktionsraten für  $\beta_2$ -Mikroglobulin im Bereich oberhalb von 70% finden sich typischerweise bei mehr konvektiven Dialyseverfahren wie der Hämodiafiltration und wurden unter Hämodialyse bisher nur selten erreicht, entsprechen aber der ungewöhnlich hohen  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Clearance von PUREMA<sup>®</sup> H. Eine vergleichbar effektive Behandlung wurde im Rahmen der Postdilutions-Hämodiafiltration mit herkömmlichen High-Flux-Polysulfon-Membranen bei ähnlicher Behandlungsdauer sowie Blut- und Dialysatflüssen erzielt ( $\beta_2$ -Mikroglobulin-Reduktionsrate von 72,7 vs. 72,3% bei PUREMA<sup>®</sup> H), allerdings war hierzu die Infusion von 100 ml/min Substitutionsflüssigkeit notwendig. Bei der Hämodialyse wurde mit dieser Art von Membran eine Reduktionsrate von lediglich 49,7% erreicht. Mit so genannten Super-Flux-Dialysatoren können im Hämodialysemodus zwar mit PUREMA<sup>®</sup> H vergleichbare  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Entfernungen erzielt werden, dies jedoch auf Kosten eines Albuminverlustes von mindestens 2 g pro Behandlung (Ward 2005).

Der mit PUREMA<sup>®</sup> H im Dialysat gemessene Albuminverlust von  $530 \pm 170$  mg während der Gesamtbehandlung lag zwar signifikant über dem von Helixone<sup>®</sup>, der unter der Nachweisgrenze von 220 mg blieb, kann aber als klinisch irrelevant eingestuft werden (Krieter und Canaud 2003). Daher erscheint es berechtigt, bei PUREMA<sup>®</sup> H im Vergleich zu Helixone<sup>®</sup> und insbesondere auch im Literaturvergleich zu Super-Flux-Dialysatoren von einem steileren Siebprofil im Bereich der kleinmolekulargewichtigen Eiweiße zu sprechen (siehe auch Abb. 7). Weniger selektive Polysulfonmembranen führten zu einem mit PUREMA<sup>®</sup> H vergleichbaren Albuminverlust (483 mg) und wiesen dabei eine nicht messbare  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Clearance ( $< 5$  ml/min) auf (Murthy et al. 1998). Ein derartiges Verhältnis von  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Clearance zu Albuminverlust kann ausgehend vom heutigen technischen Entwicklungsstand als nicht zeitgemäß angesehen werden. Die im Rahmen der Hämodialyse mit Superflux-Dialysemembranen erheblich höheren Albuminverlusten von ca. 7 Gramm pro Behandlung, ohne eine höhere  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Entfernung als PUREMA<sup>®</sup> H zu bewirken (Hillion et al. 1999, Bonomini et al. 1996), finden sich auch bei der Hämodiafiltration mit verschiedenen anderen High-Flux-Membranen (Ahrenholz et al. 2004), so dass hier jeweils von einer deutlich geringeren Selektivität der Membranen ausgegangen werden kann. Bei der Beurteilung der  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Reduktionsrate gilt es grundsätzlich zu bedenken, dass bestimmte Maximalwerte auch bei extrem hohen  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Clearances der Dialysatoren nicht überschritten werden können, wenn diese größer als die interkompartimentelle  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Clearance innerhalb des Körpers sind. Diese beträgt 82 ml/min (Ward et al. 2006). Ähnliche Zusammenhänge sind auch für andere kleinmolekulargewichtige Eiweiße zu erwarten, auch wenn diese bisher noch nicht untersucht wurden.

Während für die Entfernung von Cystatin C und Retinol-bindendem Protein kaum Untersuchungen existieren, lassen sich für Myoglobin mehrere Studien überwiegend japanischen Ursprungs als Referenz heranziehen. So konnte mit der aufwendigen „Push-/Pull-Hämodiafiltration“, die den Einsatz einer hochpermeablen Dialysemembran im Sinne von Super-Flux notwendig macht,



eine extrem hohe Myoglobin-Reduktionsrate von 68,6% erzielt und gleichzeitig der Albuminverlust auf 6,5 g begrenzt werden. Im konventionellen Hämodiafiltrationsmodus mit dem gleichen Filter betrug der Albuminverlust extrem hohe 18,9 g pro Behandlung bei einer dennoch niedrigeren Myoglobin-Reduktionsrate von 61,0%, während bei der Hämodialyse 3,4 g Albumin verloren gingen und die Myoglobinkonzentration im Plasma um 42,1% sank (Shinzato et al. 1996). In einer weiteren Studie, die High-Flux-Hämodialyse und On-line-Postdilutions-Hämodiafiltration unter Verwendung von 1,8m<sup>2</sup> konventionellem Polysulfon-Dialysatoren verglich, konnte eine Myoglobinreduktion von 24,5 bzw. 62,7% gezeigt werden (Maduell et al. 2002). Allerdings wurden die Behandlungen unter die Effektivität steigernden, deutlich höheren Blutflussraten durchgeführt. Auch diese Ergebnisse belegen die außergewöhnlich steile Siebkurve von PUREMA<sup>®</sup> H, die unter simpler Hämodialyse bei stark begrenztem Albuminverlust eine extrem hohe Myoglobinelimination als Surrogatparameter für größere kleinmolekulargewichtige Eiweiße ermöglichte.

Prinzipiell ist es im Sinne einer maximalen Entgiftung durch die Dialysebehandlung sinnvoll, ein möglichst breites Spektrum von Urämietoxinen zu entfernen; dies umfasst neben den kleinmolekulargewichtigen Proteinen kleiner als Albumin, auch eiweißgebundene Toxine, die nur sehr eingeschränkt mit herkömmlichen Dialyseverfahren quantitativ bedeutsam eliminiert werden können (Vanholder et al. 2003). Die PUREMA<sup>®</sup> H-Dialysemembran stellt entsprechend den Ergebnissen der vorliegenden Studie für die Entfernung von größeren kleinmolekulargewichtigen Proteinen die zur Zeit leistungsfähigste Membran überhaupt dar. Mit ihr werden aufgrund einer vermutlich erhöhten internen Filtration/Rückfiltration und damit Konvektion unter Hämodialyse Werte erreicht, die denen konventioneller Membranen unter Hämodiafiltration nahe kommen. Auch wenn die interkompartimentelle Verteilung von Toxinen die Effektivität eines dreimal wöchentlich stattfindenden Nierenersatzverfahrens begrenzt, haben neuere Studien zeigen können, dass die Anwendung der Hämodiafiltration die Mortalität verringert (Jirka et al. 2005, Canaud et al. 2006)

und die  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Clearance eines Dialysators einen hohen Vorhersagewert für den  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Spiegel hat (Cheung et al. 2006). Patienten mit niedrigeren  $\beta_2$ -Mikroglobulin-Serumkonzentrationen vor Dialyse haben ein geringeres relatives Risiko zu versterben (Bammens et al. 2006, Cheung et al. 2006). Es ist daher möglich, dass unter Hämodialyse die Verwendung von PUREMA<sup>®</sup> H im Vergleich zu anderen, weniger leistungsfähigen High-Flux-Dialysatoren, die Spiegel kleinmolekulargewichtiger Proteine senkt (Ward et al. 2000), d.h. die Patienten besser detoxifiziert, und in der Folge eventuell die Lebenserwartung chronisch dialysepflichtiger Patienten erhöht. Ob derartige Effekte erzielt werden können, muß in zukünftigen Untersuchungen gezeigt werden. Die Ergebnisse der einzigen prospektiven Studie, welche Low-Flux- mit High-Flux-Dialyse verglichen hat, untermauern derartige Erwartungen jedoch nicht (Eknoyan et al. 2002).

