

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

Direktor: Professor Dr. med. G. Ertl

**EINFLUSS VON DIALYSEVERFAHREN UND
DIALYSEMEMBRANPERMEABILITÄT AUF DIE ENTFERNUNG
VON URÄMIETOXINEN**

Inaugural-Dissertation

**zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der**

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

**Andrea Hackl
aus Neukirchen b. Hl. Blut**

Würzburg, März 2011

Referent:

Prof. Dr. med. C. Wanner

Koreferent:

Prof. Dr. med. Peter Kranke

Dekan:

Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung:

08.07.2011

Die Promovendin ist Ärztin.

Inhaltsverzeichnis:

1. EINLEITUNG	1
1.1. Übersicht	1
1.2. Historische Entwicklung	2
1.3. Urämietoxine	4
1.4. Ziel der Studie	7
2. MATERIAL UND METHODEN	8
2.1. Votum des Ethik-Komitees	8
2.2. Kurzbeschreibung der Studie	8
2.3. Studienein und -ausschlusskriterien	9
2.4. Patientencharakterisierung	10
2.5. Dialysegeräte/Extrakorporales System/Wasseraufbereitung	12
2.6. Versuchsdialysatoren	12
2.7. Versuchsdurchführung	14
2.7.1. Dialysatsammlung	15
2.7.2. Blutprobenentnahme	15
2.7.3. Hämatokritbestimmung	16
2.7.4. Messung der Parameter in Plasma und Dialysat	16
2.7.4.1. Messung der kleinmolekularen Substanzen	17
2.7.4.2. Messung der mittelmolekularen Substanzen	18
2.7.4.3. Messung von ADMA und Interleukin-6	18
2.7.4.4. Messung der proteingebundenen Urämietoxine im Blutplasma	19

2.8. Berechnung der Behandlungseffizienz	23
2.9. Statistische Auswertung	24
3. ERGEBNISSE	25
3.1. Klinische Beobachtungen	25
3.2. Dokumentation der Behandlungsparameter	25
3.3. Performance-Messungen	26
3.3.1. Plasmaclearances	26
3.3.1.1. Kleinmolekulare Substanzen	26
3.3.1.2. Mittelmolekulare Substanzen	30
3.3.2. Reduktionsraten der mittelmolekulargewichtigen Proteine	34
3.3.3. Reduktionsraten der proteingebundenen Urämietoxine	39
3.3.4. Dialysatmassentransfer	43
3.3.5. Dialysatmassentransfer der proteingebundenen Urämietoxine	47
3.3.6. Kinetik der Urämietoxine	50
3.4 Plasmakonzentration proteingebundenen Urämietoxine und Masse im Dialysatpool	54
4. DISKUSSION	57
4.1. Bewertung der Performanceparameter der klein- und mittelmolekulargewichtigen Substanzen	58
4.2. Proteingebundene Urämietoxine	66
4.3 Fazit	71
5. ZUSAMMENFASSUNG	73
6. LITERATURVERZEICHNIS	75