#### **4.2 Bewertung der Biokompatibilitätsuntersuchungen**

Biokompatibilität bezeichnet kein isoliertes Phänomen, sondern beschreibt Kaskaden von enzymatischen und zellulären Abläufen, die bei Kontakt von Blut mit künstlichen Oberflächen, wie z. B. einer Dialysemembran, ausgelöst werden. Im Rahmen der „Consensus Conference on Biocompatibility“ von 1993 wurde, bezogen auf die Hämodialyse, Biokompatibilität als die Fähigkeit der verwendeten Materialien, Geräte oder des Systems definiert, keine klinisch signifikanten Patientenreaktionen zu bewirken (Gurland 1994). Diese Definition hat bis heute nicht an Gültigkeit verloren. Die Bestimmung der Biokompatibilität von Dialysemembranen kann mittels verschiedener Parameter erfolgen, denen zum Teil miteinander in Verbindung stehende Mechanismen zugrunde liegen. Gegenüber den von der „Consensus Conference on Biocompatibility“ vorgeschlagenen verschiedenen Parametern zur Charakterisierung der Biokompatibilität (Klinkmann et al. 1994), finden sich heutzutage eine Reihe weiterer Messgrößen, die darüber hinaus das Phänomen zusätzlich beschreiben können. Die klassischen Größen transiente Leukopenie und Komplementaktivierung sind dabei unverändert als die beiden wichtigsten

Biokompatibilitätsparameter anzusehen und wurden im Rahmen der vorliegenden Studie bestimmt. Als Maß der Komplementaktivierung über den sog. „alternativen Weg“ – der relevante Weg, der bei Blutkontakt mit nichtbiologischen Oberflächen von Fremdmaterialien aktiviert wird (Chenoweth 1987) – wurde der dabei freigesetzte Komplementfaktor C5a im Plasma gemessen. Zusammen mit dem direkten Dialysemembran- / Blutzellkontakt ist die Komplementaktivierung ursächlich verantwortlich für den vorübergehenden Leukozytenabfall während der Dialyse (Cheung 1990, Ward und McLeish 1995).

In der vorliegenden Studie führten sowohl PUREMA<sup>®</sup> H als auch Helixone<sup>®</sup> zu einer im Vergleich mit zellulosischen Membranen sehr geringen frühen transienten Leukopenie und C5a-Generierung. Dennoch fanden sich zwischen beiden Membranen Unterschiede bezüglich beider Parameter, die im Falle von C5a sogar statistisch signifikant waren. Das Maximum der C5a-Konzentration lag für PUREMA<sup>®</sup> H 10 min nach Dialysebeginn vor ( $1,2 \pm 1,2$  mg/l); gegenüber dem Ausgangswert ( $0,4 \pm 0,2$  mg/l) fanden sich jedoch erst nach 30 min signifikante Unterschiede. Im Gegensatz dazu war bei Helixone<sup>®</sup> der C5a-Maximalwert bereits nach 5 min erreicht ( $2,9 \pm 2,3$  mg/l) und lag zu diesem Zeitpunkt signifikant über dem Ausgangswert ( $0,4 \pm 0,5$  mg/l). Beim Vergleich der Maxima beider Membranen ergab sich ein signifikanter Unterschied mit einer ca. 2,5fach höheren Konzentration für Helixone<sup>®</sup>. Der Grund für die geringeren C5a-Konzentrationen bei Dialyse mit PUREMA<sup>®</sup> H dürfte weniger mit einer niedrigeren Komplementaktivierung verglichen mit Helixone<sup>®</sup> zusammenhängen, da es sich bei den verwendeten Polymeren Polyethersulfon bzw. Polysulfon, die in Bindung mit Polyvinylpyrrolidon die Membrankomponenten von PUREMA<sup>®</sup> H bzw. Helixone<sup>®</sup> darstellen, um chemisch sehr ähnliche Substanzen handelt. Vielmehr ist zu vermuten, dass aufgrund der gezeigten deutlich besseren Entfernung kleinmolekulargewichtiger Proteine durch PUREMA<sup>®</sup> H auch effektiver Komplementfaktor C5a-Fragmente eliminiert werden (Schindler et al. 2006). Schließlich handelt es sich bei C5a mit

einem dem  $\beta_2$ -Mikroglobulin ähnlichen Molekulargewicht von etwa 11.000 Da um ein typisches Mittelmolekül.

Passend zum Komplementfaktor C5a-Anstieg wies PUREMA<sup>®</sup> H einen allerdings nicht statistisch signifikant niedrigeren Leukozytennadir als Helixone<sup>®</sup> auf, der darüber hinaus bereits nach 5 min vorlag. Zu diesem Zeitpunkt kam es zu einem gegenüber dem Ausgangswert nicht signifikanten relativen Abfall der Leukozytenzahl um ca. acht Prozent auf  $92 \pm 13$  %. Bei Dialyse mit Helixone<sup>®</sup> war der minimale Leukozytenwert im Behandlungsverlauf erst nach 10 min nachweisbar, war signifikant erniedrigt und betrug bezogen auf den Ausgangswert  $86 \pm 13$  %. Es ist nahe liegend, zu vermuten, dass die Unterschiede in der Leukozytenaktivierung zwischen PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> zumindest partiell durch die unterschiedlich stark ausgeprägte Komplementaktivierung hervorgerufen wurde. Verschiedene Autoren konnten einen Zusammenhang zwischen Komplementaktivierung und Leukopenie nachweisen, wobei Höhe des Komplementspiegels und Ausmaß des Leukozytenabfalls korrelierten (Hoenich et al. 1986, Goldman et al. 1987, Schaefer et al. 1987, Cheung 1990, Gutierrez et al. 1994, Mandolfo et al. 1997). Mandolfo et al. (1997) gelang es darüber hinaus in einem In-vitro-Versuch, eine direkte Leukozytenaktivierung durch aktivierte plasmatische Substanzen, u.a. Komplementfaktoren, nahe zu legen. Anders als Ergebnisse in der Literatur, die die Maxima der Komplementfaktorfreisetzung und Leukopenie zumeist nach 15 min beschreiben (Hoenich et al. 1986, Goldman et al. 1987, Schaefer et al. 1987, Gutierrez et al. 1994), beobachteten wir diese zu deutlich früheren Zeitpunkten. Auch wenn die untersuchten Dialysemembranen selbstverständlich andere als die in der vorliegenden Studie waren und ein direkter Materialeinfluss nicht ausgeschlossen werden kann, ist die Ursache für diesen zeitlichen Unterschied vor allem im Blutabnahmeschema der historischen Studien zu sehen. Es wurde zumeist erst 15 min nach Dialysebeginn erstmals eine Probe im Verlauf entnommen (Hoenich et al. 1986, Goldman et al. 1987, Schaefer et al. 1987, Gutierrez et al. 1994), so dass das tatsächliche, mutmaßlich frühere Maximum nicht erfasst worden ist. Allerdings

kam es übereinstimmend mit den früheren Vergleichsstudien bei der vorliegenden Untersuchung zu einer identischen Kinetik der Parameter, d.h. nach Erreichen der frühen Höchstwerte des Leukozytenabfalls und C5a-Konzentrationsanstiegs normalisierten sich die Werte innerhalb von 60 min nach Dialysebeginn und stabilisierten sich dann bis zum Ende ungefähr im Bereich der Ausgangswerte.

Verglichen mit den bekannten Untersuchungen zu zellulosischen Dialysemembranen war die maximale Komplementfaktorfreisetzung wie auch das Ausmaß der Leukozytenaktivierung beider hier untersuchten synthetischen Membranen deutlich geringer. Für die zellulosische Membran Cuprophan<sup>®</sup> sind Abfälle der Leukozytenzahl auf 34% des Ausgangswertes dokumentiert, während die Komplementfreisetzung massiv bis zu 175 % bezogen auf den Wert vor Dialyse anstieg (Foret et al. 1987). Unter Dialyse mit synthetisch modifizierten Zellulosemembranen, z. B. Zelluloseacetat oder Hemophan<sup>®</sup>, kam es typischerweise zu etwa 20 – 40 % Reduktion am Nadir der Leukozytenzahl und einem etwa 50fachen Anstieg aktivierten Komplements (Foret et al. 1987, Mandolfo et al. 1997). Bezogen auf Untersuchungen mit anderen synthetischen Membranen lag die Leukopenierate von PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> in einem vergleichbaren Bereich, die Komplementfreisetzung hingegen etwas unter den in den Referenzstudien gefundenen Werten (Foret et al. 1987, Mandolfo et al. 1997). Bei einem derartigen Vergleich mit historischen Studien ist es aber fragwürdig, ob dieser tatsächlich nur die Membraneigenschaften widerspiegelt, da sich im Laufe der vergangenen Jahre die Biokompatibilität des Gesamtsystems „Dialyse“ verbessert hat. So ist mittlerweile die Verwendung ultrareinfiltrierten Dialysats in vielen Zentren zum Standard geworden – auch in der vorliegenden Studie war das der Fall –, was mit einer geringeren Endotoxinbelastung und in der Folge Mikroinflammation der Patienten verknüpft ist (Schiffl et al. 2001). Dies könnte bei den Patienten zu einem veränderten Ansprechen peripherer polymorphkerniger Zellen auf auslösende Stimuli führen (Morena et al. 2005, Schindler et al. 2006). Eine weitere Verbesserung stellt z. B. die Verwendung verträglicherer Dialysekonzentratlösungen dar.

Grundsätzlich muss man davon ausgehen, dass die Patienten in verschiedenen Kollektiven eine unterschiedliche Reagibilität aufweisen können.

Die Biokompatibilität der während der Dialyse verwendeten Materialien, insbesondere die Dialysemembran, führt zur Aktivierung der Leukozyten, gekennzeichnet durch den Abfall der Leukozytenzahl zu Beginn der Behandlung. Während aktivierte Monozyten proinflammatorische Zytokine einschließlich IL-1b, TNF-a und IL-6 produzieren (Stenvinkel et al. 2005), führt die Aktivierung von Granulozyten zur Degranulation mit Freisetzung verschiedener Mediatoren, wie Elastase und Myeloperoxidase, sowie zur Induktion von Sauerstoffradikalen (Ono et al. 2000). In die vorliegende Studie wurden deshalb auch die Elastase und die Myeloperoxidase als Parameter der Leukozytendegranulation einbezogen.

Polymorphkernige neutrophile Granulozyten besitzen zur Abwehr mikrobieller Pathogene Serinproteasen, wozu unter anderen die Elastase gehört. Diese Proteasen befinden sich in der azurophilen Granula der Leukozyten. Nach entsprechendem Stimulus, wie z.B. dem Kontakt der Zelle mit der biokompatiblen Oberfläche der Dialysemembran, kommt es zur Verschmelzung der Granula mit der Zellmembran, in der Folge zur Freisetzung in das Phagolysosom und beim Zerfall der Zellen in den extrazellulären Raum (Reeves et al. 2002). In verschiedenen älteren Studien, in denen Dialysemembranen verglichen wurden, konnte die Eignung der Neutrophilenelastase als Marker der Biokompatibilität demonstriert werden. Übereinstimmend fand sich ein langsamer linearer Anstieg der Elastasekonzentration im Plasma während der Hämodialyse (Schaefer et al. 1986, Hörl et al. 1987, Ono et al. 2000). Maximalwerte wurden erst am Behandlungsende erreicht, wobei Anstiege um ein Vielfaches der Ausgangswerte gemessen wurden. Synthetische Dialysemembranen führten dabei zu einer geringeren Elastasefreisetzung als zellulose Membranen. Auch die Größe der Dialysemembranoberfläche spielte eine Rolle: flächenkleinere Membranen bewirkten eine geringere Elastasefreisetzung

(Schaefer et al. 1986). In der hier vorliegenden Untersuchung bestätigte sich der anfänglich steilere, dann flachere kontinuierliche Anstieg der venös vor dem Dialysator gemessenen Elastasekonzentration. Das Maximum am Ende der Dialyse unterschied sich zwischen Helixone<sup>®</sup> und PUREMA H<sup>®</sup> jedoch nicht und betrug 107 bzw. 118 % bezogen auf die jeweiligen Ausgangswerte. Verglichen mit den Angaben in der Literatur handelt es sich jedoch um extrem niedrige Maxima, was – gemessen an der Elastasegenerierung – für die exzellente Biokompatibilität beider Membranen dieser Studie spricht. So wurde bei einem flächenvergleichbaren Cuprophan<sup>®</sup>-Dialysator ein Mittelwert von  $471 \pm 56 \mu\text{g/l}$  ermittelt (Schaefer et al. 1986), was einen mehr als vierfach höheren Wert darstellt (Helixone<sup>®</sup>  $107,8 \pm 48,3 \mu\text{g/l}$  und PUREMA<sup>®</sup> H  $93,3 \pm 25,7 \mu\text{g/l}$ ).

Oxidativer Stress gilt als ein wesentlicher pathophysiologischer Faktor bei der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen (Singh und Jialal 2006). Chronische Hämodialysepatienten unterliegen einem verstärkten oxidativen Stress. Als Ausdruck dessen finden sich bei ihnen im Vergleich zur Normalbevölkerung erhöhte Konzentrationen oxidativer Parameter im Blut (Canaud et al. 1999, Descamps-Latscha et al. 2001), die als nicht traditionelle Risikofaktoren für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen gelten (Magliano et al. 2003, Oliveira 2005). Verschiedene neuere Studien an chronisch dialysepflichtigen Patienten konnten belegen, dass therapeutische Maßnahmen zur Reduktion des oxidativen Stresses mit einer geringeren kardiovaskulären Morbidität verknüpft waren (Boaz et al. 2000, Tepel et al. 2003). Neben der Kumulation reaktiv oxidativer Substanzen durch die Niereninsuffizienz gilt auch die Nierenersatztherapie, wie z. B. die Hämodialyse, als Auslöser oxidativen Stresses (Morena et al. 2002, Kosch et al. 2003, Wu et al. 2005). Neben einer Vielzahl anderer möglicher Parameter zur Charakterisierung des oxidativen Stresses im Rahmen der Hämodialyse, scheint auch die Bestimmung der Myeloperoxidasekonzentration im Plasma, die ein Ergebnis der Degranulierung aus aktivierten neutrophilen Granulozyten ist (Hörl et al. 1987), geeignet zu sein, akuten oxidativen Stress während der Dialysebehandlung zu messen (Ono et al. 2000, Wu et al. 2005, Krieter et al. 2006). Myeloperoxidase ist nicht

zuletzt deshalb von besonderem Interesse, da die Höhe des Serumspiegels vor der Dialyse mit dem prospektiven Mortalitätsrisiko von chronischen Dialysepatienten korreliert (Kalantar-Zadeh et al. 2006). Eine geringere Myeloperoxidasefreisetzung durch die Dialysemembran könnte daher möglicherweise vorteilhaft für die Prognose der Patienten sein.

Im Rahmen der vorliegenden Studie kam es unter Hämodialyse mit PUREMA<sup>®</sup> H und Helixone<sup>®</sup> bereits nach fünf Minuten zu einem massiven signifikanten Anstieg der Myeloperoxidasespiegel im Plasma. Nach 10 min lag jeweils der Maximalwert vor, der bezogen auf den Ausgangswert bei PUREMA<sup>®</sup> H  $498 \pm 260$  % und bei Helixone<sup>®</sup>  $577 \pm 244$  % betrug. Im weiteren Verlauf kam es dann zu einer allmählichen Reduktion der Werte, wobei am Behandlungsende immer noch  $295 \pm 138$  bzw.  $430 \pm 246$  % über dem Ausgangsniveau gemessen wurde. Während der Dialysebehandlung war kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Membranen feststellbar, jedoch lag der Myeloperoxidaseausgangswert vor der Dialyse mit PUREMA<sup>®</sup> H mit  $90,5 \pm 30$  µg/l signifikant über dem mit Helixone<sup>®</sup> gemessenen ( $54,7 \pm 20,3$  µg/l). Da die Untersuchungen erst jeweils bei der dritten konsekutiven Dialyse mit der jeweiligen Membran durchgeführt wurden, ist ein so genannter „Carry-over-Effekt“ von den vorangegangenen Behandlungen nicht auszuschließen, um diesen Unterschied zu erklären. Die in der vorliegenden Studie gemessene Myeloperoxidasekinetik deckt sich mit der in verschiedenen anderen Studien ermittelten (Ono et al. 2000, Wu et al. 2005). Beim Vergleich der absoluten Maximalwerte fallen jedoch deutliche Unterschiede in den Myeloperoxidasekonzentrationen auf. So betrug der von Wu und Mitarbeitern (1987) ermittelte Plasmaspiegel nach 15 min bei der Verwendung von Polysulfon lediglich  $69,7 \pm 13,8$  µg/l. Dem gegenüber fanden sich in der vorliegenden Studie Werte von  $315,6$  µg/l (Helixone<sup>®</sup>) bzw.  $450,7$  µg/l (PUREMA<sup>®</sup> H). Es macht nur beschränkt Sinn, die Maximalwerte der Myeloperoxidasefreisetzung verschiedener Studien miteinander zu vergleichen, da diese nicht nur durch die Dialysemembran selbst ausgelöst wird. Vielmehr spielt u. a. die Art und Weise der Antikoagulation mit Heparin, die auch in der