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

87

8. DANKSAGUNG

9. LEBENSLAUF

1. EINLEITUNG

1.1. Übersicht

Die Niere übernimmt vielfältigste Aufgaben im menschlichen Körper. Unter anderem sorgt sie für die Ausscheidung von Stoffwechselendprodukten, die Bilanzierung des Wasserhaushalts und die Regulation des Elektrolyt- und Säure-Basenhaushalts. Zudem betreibt die Niere Gluconeogenese und produziert das Hormon Erythropoetin und aktives Vitamin D₃. Sowohl das akute als auch das chronische Nierenversagen können lebensbedrohliche Erkrankungen darstellen. Als Nierenersatzverfahren stehen die Hämodialyse, die Peritonealdialyse sowie die Nierentransplantation zur Verfügung. Die extrakorporale Blutwäsche, durch die die exkretorische Funktion der Niere teilweise über viele Jahre hinweg apparativ ersetzt werden kann, gilt als eine der größten Errungenschaften der Medizin. Laut dem „Bericht über Dialysebehandlung und Nierentransplantation in Deutschland 2006/2007“ (Frei & Schober-Halstenberg 2006/2007) wurden in Deutschland 66508 Patienten im Jahr 2006 mit Dialyse versorgt. Davon wurden 63307 Patienten mit einem extrakorporalen Dialyseverfahren behandelt: Hämodialyse war mit 81% bis 95% das eindeutig führende Verfahren, Hämodiafiltration wurde zwischen 5% und 21% und Hämofiltration zwischen 0% und 1% eingesetzt. Weitere 3201 Patienten (4,8%) wurden mit Peritonealdialyse therapiert. Obwohl die Dialysetechnik im letzten Jahrhundert stetig weiterentwickelt und verbessert wurde, sehen sich Ärzte und Wissenschaftler noch immer mit einer signifikant über dem Niveau der Normalbevölkerung liegenden Morbidität und Mortalität bei Dialysepatienten konfrontiert (Hakim et al. 1996). Da gleichzeitig die Zahl der dialysepflichtigen Patienten stetig ansteigt (Frei & Schober-Halstenberg 2006/2007), bleibt die Verbesserung und Weiterentwicklung apparativer Nierenersatzverfahren Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Bemühungen.

1.2. Historische Entwicklung der Dialysemembranen

Die Etablierung der Hämodialyse als ein verbreitetes klinisches Therapiekonzept ist eng verknüpft mit der Entwicklung geeigneter Dialysemembranen.

Die allerersten Dialysemembranen waren aus natürlichen Materialien wie zum Beispiel Ochsenblasen, Schafperitoneum oder Pergamentpapier. Diese Materialien haben den Nachteil, dass ihre chemischen Eigenschaften nicht vorhergesehen werden können. Künstliche Membranen hingegen werden unter definierten physikalischen und chemischen Bedingungen hergestellt. Das erste künstliche Membranmaterial war Kolloidon und Zellulosenitrat (Vienken et al. 1999).

Die Gesetze der Diffusion, auf deren Prinzipien die Hämodialyse basiert, wurden 1855 von dem deutschen Physiologen Adolf Fick beschrieben (Karpman 1975). Der Schotte Thomas Graham prägte sechs Jahre später, im Jahre 1861, den Begriff Dialyse. Mit diesem Begriff beschrieb er die Auftrennung von Kristalloiden und Kolloiden durch eine Pergamentmembran und deren unterschiedliche Diffusionsraten (Schreiner 1993). Nachdem von Graham, Fick und anderen Wissenschaftlern die theoretischen Grundlagen für die apparative Blutwäsche geschaffen worden waren, dialysierten Abel, Rowntree und Turner im Jahr 1913 erstmals in Baltimore einen narkotisierten Hund. Hierfür wurde sein Blut durch semipermeable Membranschläuche gepumpt. Diese bestanden aus Kolloidon, einem Membranmaterial auf Zellulosebasis. In Deutschland beschäftigte sich zur selben Zeit der Internist Georg Haas mit der Entwicklung eines Apparates zur extrakorporalen Blutwäsche. Haas scheiterte allerdings anfangs an ungeeignetem Membranmaterial. Die erste Hämodialyse am Menschen konnte er erst 1924 durchführen, nachdem er von den Abel'schen Arbeiten erfahren hatte und nun auch Kollodionschläuche benutzte (Haas 1925). Ein weiterer entscheidender Schritt in der Weiterentwicklung von Dialysemembranen gelang 1937 W. Thalhimer, der Zellophan als ein geeignetes Material zur Dialyse erkannte

(Benedum 2003). Thalhimer benutzte zusätzlich erstmals Heparin statt Hirudin zur Gerinnungshemmung (Thalhimer et al. 1938).