vorliegenden Studie als Routinevorgang mit einer systemischen Bolusgabe vor Dialysebeginn eingeleitet wurde und in unveränderter Dosis während aller Studiendialysen beibehalten wurde, eine ganz erhebliche Rolle. So setzt systemisch appliziertes Heparin endothelial gebundene Myeloperoxidase frei und bewirkt damit eine systematische Verfälschung der im Dialysekreislauf gemessenen Konzentration (Borawski 2006). Auch andere Faktoren im Zusammenhang mit dem extrakorporalen Kreislauf wie z. B. das Einwirken von Scherkräften durch die Blutpumpe werden als mögliche Myeloperoxidase-induzierende Mechanismen diskutiert (Krieter et al. 2006). Darüber hinaus gilt es zu bedenken, dass die Höhe der im Plasma gemessenen Myeloperoxidase, wie in der vorliegenden Studie, nicht unbedingt mit der Myeloperoxidaseaktivität in neutrophilen Granulozyten korreliert, auch wenn sie letztlich von dieser mitbestimmt wird (Capeillère-Blandin et al. 2006). Beide, Myeloperoxidase im Plasma und die Myeloperoxidaseaktivität in neutrophilen Granulozyten, korrelieren mit dem Spiegel von sogenannten „advanced oxidative protein products“ (AOPP), die als zuverlässige und relevante Marker zur Charakterisierung verschiedener pathologischer Zustände im Zusammenhang mit oxidativem Stress gelten (Capeillère-Blandin et al. 2006). Auf Grund der potentiellen pathophysiologischen Bedeutung der reaktiv oxidativen Substanzen für die kardiovaskuläre Morbidität von Dialysepatienten ist es wünschenswert, oxidativen Stress während der Dialyse möglichst gering zu halten. Wu et al. (2005) konnten bei Hämodialyse mit regenerierten Zellulosemembranen als Ausdruck des ausgeprägteren oxidativen Stresses eine um etwa 100 % höhere Myeloperoxidasefreisetzung als mit synthetischen Polysulfonmembranen feststellen. Obwohl die Hämodialyse mit PUREMA® H und Helixone® zu einer erheblichen Myeloperoxidasefreisetzung führte, ist demnach auch ein im Vergleich zu bioinkompatibler Zellulose ähnlich geringerer pro-oxidativer Effekt von einer Dialyse mit diesen beiden synthetischen Dialysemembranen zu erwarten.

Ein weiterer unerwünschter Nebeneffekt der Dialysebehandlung ist die Aktivierung des Gerinnungssystems. Bei Kontakt des Blutes mit der

Dialysemembran bildet sich eine Proteinschicht auf der Membran, sog. „coating“. Diese auch als „Sekundärmembran“ bezeichnete Schicht besteht u.a. aus Fibrinogen, Albumin,  $\beta$ 2-Mikroglobulin, und Gerinnungsfaktoren (Buscaroli 1991). Durch Aktivierung des Gerinnungsfaktors XII (Hageman-Faktor) kommt es zur Auslösung der endogenen Gerinnungskaskade bis hin zur Fibrinbildung (Hakim 1993). Des Weiteren hat die Adhäsion von Thrombozyten deren Aktivierung, Aggregation und Degranulation zur Folge. Dabei werden u.a. Plättchen-Faktor 4 (PF4) und  $\beta$ -Thromboglobulin frei; beide hemmen Heparin in seiner Wirkung (Buscaroli 1991). Darüber hinaus bestehen noch viele weitere Interaktionen, die zur Aktivierung des Gerinnungssystems beitragen (Lüscher 1987, Feldman et al. 1991, Verbeelen et al. 1991). Um die Gerinnungs- und Thrombozytenaktivierung zu limitieren, das Koagulieren des extrakorporalen Systems zu verhindern und dadurch eine Durchführung der Dialysebehandlung überhaupt zu ermöglichen, ist die Gabe von Antikoagulantien in Form von z.B. Heparin unumgänglich. In der vorliegenden Studie wurde die Heparinisierung (Heparinart und -dosierung) von den Standarddialysen der jeweiligen Patienten übernommen und im Weiteren unverändert beibehalten. Hierunter konnten sämtliche Studiendialysen ohne visuell fassbare Hinweise auf eine zu geringe Heparindosis durchgeführt werden, d.h. nach Rückspülung am Ende der Behandlungen fanden sich weder größere Restblutmengen im Dialysator, noch Thromben im extrakorporalen Kreislauf. Die Vorgehensweise mit Übernahme der Standardheparinisierung kann nicht als optimal für die Beurteilung der gerinnungsaktivierenden Eigenschaften der Studiendialysemembranen angesehen werden, da eine mutmaßliche Überschußheparinisierung nicht ausgeschlossen werden kann, diese aber eine Bildung von Thrombin-Antithrombin-III-Komplexen, der in der vorliegenden Studie verwendete Parameter zur Erfassung von Blutgerinnung, verhindern würde. Vielmehr handelte es sich hierbei um ein praktikables Vorgehen zur Ermöglichung der grundsätzlichen Durchführbarkeit der vorliegenden Studie. Eine Optimierung der Heparindosis hätte eine Vielzahl zusätzlicher, die Patienten belastender Studiendialysen bedeutet, wobei das Risiko einer Koagulation des extrakorporalen Kreislaufes vorgelegen hätte.

Die Messung der Bildung von Thrombin-Antithrombin-III-Komplexen im Plasma während der Dialyse stellt grundsätzlich eine etablierte Methode zur Bestimmung der prokoagulatorischen Wirkung von Dialysemembranen dar. Der Anstieg dieses Parameters zeigt die Thrombogenität eines Dialysators an (Cardigan et al. 1999), wobei auch die Blutfließeigenschaften im Dialysator hierauf Einfluss nehmen (Sperschneider et al. 1997). Thrombin-Antithrombin-III-Komplexe gelten als sensitivster und schnell reagierender Parameter, der im Verlauf der Blutgerinnung auftritt (Bartels et al. 2000). Thrombin-Antithrombin-III-Komplexbildung findet auch ohne die Anwesenheit von Faktor XIIa statt und damit unabhängig von der Kontaktaktivierung. Auch in plättchenarmem Plasma wird Thrombin-Antithrombin-III generiert, was auf eine Gerinnung induzierende Rolle von Monozyten hinweist (Hong et al. 1999). Im Gegensatz zu stark kontaktaktivierenden Dialysemembranen, wie z.B. die nicht mehr produzierte AN69<sup>®</sup>-Membran, führen moderne synthetische Dialysemembranen nur zu einer geringgradigen Thrombin-Antithrombin-III-Komplexbildung (Frank et al. 2001). Hierzu zählen auch Polysulfonmembranen wie die in der vorliegenden Studie als Kontrollmembran verwendete Helixone<sup>®</sup> (Hoenich et al. 1994, Frank et al. 2001, Opartny et al. 2006), die zu einem sehr geringen Anstieg der Thrombin-Antithrombin-III-Konzentration zum Ende der Dialyse auf lediglich  $6,6 \pm 6,3$  mg/l führte; nach 60 min war noch keinerlei Veränderung gegenüber dem Ausgangswert von  $2,3 \pm 0,4$  mg/l nachweisbar. Unter der Studiendialysemembran PUREMA<sup>®</sup> H wurden vergleichbare Werte gemessen ( $2,1 \pm 0,3$  auf  $6 \pm 7,8$  mg/l). Zwischen den Membranen fanden sich keine signifikanten Unterschiede. Trotz der oben genannten, aus der Heparinisierung resultierenden Einschränkungen, die einen direkten Vergleich bezüglich der Thrombin-Antithrombin-III-Komplexbildung mit Angaben in der Literatur wenig sinnvoll erscheinen lassen, kann sowohl bei Helixone<sup>®</sup> wie auch bei PUREMA<sup>®</sup> H von einer geringen Thrombogenität und damit von einer günstigen Biokompatibilität bezüglich der Gerinnungsaktivierung ausgegangen werden.

### 4.3 Fazit

Die in der vorliegenden prospektiven klinischen Studie untersuchte neuartige, mit einem Polyelektrolytadditiv modifizierte PUREMA<sup>®</sup> H-Dialysemembran zeigte eine gegenüber der Helixone<sup>®</sup>-Kontrollmembran signifikant verbesserte Entfernung kleinmolekulargewichtiger Proteine bei gleichzeitig nur geringem Albuminverlust. Die Steigerung der Behandlungseffizienz im Hämodialysemodus bei PUREMA<sup>®</sup> H war derartig ausgeprägt, dass sie das Niveau mehr konvektiver Verfahren wie der „Online“-postdilutions-Hämodiafiltration, die mit einer verbesserten Prognose chronisch dialysepflichtiger Patienten verbunden ist (Jirka et al. 2005, Canaud et al. 2006), erreichte. Des Weiteren konnte bei PUREMA<sup>®</sup> H eine exzellente Biokompatibilität nachgewiesen werden, die bezogen auf die Komplementaktivierung sogar signifikant besser als die der als hoch biokompatibel geltenden Helixone<sup>®</sup>-Kontrollmembran war. Dieser Unterschied ist aber vermutlich ebenfalls auf die bessere Permeabilität von PUREMA<sup>®</sup> H für kleinmolekulargewichtige Eiweiße, zu denen der gemessene Komplementfaktor C5a gehört, zurückzuführen. Obwohl Hämodialyse gegenüber konvektiven Verfahren nicht geeignet ist, die volle Leistungsfähigkeit einer Dialysemembran auszureizen, wäre es interessant zu zeigen, ob eine derartig effiziente Membran wie PUREMA<sup>®</sup> H bereits in einfacher Hämodialyse zu einer Prognoseverbesserung bei dialysepflichtig niereninsuffizienten Patienten führt. Dies gilt es in kommenden Studien zu überprüfen.

## 5. Zusammenfassung

Eine Möglichkeit, die Gesamtprognose dialysepflichtiger Patienten zu verbessern, stellt die möglichst effektive Entfernung kleinmolekulargewichtiger Eiweiße durch die Dialyse dar. Hierzu ist die Verbesserung der Durchlässigkeit von Dialysemembranen für diese Substanzen eine Möglichkeit. PUREMA<sup>®</sup> H ist eine neuartige Polyethersulfon-High-flux-Dialysemembran, bei der dieses Entwicklungsziel angestrebt wurde. Um dies zu erreichen, kam erstmalig ein neuartiger Spinnprozess zur Anwendung, bei dem eine Modifikation der Membranpermeabilität mittels eines polaren Polyelektrolytadditivs erzielt wurde. In der vorliegenden Studie wurde PUREMA<sup>®</sup> H mit einer bekannten, als Kontrolle dienenden, optimierten Polysulfonmembran (Helixone<sup>®</sup>) bezüglich der Effektivität und Biokompatibilität verglichen.

Im Rahmen einer prospektiven, randomisierten „Cross-over“-Studie an acht chronisch dialysepflichtigen Patienten wurden die Vollblutclearances, die Reduktionsraten und der Dialysatmassentransfer der kleinmolekulargewichtigen Proteine  $\beta_2$ -Microglobulin, Cystatin C, Myoglobin und Retinol-bindendem Protein sowie verschiedene Parameter der Biokompatibilität (Leukozyten-, Komplementfaktor C5a-, Thrombin-Antithrombin-III-Komplex-, Myeloperoxidase- und Elastaseverlauf) bei beiden Dialysemembranen im Rahmen der Hämodialyse ermittelt.

Gegenüber Helixone<sup>®</sup> fand sich bei PUREMA<sup>®</sup> H eine signifikant höhere Elimination sämtlicher bestimmter kleinmolekulargewichtiger Eiweiße. So betragen die 30 min-Clearances und Reduktionsraten von PUREMA<sup>®</sup> H für  $\beta_2$ -Microglobulin  $120 \pm 15$  ml/min bzw.  $72 \pm 2$  % (Helixone<sup>®</sup>  $98 \pm 9$  ml/min bzw.  $66 \pm 6$  %), für Cystatin C  $116 \pm 13$  ml/min bzw.  $69 \pm 4$  % (versus  $74 \pm 8$  ml/min bzw.  $56 \pm 10$  %), für Myoglobin  $52 \pm 17$  ml/min bzw.  $52 \pm 7$  % (versus  $15 \pm 11$  ml/min bzw.  $23 \pm 10$  %) und für Retinol-bindendes Protein  $-11 \pm 13$  ml/min bzw.  $8 \pm 28$  % (versus  $-22 \pm 16$  ml/min bzw.  $2 \pm 20$  %). Der Albuminverlust von PUREMA<sup>®</sup> H lag bei  $0.53 \pm 0.17$  g, während er bei Helixone<sup>®</sup> mit  $<0.22$  g unterhalb der Nachweisgrenze war. Bei den Biokompatibilitätsparametern fand sich lediglich eine signifikant niedrigere frühe Komplementfaktor C5a-Generierung während

der Dialyse mit PUREMA® H, während alle anderen Messgrößen keine Unterschiede zu Helixone® aufwiesen.

Im Vergleich zur Kontrollmembran Helixone® weist die neue additiv modifizierte PUREMA® H-Dialysemembran eine verbesserte Entfernung kleinmolekulargewichtiger Eiweiße und optimierte Biokompatibilität auf. Ob die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung eine Verbesserung der Gesamtprognose dialysepflichtiger Patienten bedeuten, müssen weitere Studien belegen.

## 6. Literaturverzeichnis

Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS: Effector mechanisms of immune response; in: Cellular and molecular immunology; edited by Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS; W.B. Saunders Company, Philadelphia 2000, 240 – 248

Abel JJ, Rowntree LG, Turner BB (1914): On the removal of diffusible substances from the circulating blood of animals by dialysis. *J Pharmacol Exp Ther* 5, 275 – 316

Ahrenholz PG, Winkler RE, Michelsen A, Lang DA, Bowry SK (2004): Dialysis membrane dependent removal of middle molecules during hemodiafiltration: The beta2-microglobulin/albumin relationship. *Clin Nephrol* 62, 21 – 28

Alwall N (1947): On artificial kidney; Apparatus for dialysis of blood in vivo. *Acta med scandinav* 128, 317 – 325

Arnaout MA, Hakim RM, Todd RF 3<sup>rd</sup>, Dana N, Colten HR (1985): Increased expression of an adhesion-promoting surface glycoprotein in the granulocytopenia of hemodialysis. *N Engl J Med* 312, 457 – 462

Babb AL, Ahmad S, Bergström J, Scribner BH (1981): The middle molecule hypothesis in perspective. *Am J Kidney Dis* 1, 46 – 50

Bammens B, Evenepoel P, Keuleers H, Verbeke K, Vanrenterghem Y (2006): Free serum concentration of the protein-bound retention solute p-cresol predict mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 69, 1081 – 1087

Bankhead MM, Toto RD, Star RA (1995): Accuracy of urea removal estimated by kinetic models. *Kidney Int* 48, 785 – 793

Bardin T, Zingraff J, Kuntz D, Drücke T (1986): Dialysis-related amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant* 1, 151 – 154

Bartels PC, Schoorl M, Schoorl M, Wiering JG, Nube MJ (2000): Activation of coagulation during treatment with haemodialysis. *Scand J Clin Lab Invest* 60, 283 – 290

Basile G, 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, 40 – 45

Baz M, Durand C, Ragon A, Jaber K, Andrieu B, Merczuk T, Purgus R, Olmer M, Reynier JP, Berland Y (1991): Using ultrapure water in hemodialysis delays carpal tunnel syndrome. *Int J Artif Organs* 14, 681 – 685

Bergström J, Wehle B (1987): No change in corrected  $\beta_2$ -microglobulin concentration after cuprophane haemodialysis. *Lancet* 1, 628 – 629

Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Matas Z, Gafer U, Iaina A, Knecht A, Weissgarten Y, Brunner D, Fainaru M, Green MS (2000): Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 356, 1213 – 1218

Bommer J: Biokompatibilität; in: *Blutreinigungsverfahren: Technik und Klinik; Hämodialyse, CAPD, CCPD, Hämofiltration, Hämodiafiltration, Hämo-perfusion, Plasmapherese*; hrsg. v. Franz HE; Georg Thieme Verlag. Stuttgart 1990, 98 – 108

Bonomini M, Fiederling B, Bucciarelli T, Manfrini V, Di Illio C, Albertazzi A (1996): A new polymethylmetacrylate membrane for hemodialysis. *Int J Artif Organs*; 19, 232 – 239