Der Niederländer Willem Kolff konstruierte 1943 die erste Trommelniere, für die er das Prinzip der Archimedischen Schraube verwendete. Das Blut floss von der Arterie in Zellophanschläuche, die, auf ein Holzgitter gespannt, in einem Dialysatbad rotierten (Kolff & Berk 1943; Benedum 2003). W. Kolff dialysierte 1945 erstmals eine Patientin erfolgreich mit seiner Trommelniere, für die er Zellophanschläuche verwendete. Die Trommelniere war jedoch für den klinischen Einsatz ungeeignet und erst 1946 gelang Nils Alwall die Entwicklung einer künstlichen Niere, die auch im klinischen Alltag verwendbar war.

Alwalls Konstruktion ähnelte derjenigen von W. Kolff, jedoch konnte bei Alwall durch negativen Druck in dem Behälter, in dem sich die künstliche Niere befand, zusätzlich zur Diffusion auch Ultrafiltration betrieben werden (Vienken et al. 1999).

Der Norweger Kiil entwickelte 1960 einen Plattendialysator bei dem er Cuprophon als Material verwendete. Cuprophon hatte den Vorteil, dass es durchlässiger war als andere Zellulosemembranen und dass es seltener zu Rissen in der Membran kam (Vienken et al. 1999).

In den siebziger und achtziger Jahren des letzten Jahrhunderts hat sich die Dialysebehandlung von einem experimentellen Konzept zu einer Routinebehandlung entwickelt. Im praktischen Gebrauch hat sich herausgestellt, dass Cuprophon zwei wesentliche Nachteile hat: Zum einen die mangelhafte Biokompatibilität und zum anderen ist Cuprophon nur für den low-flux-Gebrauch geeignet.

Einerseits wurden nun modifizierte Zellulosemembranen entwickelt und andererseits wurde auch an neuen Membranmaterialien geforscht. Fasst man die Ergebnisse dieser wissenschaftlichen Bemühungen zusammen, so können Dialysemembranen aus einer von drei Materialhauptgruppen stammen: modifizierte Zellulose, ein Beispiel hierfür wäre Cuprophon, regenerierte Zellulose oder synthetische Membranen. Synthetische Membranen zeichnen sich durch eine hohe Biokompatibilität und sehr gute Filtrationseigenschaften aus. Beispiele für synthetische Polymere sind Polyacrylonitril, Polyamid,

Polysulphon und Polyethersulphon. Aus letzterem bestehen auch die in der vorliegenden Studie untersuchten Membranen PUREMA[®] H und H+.

1.3. Urämietoxine

Durch Nachlassen der exkretorischen Nierenfunktion kommt es zur Akkumulation von Urämietoxinen. Diese sind mitverantwortlich für die hohe Rate kardiovaskulärer Erkrankungen bei niereninsuffizienten Patienten (Bammens et al. 2006, Taki et al. 2007, Jourde-Chiche et al. 2009). Vanholder fordert in seinem Artikel „New insights in uremic toxins“ im Jahr 2003, dass die Identifikation und Klassifikation der harnpflichtigen Substanzen, die mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergehen, voranzutreiben ist, um die Lebensqualität und –erwartung dialysepflichtiger Patienten zu verbessern. In diesem Zusammenhang sollen Dialysetechniken, welche die Elimination der als toxisch anzusehenden Substanzen verbessern, mehr ins Interesse der Forschung und Entwicklung rücken (Vanholder et al. 2003 und 2008, Jourde-Chiche et al. 2009). Aktuell sind uns ca. 115 Substanzen als Urämietoxine bekannt (Vanholder et al. 2008), von denen 31 an Proteinen gebunden im Körper vorkommen (Jourde-Chiche et al. 2009). In der vorliegenden Studie wurden elf der Urämietoxine untersucht, deren Akkumulation im menschlichen Körper verschiedene pathophysiologische Konsequenzen hat

Aus der Gruppe der kleinmolekularen wasserlöslichen Substanzen wurden Harnstoff, Phosphat und Kreatinin hinsichtlich ihrer Elimination während der Dialysebehandlung eingehend betrachtet. Harnstoff ist ein kleines Molekül mit einem Gewicht von 60 Da, dessen toxische Effekte, z. B. die Inhibition des NaK₂CL-Kotransporters in menschlichen Erythrozyten (Lim et al. 1995) oder des L-Arginin-Transports und der endothelialen NO-Synthase-Aktivität (Xiao et al. 2001), vor allem in vitro bewiesen wurden. Dennoch ist die Elimination von Harnstoff weiterhin ein wesentlicher Marker zur Beurteilung der Dialysequalität in Form von Harnstoffreduktionsrate und Kt/V. Die Konsequenzen einer Hyperphosphatämie hingegen werden in Form von Pruritus und sekundärem Hyperparathyreoidismus auch klinisch deutlich (Coburn & Salusky 1989).

Kreatinin ist ein Marker für die Nierenfunktion, der schon seit langem im klinischen Alltag eingesetzt wird. Die Kreatininclearance gilt als sensitiverer Wert zur Beurteilung der Nierenfunktion. Erhöhte Serumkreatininspiegel gehen laut der Cardiovascular Health Studie mit einer erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität einher (Herold und Mitarbeiter 2007).

Eine weitere Gruppe von Urämietoxinen sind die kleinmolekulargewichtigen Proteine, zu denen unter anderem die Mittelmoleküle β_2 -Mikroglobulin und Cystatin C sowie die etwas größeren Retinol bindendes Protein und Myoglobin gezählt werden. β_2 -Mikroglobulin (11800 Da) ist ein Polypeptid, das die β -Kette des HLA-Klasse-I Moleküls bildet und dessen Serumkonzentration im urämischen Patienten das 60-fache des Normwerts erreichen kann. Einer der Faktoren, die eine Dialyse-assoziierte Amyloidose begünstigen sind erhöhte β_2 -Mikroglobulin-Werte (Menaar et al. 2008; Yavuz et al. 2005). Das Retinol bindende Protein (21000 Da) ist ein Transporter für Retinol und kommt sowohl in freier (apo), als auch in an Retinol gebundener (holo) (+286 Da; Frey et al. 2008) Form vor. Die Hälfte der holo-Proteine wiederum ist im Serum an Transthyretin gebunden. Das ungebundene holo-Protein steht in Verdacht verantwortlich für die erhöhte Vitamin A-Aufnahme im Gewebe und somit auch für die daraus resultierende Hypervitaminose zu sein (Jaconi et al. 1996). Deren Folgen sind Appetitverlust, Haarausfall, Austrocknung der Haut, Mundwinkelrhagaden und in seltenen sehr ausgeprägten Fälle eine Leberzirrhose (Brigelius-Flohé 2008). Des Weiteren wurde RbP4, das von der Leber, dem Fett- und dem Muskelgewebe gebildet wird im Dialysat von an akutem Nierenversagen erkrankten Patienten gefunden und mit eingeschränkter Leukozytenfunktion in Zusammenhang gebracht. Chemotaxis, Apoptose und Oxidationsmechanismen waren in Abhängigkeit von der Konzentration gestört (Cohen & Hörl 2004). Cystatin C (13000 Da) ist ein basisches Protein, das von allen kernhaltigen Zellen im menschlichen Körper produziert wird. Seine Produktion wird weder durch Inflammation oder Infektion, noch durch die Ernährung beeinflusst. Es wird angenommen, dass die Serum-Cystatin C-Werte mit der GFR korrelieren und gleichzeitig eine abfallende GFR sensitiver erkennen lassen als der Serumkreatininwert (Nitta et al. 2002).