Borawski J (2006): Myeloperoxidase as a marker of hemodialysis biocompatibility and oxidative stress: the underestimated modifying effects of heparin. *Am J Kidney Dis* 47, 37 – 41

Bowry SK, Ronco C (2001): Surface topography and surface elemental composition analysis of Helixone, a new high-flux polysulfone dialysis membrane. *Int J Artif Organs*; 24, 757 – 764

Brachtendorf T, Nederlof B (1994): Fresenius Polysulfone® - the „Gold Standard“ in dialysis. 10 years of experience. *Clin Nephrol* 42 Suppl 1, S3 – S12

Bundschu D: Geschichte der Hämodialyse; in: Blutreinigungsverfahren: Technik und Klinik; Hämodialyse, CAPD, CPPD, Hämofiltration, Hämodiafiltration, Hämo-perfusion, Plasmapherese; hrsg. v. Franz HE; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1990, 25 – 27

Buscaroli A, Coli L, Cianciolo G, Grossi G, Bonetti M, Nanni-Costa A, Borgigno LC, Stefoni S, Bonomini V (1991): Biocompatibility of artificial membranes: platelet function evaluation. *Biocybern Biomed Eng* 11(3-4), 5 – 12

Canaud B, Cristol JP, Morena M, Leray-Moragues H, Bosc JY, Vaussenat F (1999): Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients. *Blood Purif* 17, 99 – 106

Canaud B, Bragg-Gresham JL, Marshall MR, Desmeules S, Gillespie BW, Depner T, Klassen P, Port FK (2006): Mortality risk for patients receiving hemodiafiltration versus hemodialysis: European results from the DOPPS. *Kidney Int* 69, 2087 – 2093

Capeillère-Blandin C, Gausson V, Nguyen AT, Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V (2006): Respective role of uraemic toxins and myeloperoxidase in the uraemic state. *Nephrol Dial Transplant* 21, 1555 – 1563

Cardigan RA, McGloin H, Mackie IJ, Machin SJ, Singer M (1999): Activation of the tissue factor pathway occurs during continuous venovenous hemofiltration. *Kidney Int* 55, 1568 – 1574

Clark WR, Gao D (2002): Low-molecular weight proteins in end-stage renal disease: potential toxicity and dialytic removal mechanisms. *J Am Soc Nephrol* 13 Suppl. 1, S41 – S47

Chatenoud L, Herbelin A, Beaurain G, Descamps-Latscha B (1990): Immune deficiency of the uremic patient. *Adv Nephrol* 19, 259 – 274

Chenoweth DE (1987): Complement activation of extracorporeal circuits. *Ann NY Acad Sci* 516, 306

Cheung AK: Biocompatibility of hemodialysis membranes. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1: 150-161

Cheung AK (1994): Complement activation as index of haemodialysis membrane biocompatibility: the choice of methods and assays. *Nephrol Dial Transplant* 9 Suppl 2, 96 – 103

Cheung AK und Lemke H (1994): Criteria and standardization for biocompatibility. *Nephrol Dial Transplant* 9 Suppl 2, 72 – 76

Cheung AK, Rocco MV, Yan G, Leypoldt JK, Levin NW, Greene T, Agodoa L, Bailey J, Beck GJ, Clark W, Levey AS, Ornt DB, Schulman G, Schwab S, Teehan B, Eknoyan G; HEMO Study Group (2006): Serum  $\beta_2$ -microglobulin levels predict mortality in dialysis patients: results of the HEMO study. *J Am Soc Nephrol* 17, 546 – 555

Craddock PR, Fehr J, Brigham KL, Kronenberg RS, Jacob HS (1977): Complement and leukocyte-mediated pulmonary dysfunction in hemodialysis. *N Engl J Med* 296(14), 769 – 774

Craddock PR, Fehr J, Dalmaso AP, Brigham KL, Jacob HS (1977a): Hemodialysis leukopenia: Pulmonary vascular leukostasis resulting from complement activation by dialyzer cellophane membranes. *J Clin Invest* 59, 879 – 888

Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V (2001): Dialysis-induced oxidative stress: Biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Seminars Dial* 14, 193 – 199

Eknoyan G, Beck GJ, Cheung AK, Daugirdas JT, Greene T, Kusek JW, Allon M, Bailey J, Delmez JA, Depner TA, Dwyer JT, Levey AS, Levin NW, Milford E, Ornt DB, Rocco MV, Schulman G, Schwab SJ, Teehan BP, Toto R; Hemodialysis (HEMO) Study Group (2002): Effect of dialysis dose and membrane flux in maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 347, 2010 – 2019

European Best Practice Guidelines on Haemodialysis Expert Group, European Renal Association (2002 a): European Best Practice Guidelines for Haemodialysis, (Part 1), SECTION II: haemodialysis adequacy: II.1 Haemodialysis dose quantification: small solutes. *Nephrol Dial Transplant* 17 (Suppl. 7), 17 – 21

European Best Practice Guidelines on Haemodialysis Expert Group, European Renal Association (2002 b): European Best Practice Guidelines for Haemodialysis, (Part 1), SECTION II: haemodialysis adequacy: II.2 Haemodialysis dose quantification: middle molecules (MM). *Nephrol Dial Transplant* 17 (Suppl. 7), 21 – 23

Feldman M, Male D: Zellkooperation bei der Antikörperantwort; in: Kurzes Lehrbuch der Immunologie; hrsg .v. Roitt IM, Borstoff J, Male DK; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1991, 90 – 101

Floege J, Granolleras C, Bingel M, Descholdt G, Branger G, Oules R, Koch KM, Shaldon S (1987): Beta-2-microglobulin kinetics during haemodialysis and haemofiltration. *Nephrol Dial Transplant* 1, 223 – 228

Foret M, Hachache T, Meftahi H, Milongo R, Kuentz F, Christollet M, Alibeu C, Cordonnier DJ (1987): The long-term evaluation of the biocompatibility of nine different haemodialysis membranes. *Life Support Syst* 5, 203 – 206

Frank RD, Weber J, Dresbach H, Thelen H, Weiss C, Floege J (2001): Role of contact system activation in hemodialyzer-induced thrombogenicity. *Kidney Int* 60, 1972 – 1981

Frei U, Schober-Halstenberg HJ: Nierenersatztherapie in Deutschland; Bericht über Dialysebehandlung und Nierentransplantation in Deutschland 2002/ 2003. Quasi – Niere gGmbH, Berlin, 2004, 7 – 8

Gejyo F, Odani S, Yamada T, Homma N, Saito H, Suzuki Y, Nakagawa Y, Koboyashi H, Maruyama Y, Hirasawa Y, Suzuki M, Arakawa M (1985): A new form of amyloid protein associated with chronic haemodialysis was identified as  $\beta_2$ -M. *Biochem Biophys Res Commun* 129, 701 – 706

Goldman M, Lietaer N, Lambert P, Thayse C, Vanherweghem JL (1987): Complement activation and leucopenia on cellulosic haemodialyzers: influence of the membrane area and role of hydroxyl moieties. *Life Support Syst* 5, 317 – 322

Greaves SC, Sharpe DN (1992): Cardiovascular disease in patients with end stage renal failure. *Aust NZ J Med* 22, 153 – 159

Gurland HJ, Davison AM (1994): Defining terminology for biocompatibility. *Nephrol Dial Transplant* 9 Suppl 2, S3 – S10

Gutierrez A, Alvestrand A, Bergstrom J, Beving H, Lantz B, Henderson LW (1994): Biocompatibility of hemodialysis membranes: a study in healthy subjects. *Blood Purif* 12, 95 – 105

Haas G (1925): Versuche der Blutauswaschung am Lebenden mit Hilfe der Dialyse. *Klin Wochenschr* 4, 13 – 14

Hakim RM, Breillat J, Lazarus M, Port FK (1984): Complement activation and hypersensitivity reactions to dialysis membranes. *N Engl J Med* 311(14), 878 – 882

Hakim RM (1993): Clinical implications of hemodialysis membrane biocompatibility. *Kidney Int* 44, 484 – 494

Hakim RM (1995): Recent advances in the biocompatibility of haemodialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant* 10 Suppl 10, 7 –11

Hakim RM, Held PJ, Stannard DC, Wolfe RA, Port FK, Daugirdas JT, Agodoa L (1996): Effect of the dialysis membrane on mortality of chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 50, 566 – 570