Myoglobin, welches mit 17000 Da ein großes Molekül darstellt, wird aktuell in der Diagnostik des akuten Myokardinfarkts als biochemischer Marker genutzt. Da Myoglobin im Organismus chronisch niereninsuffizienter Patienten akkumuliert, ist dieser wichtige Infarktmarker in der akuten Phase bei Dialysepatienten nicht anwendbar. Myoglobin eignet sich außerdem als Marker für die Eliminationsleistung eines Dialysators im Bezug auf große Moleküle (Maduell et al. 2002).

ADMA (202 Da) ist ein methyliertes Derivat der Aminosäure Arginin und entsteht durch Protein-Methyl-Transferasen, die in Proteinen gebundenes Arginin methylieren. Erhöhte ADMA-Werte finden sich unter anderem bei Menschen mit chronischer Niereninsuffizienz. Bei diesen Patienten sind die erhöhten ADMA-Werte positiv mit dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse korreliert (Matsuguma et al. 2006). Der pathophysiologische Hintergrund hierzu ist die Inhibition der endothelialen NO-Synthase (Vallance et al. 1992).

Interleukin 6 (28000 Da) ist ein Protein aus der Gruppe der Zytokine, das bei Entzündungsreaktionen im menschlichen Körper eine wichtige Rolle spielt und gleichzeitig als Marker für diese verwendet wird. Erhöhte IL-6-Serumlevel gehen mit einem erhöhten CRP und mit Hypalbuminämie einher, was die Lebenserwartung der Patienten erniedrigt. Rao et al. konnten im Jahr 2005 in einer prospektiven Studie zeigen, dass IL-6 bei Dialysepatienten als Marker für erhöhte Morbidität, erhöhte kardiovaskuläre Mortalität und erhöhte Gesamtmortalität verwendet werden kann. Barreto et al. bestätigten dies 2010 und sprachen zudem von einer Überlegenheit von IL-6 als Prädiktor für Mortalität nicht nur für Dialysepatienten, sondern in allen Stadien der chronischen Niereninsuffizienz gegenüber den konventionellen Parametern CRP, Albumin und TNF- α .

P-Cresol ist eine volatile phenolische Verbindung, die ein Stoffwechselprodukt von Tyrosin und Phenylalanin darstellt und hauptsächlich von Darmbakterien produziert wird. Das Toxin kommt im Körper sowohl in glucuronidierter, als auch in sulfatierter Form vor. P-Cresol akkumuliert im Körper chronisch niereninsuffizienter Patienten und wird mit verschiedenen pathophysiologischen

Vorgängen, vor allem mit erhöhter kardiovaskulärer Mortalität (Bammens et al. 2006), in Zusammenhang gebracht (De Smet et al. 1998).

Indoxylsulfat wird in Leberzellen aus Indol, einem Abbauprodukt der Aminosäure Tryptophan, gebildet. Kentaro T et al. beschreiben in einem 2007 veröffentlichten Artikel, die negative Korrelation zwischen IS und HDL-Cholesterin bei HD-Patienten. HDL-Cholesterin gilt als gefäßprotektiv und ein Absinken der HDL-Werte im Blut ist mit endothelialer Dysfunktion vergesellschaftet. Erhöhte IS-Werte bei HD-Patienten korrelieren zudem positiv mit erhöhten Serumkreatininwerten, was, wie bereits erwähnt, laut der Cardiovascular Health Studie mit einer erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität einhergeht. Aus diesen Beobachtungen folgern Kentaro T et al., dass IS als potentieller Risikofaktor für Arteriosklerose bei Dialysepatienten anzusehen ist.

1.4. Ziel der Studie

Die Lebenserwartung chronisch hämodialysepflichtiger Patienten ist im Vergleich zur Normalbevölkerung signifikant erniedrigt. Eine verbesserte Clearance kleinmolekulargewichtiger Proteine wird als entscheidender Beitrag zur Optimierung einer adäquaten Nierenersatztherapie angesehen. Verglichen mit dem HD-Verfahren verbessert die Hämodiafiltration die Ausscheidung kleinmolekulargewichtiger Proteine entscheidend. Aktuell wird das Postdilutions-HDF-Verfahren mit „online“ bereiteter Infusionslösung allgemein als die effizienteste Methode angesehen das Blut extrakorporal zu reinigen (Meert et al. 2009). Sowohl die Effizienz des HD- als auch die des HDF-Verfahrens wird jedoch grundlegend von dem Typ der verwendeten Dialysemembran mitbestimmt. Momentan stellen synthetische High-Flux-Membranen wie die neuen PUREMA[®] H- und H+-Membranen die leistungsstärksten Membranen mit der höchsten Biokompatibilität dar, die zur extrakorporalen Blutreinigung eingesetzt werden können. Nachdem beide Membranen sowohl in vitro, als auch im Tierversuch getestet wurden, werden sie bereits erfolgreich im klinischen Alltag eingesetzt. Ziel der vorliegenden

Studie ist der klinische Vergleich der PUREMA[®] H- und H+ - Membranen sowohl im HD-, als auch im HDF- Verfahren hinsichtlich der Elimination klein- und mittelmolekularer und proteingebundener Toxine im Zusammenhang mit der Permeabilität der Membranen für Albumin.

2. Material und Methoden

2.1. Votum des Ethik-Komitees

Die vorliegende Studie wurde der „Freiburger Ethik-Kommission International“ zur Begutachtung vorgelegt. Mit Votum vom 06.08.2007 wurde sie genehmigt (laufende Auftragsnummer 07/1840) und über DIMDI der Regierung von Unterfranken unter der Formularnummer 0007565 gemeldet.

2.2. Kurzbeschreibung der Studie

In einer prospektiven, randomisierten „Cross-over-Studie“ an acht chronisch dialysepflichtigen Patienten wurden die synthetischen Dialysemembranen PUREMA[®] H und H+ hinsichtlich der Filtration von harnpflichtigen Toxinen im HD- bzw. im HDF-Modus verglichen. Die Membranen unterschieden sich hinsichtlich der Durchlässigkeit für kleinmolekulargewichtige Proteine. Die Studie bestand aus zwei Abschnitten: In den ersten beiden Wochen wurden die Patienten mit beiden Membranen randomisiert jeweils dreimal im HD-Verfahren therapiert. In den folgenden zwei Wochen wurde jeder Patient wiederum randomisiert mit beiden Membranen jeweils dreimal im Postdilutions-HDF-Modus behandelt. Die Dialysen fanden unter kontrollierten Behandlungsbedingungen (Blut-, Infusat- und Dialysatfluss sowie Behandlungsdauer) statt. Bei der jeweils dritten konsekutiven Behandlung mit der jeweiligen Membran im jeweiligen Modus wurden zu definierten Zeitpunkten Blut- und Dialysatproben entnommen. Daraus wurden die klein- (Harnstoff,

Kreatinin und Phosphat) bzw. mittelmolekularen (β 2-Mikroglobulin, Cystatin C, Myoglobin, Retinol bindendes Protein) Clearances, sowie die Reduktionsraten von Harnstoff, β 2-Mikroglobulin, Cystatin C, Myoglobin, Retinol bindendem Protein, Interleukin-6 und den proteingebundenen Toxinen ADMA, Paracresylsulfat und -glucuronid und Indoxylsulfat, bestimmt. Außerdem wurden vor und nach der Dialyse Albumin, Totalprotein und Hämatokrit im Blut gemessen. Ferner wurde der Dialysatmassentransfer von Albumin, Harnstoff, den mittelmolekularen und eiweißgebunden Toxinen ermittelt.

2.3. Studienein und -ausschlusskriterien

In die vorliegende Studie wurden acht Patienten eingeschlossen, die alle regelmäßig im Dialysezentrum des Universitätsklinikums Montpellier „Hôpital Lapeyronie“ nierenersatztherapiert wurden. Sie wurden vor Beginn der Studie über den Ablauf und die damit verbundenen Blutentnahmen und möglichen Risiken eingehend informiert. Nach schriftlicher Einwilligung wurden sie in die Studie aufgenommen.