Hakim RM, Himmelfarb J: Biocompatibility – Principles; in: Replacement of the renal function by dialysis; hrsg. v. Jacobs C, Kjellstrand CM, Koch KM, Kluwer academic publishers 1996

Henderson LW: Biophysics of ultrafiltration and hemofiltration. In: Jacobs C, Kjellstrand CM, Koch KM, Winchster JF (eds.): Replacement of renal function by dialysis. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London 1996, 4. Ausgabe, 114 – 145

Hillion D, Terki NH, Savoie C et al. (1999): Albumin loss with high-flux dialysers is underestimated. *J Am Soc Nephrol* 10, 283A

Hoening NA, Frost TH, Kerr DNS (1979): Dialysers; in: Replacement of renal function by dialysis; hrsg. v. Drukker F, Parsons FM, Maher JF, The Hague/ Boston/ London, Martinus Nijhoff Publishers, 80 – 124

Hoening NA, Levett D, Fawcett S, Woffindin C, Kerr DN (1986): Biocompatibility of haemodialysis membranes. *J Biomed Eng* 8, 3 – 8

Hoening NA, Woffindin C, Matthews JN, Goldfinch ME, Turnbull J (1994): Clinical comparison of high-flux cellulose acetate and synthetic membranes. *Nephrol Dial Transplant* 9, 60 – 66

Hörl WH, Riegel W, Schollmeyer P (1987): Plasma levels of main granulocyte components in patients dialyzed with polycarbonate and cuprophan membranes. *Nephron* 45, 272 – 276

Hong J, Nilsson Ekdahl K, Reynolds H, Larsson R, Nilsson B (1999): A new in vitro model to study interaction between whole blood and biomaterials. Studies of platelet and coagulation activation and the effect of aspirin. *Biomaterials* 20, 603 – 611.

Jaconi S, Saurat JH, Siegenthaler G (1996): Analysis of normal and truncated holo- and apo-retinol-binding protein (RBP) in human serum: altered ratios in chronic renal failure. *Eur J Endocrinol* 134, 566 – 582

Jirka T, Cesare S, Di Benedetto A, Perera Chang M, Ponce P, Richards N (2005): The impact of on-line haemodiafiltration (HDF) on patient survival: results from a large network database. *Nephrol Dial Transplant* 20 Suppl. 5, 18 – 19

Johnson RJ (1994): Complement activation during extracorporeal therapy: biochemistry, cell biology and clinical relevance. *Nephrol Dial Transplant* 9 Suppl 2, 36 – 45

Kalantar-Zadeh K, Brennan ML, Hazen SL (2006): Serum myeloperoxidase and mortality in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 48, 59 – 68

Kaplow LS, Goffinet JA (1968): Profound neutropenia during the early phase of hemodialysis. *JAMA* 203, 1135 – 1137

Kiil F (1960): Development of a parallel-flow artificial kidney in plastics. *Acta Chir Scand Suppl.* 253, 142 – 150

Klahr S (1991): Chronic renal failure: management. *Lancet* 338, 423 – 427

Klinkmann H, Davison AM (1994): The biocompatibility puzzle--partly solved, partly enigmatic. *Nephrol Dial Transplant* 9 Suppl 2:184 – 186

Klinkmann H, Vienken J (1995): Membranes for dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 10 Suppl 3, 39 – 45

Kolff WJ, Berk HT (1943): De kunstmatige nier, een dialysator met groot oppervlak. *Ned Tijdschr Geneeskd* 87, 1684 – 1688

Kolb G, Fischer W, Schoenemann H, Bathke K, Höffken H, Müller T, Lange H, Joseph K, Havemann K (1989): Effect of cuprophan, hemophan and polysulfone membranes in the oxidative metabolism, degranulation reaction, enzyme release and pulmonary sequestration of granulocytes. *Contrib Nephrol* 74, 10 – 21

Kolff WJ, Watschinger B (1956): Further development of a coil kidney; disposable artificial kidney. *J Lab Clin Med* 47, 969 – 977

Kosch M, Levers A, Fobker M, Barenbrock M, Schaefer RM, Rahn KH, Hausberg M (2003): Dialysis filter type determines the acute effect of haemodialysis on endothelial function and oxidative stress. *Nephrol Dial Transplant* 18, 1370 – 1375

Krieter DH, Grude M, Lemke HD, Fink E, Bönner G, Schölkens BA, Schulz E, Müller GA (1998): Anaphylactoid reactions during hemodialysis in sheep are ACE inhibitor-dependent and mediated by bradykinin. *Kidney Int* 53, 1026 – 1035

Krieter DH, Canaud B (2003): What is the limit of albumin loss? *Nephrol Dial Transplant* 18, 651 – 654

Krieter DH, Falkenhain S, Chalabi L, Collins G, Lemke HD, Canaud B (2005 a): Clinical cross-over comparison of mid-dilution hemodiafiltration using a novel dialyzer concept and post-dilution hemodiafiltration. *Kidney Int* 67, 349 – 356

Krieter DH, Lemke HD, Canaud B, Wanner C (2005 b): Beta2-microglobulin removal by extracorporeal renal replacement therapies. *Biochem Biophys Acta* 1753, 146 – 153

Krieter DH, Lemke HD, Wanner C (2006): Myeloperoxidase serves as a marker of oxidative stress during single haemodialysis session using two different biocompatible dialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant* 21, 546

Krieter DH, Morgenroth A, Barasinski A, Lemke HD, 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, 491 – 499



Lemke HD, Heidland A, Schaefer RM (1990): Hypersensitivity reactions during haemodialysis: role of complement fragments and ethylene oxide antibodies. *Nephrol Dial Transplant* 5(4), 264 – 269

Lewis SL, Van Epps DE, Chenoweth DE (1987): Leukocyte C5a receptor modulation during hemodialysis. *Kidney Int* 31(1), 112 – 120

Leyboldt JK (2000): Solute fluxes in different treatment modalities. *Nephrol Dial Transplant* 15 (Suppl. 1), 3 – 9

Lüscher EF (1987): Activated Leukocytes and the Hemostatic System. *Rev Infect Dis* 9 Suppl 5, S546 – S552

Lysaght MJ (1995): Evolution of hemodialysis membranes. *Contrib Nephrol* 113, 1 – 10

Maduell F, Navarro V, Cruz MC, Torregrosa E, Garcia D, Simon V, Ferrero JA (2002): Osteocalcin and myoglobin removal in on-line hemodiafiltration versus low- and high-flux hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 40, 582 – 589

Magliano DJ, Liew D, Ashton EL, Sundararajan V, McNeil JJ (2003): Novel biomedical risk markers for cardiovascular disease. *J Cardiovasc Risk* 10, 41 – 55

Mandolfo S, Tetta C, David S, Gervasio R, Ognibene D, Wratten ML, Tessore E, Imbasciati E (1997): In vitro and in vivo biocompatibility of substituted cellulose and synthetic membranes. *Int J Artif Organs* 20, 603 – 609

Morena M, Cristol JP, Bosc JY, Tetta C, Forret G, Leger CL, Delcourt C, Papoz L, Descomps B, Canaud B (2002): Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 17, 422 – 427

Morena M, Delbosc S, Dupuy AM, Canaud B, Cristol JP (2005): Overproduction of reactive oxygen species in end-stage renal disease patients: a potential component of hemodialysis-associated inflammation. *Hemodial Int* 9, 37 – 46

Müller-Eberhard HJ (1988): Molecular organization and function of the complement system. *Ann Rev Biochem* 57, 321

Murthy BV, Sundaram S, Jaber BL, Perrella C, Meyer KB, Pereira BJ (1998): Effect of formaldehyde/bleach reprocessing on in vivo performances of high-efficiency cellulose and high-flux polysulfone dialyzers. *J Am Soc Nephrol* 9, 464 – 472

Oliveira GH (2005): Novel serologic markers of cardiovascular risk. *Curr Atheroscler Rep* 7, 148 – 154

Ono K, Ueki K, Inose K, Tsuchida A, Yano S, Nojima Y (2000): Plasma levels of myeloperoxidase and elastase are differentially regulated by hemodialysis membranes and anticoagulants. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 108, 341 – 349

Opatrny K Jr, Krouzdecky A, Polanska K, Mares J, Tomsu M, Bowry SK, Vienken J (2006): Does an alteration of dialyzer design and geometry affect biocompatibility parameters? *Hemodial Int* 10, 201 – 208

Reeves EP, Lu H, Jacobs HL, Messina CG, Bolsover S, Gabella G, Potma EO, Warley A, Roes J, Segal AW (2002): Killing activity of neutrophils is mediated through activation of proteases by K<sup>+</sup> flux. *Nature* 416, 291 – 297

Ronco C, Brendolan A, Lupi A, Metry G, Levin NW (2000): Effects of a reduced inner diameter of hollow fibers in hemodialyzers. *Kidney Int* 58, 809 – 817

Ronco C, Bowry S (2001): Nanoscale modulation of the pore dimensions, size distribution and structure of a new polysulfone-based high-flux dialysis membrane. *Int J Artif Organs*; 24, 726 – 735

Ronco C, Bowry SK, Brendolan A, Crepaldi C, Soffiati G, Fortunato A, Bordoni V, Granziero A, Torsello G, La Greca G (2002): Hemodialyzer: from macro-design to membrane nanostructure; the case of the FX-class of hemodialyzers. *Kidney Int Suppl.*, 126 – 142

Sargent JA, Gotch FA: Principles and biophysics of dialysis. In: Jacobs C, Kjellstrand CM, Koch KM, Winchster JF (eds.): Replacement of renal function by dialysis. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London, 4. Ausgabe 1996, 34 – 102

Schaefer RM, Rautenberg W, Neumann S, Heidland A, Horl WH. (1986): Improvement of dialyzer compatibility by reduction of membrane surface area. *Clin Nephrol 26 Suppl 1*: S35 – 38

Schaefer RM, Horl WH, Kokot K, Heidland A (1987): Enhanced biocompatibility with a new cellulosic membrane: Cuprophan versus Hemophan. *Blood Purif 5*, 262 – 267

Schaefer RM, Fink E, Schaefer L, Barkhausen R, Kulzer P, Heidland A (1993): Role of bradykinin in anaphylactoid reactions during haemodialysis with AN69 dialyzers. *Am J Nephrol 13*, 473 – 477

Schäfer RM, Hörl WH: Design, Leistung, Biokompatibilität und Wiederverwendung von Hämodialysatoren und Wirkung auf den Proteinkatabolismus; in: Blutreinigungsverfahren; hrsg. v. Franz HE, Hörl WH; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1997, 93 – 99

Schiffel H, Lang SM, Stratakis D, Fischer R (2001): Effects of ultrapure dialysis fluid on nutritional status and inflammatory parameters. *Nephrol Dial Transplant*, 16, 1863 – 1869

Schindler R, Lonnemann G, Shaldon S, Koch KM, Dimarello CA (1989): Induction of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor during in vitro haemodialysis with different membranes. *Contrib Nephrol* 74, 58 – 65

Schindler R, Ertl T, Beck W, Lepenies J, Boenisch O, Oppermann M, Kaspar E, Frei U (2006): Reduced cytokine induction and removal of complement products with synthetic hemodialysis membranes. *Blood Purif* 24, 203 – 211

Schreiner GE (1993): Dawn of dialysis. *ASAIO J* 39(4), 828 – 833

Schulman G (1993): A review of the concept of biocompatibility, *Kidney Int Suppl* 41, 209 – 212

Shaldon S, Dinarello CS (1987): The relationship between biocompatibility and interleukin1, *Life Support Syst* 5(4), 341 – 345

Shinzato T, Miwa M, Nakai S, Takai I, Matsumoto Y, Morita H, Miyata T, Maeda K (1996): Alternate repetition of short fore- and backfiltrations reduces convective albumin loss. *Kidney Int* 50, 432 – 435

Sieberth HG: Erkrankungen der Niere; in: *Die innere Medizin*; hrsg. v. Gross R; F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1994, 648 – 693

Singh U, Jialal I (2006): Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology* 13, 129 – 142

Spalding EM, Chamney PW, Farrington K (2002): Phosphate kinetics during hemodialysis: Evidence for biphasic regulation. *Kidney Int* 61, 655 – 657

Sperschneider H, Deppisch R, Beck W, Wolf H, Stein G (1997): Impact of membrane choice and blood flow pattern on coagulation and heparin requirement--potential consequences on lipid concentrations. *Nephrol Dial Transplant* 12, 2638 – 2646

Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström J (2000): Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transplant* 15, 953 – 960

Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Pecoits-Filho R, Riella M, Heimbürger O, Cederholm T, Girndt M (2005): IL-10, IL-6, and TNF-alpha: central factors in the altered cytokine network of uremia--the good, the bad, and the ugly. *Kidney Int* 67, 1216 – 1233

Stewart RD, Cerny JC, Mahon HI (1964): The capillary „kidney“: preliminary report. *Univ Mich Med Center J* 30, 116 – 118

Stiller S, Xu XQ, Gruner N, Vienken J, Mann H (2002): Validation of a two-pool model for the kinetics of beta2-microglobulin. *Int J Artif Organs* 25, 411 – 420

Tepel M, van der Giet M, Statz M, Jankowski J, Zidek W (2003): The antioxidant acetylcysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure: a randomized, controlled trial. *Circulation* 107, 992 – 955

Thalhimer W (1937): Experimental exchange transfusions for reducing azotemia. Use of artificial kidney for this purpose. *Proc Soc Exp Biol Med*, 641

Vaithilingam I, Polkinghorne KR, Atkins RC, Kerr PG (2004): Time and exercise improve phosphate removal in haemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 43, 85 – 89

Vanholder R, Glorieux G, De Smet R, Lameire N; European Uremic Toxins Work Group (2003): New insights in uremic toxins. *Kidney Int* 63 Suppl. 84, S6 – S10

Verbeelen D, Jochmans K, Herman AG, Van der Niepen P, Sennesael J, De Waele M (1991): Evaluation of platelets and hemostasis during hemodialysis with six different membranes. *Nephron* 59, 567 – 572

Verresen L, Waer M, Vanrenterghem Y, Michielsen P (1990): Angiotensin-converting-enzyme inhibitors and anaphylactoid reactions to high-flux membrane dialysis. *Lancet* 336, 1360 – 1362

Vincent C, Revillard JP, Galland M, Traeger J (1978): Serum  $\beta_2$ -microglobulin in hemodialysis patients. *Nephron* 21, 260 – 268

Walter J, Taraba I (1991): Dialysis hypersensitivity. *Nephrol Dial Transplant* 6 Suppl 3, 47 – 49

Ward RA, McLeish KR (1995): Hemodialysis with cellulose membranes primes the neutrophil oxidative burst. *Artif Organs* 19, 801 – 807

Ward RA, Schmidt B, Hullin, J, Hillebrand GF, Samtleben W (2000): A comparison of on-line hemodiafiltration and high-flux hemodialysis: a prospective clinical study. *J Am Soc Nephrol* 11, 2344 – 2350

Ward RA (2005): Protein-leaking membranes for hemodialysis: A new class of membranes in search of an application. *J Am Soc Nephrol* 16, 2421 – 2430

Ward RA, Greene T, Hartmann B, Samtleben W (2006): Resistance to intercompartmental mass transfer limits beta(2)-microglobulin removal by post-dilution hemodiafiltration. *Kidney Int* 69, 1431 – 1437

Wauters JP (1995): Biocompatibility aspects of chronic hemodialysis and their clinical relevance. Clin Nephrol 44 Suppl 1, S19 – S23

Wu CC, Chen JS, Wu WM, Liao TN, Chu P, Lin SH, Chuang CH, Lin YF (2005): Myeloperoxidase serves as a marker of oxidative stress during single haemodialysis session using two different biocompatible dialysis membranes. Nephrol Dial Transplant 20, 1134 – 1139

Yamada T, Akiba T, Sasaki S (2001): Analysis of beta(2)-microglobulin kinetics in hemodialysis by a modified variable-volume one-compartment model. Blood Purif 19, 388 – 394

## Danksagung

Mein erster Dank gilt Herrn Prof. Dr. Wanner für die Überlassung des Themas der vorliegenden Dissertation. Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Dr. Krieter für die Einarbeitung und Unterstützung bei der Durchführung der Versuche sowie für die konstruktive Kritik bei der Erstellung der Dissertation. Mein besonderer Dank gilt den Patienten des Dialysezentrums Erlenbach, ohne deren Bereitschaft zur Teilnahme an den Versuchen diese Dissertation nicht möglich gewesen wäre. Meiner Frau Eva danke ich für ihr Verständnis und die moralische Unterstützung während der Erstellung dieser Arbeit.