Dabei gab es folgende Einschlusskriterien:

- Alter \geq 18 Jahre
- Chronisch dialysepflichtige Niereninsuffizienz
- HD- oder HDF-Behandlung seit mehr als drei Monaten
- Hämatokrit $>$ 30%
- Stabile Antikoagulation während HD bzw. HDF
- Stabile Erythropoetintherapie
- Funktionstüchtige arteriovenöse Fistel bzw. funktionstüchtiger zentralvenöser Zweibegekatheter als Dialysezugang
- keine aktive Infektion
- Schriftliche Einwilligung zur Studienteilnahme

Demgegenüber standen folgende Ausschlusskriterien:

- Nicht erfüllte Einschlusskriterien
- bekannte HIV- oder Hepatitis B- oder C-Infektion

- Schwangerschaft
- Klinisch instabile Patienten (z.B. kardiale oder vaskuläre Instabilität)
- Lebenserwartung unter 12 Monaten
- Bekannte Gerinnungsprobleme
- Gleichzeitige Teilnahme an anderen Studien, die mit der durchgeführten Studie interferieren

2.4. Patientencharakterisierung

Eine weibliche Patientin und sieben männliche Patienten nahmen an der Studie teil. Das Alter der Studienteilnehmer reichte von 50 bis 81 Jahren (Mittelwert 63 ± 12 Jahre). Das mittlere Körpergewicht der Patienten nach Dialyse lag bei $70,8 \pm 18,6$ kg. Die Dialysepflichtigkeit reichte von 3 bis 360 Monaten und betrug im Mittel 73,3 Monate.

Die chronische Niereninsuffizienz wurde bei zwei Patienten durch ein multiples Myelom verursacht. Bei jeweils einem weiteren Patienten lag eine diabetische Nephropathie bzw. eine hypertensive Nierenerkrankung vor. Die terminale Niereninsuffizienz wurde bei jeweils einem weiteren Patienten durch eine primäre Amyloidose bzw. durch einen Lupus erythematodes verursacht. Bei einem der Patienten war die renale Grunderkrankung unbekannt. Bei keinem der Patienten war eine Restnierenfunktion erhalten.

Eine detaillierte Charakterisierung der Patienten zeigt Tabelle A.

Patienten-initialen	Alter	Geschlecht	Trockengewicht	Gefäßzugang	Standarddialysator	Heparin-gesamt-dosis (U.I.)	Dialyse seit (Monate)	Renale Grund-erkrankung	Nebendiagnosen/ wichtige Vorerkrankungen
RSO	56	männlich	106,5	rechter Unterarm	Fresenius HF80S	7000	155	Diabetische Nephropathie	Parathyreoidektomie '02; CTS '03; Polyneuropathie; KHK; pAVK V; Diabetes mell. Typ 2
RA	52	männlich	81,5	Doppel-lumen-katheter	Fresenius HF80S	6500	4	Myelomniere	multiples Myelom
FR	63	männlich	66,5	Doppel-lumen-katheter	Fresenius HF80S	8000	10	Myelomniere	multiples Myelom; Hyperthyreoidismus; tiefe Beinvenenthrombose '97; COPD
AC	54	männlich	77,5	linker Unterarm	Fresenius HF80S	6500	360	Glomerulo-nephritis	
EB	81	männlich	72	rechter Unterarm	Fresenius HF80S	3000	17	Hypertensive Nephropathie	KHK, Z.n. Koronarstent '06; Linksherzinsuffizienz; pAVK IV; Diabetes mell. Typ 2
AB	75	männlich	61,5	Doppel-lumen-katheter	Fresenius HF80S	2 Amp. Organan	3	Primäre Amyloidose	HIT II; bilaterale renale Embolisation; KHK
JN	72	männlich	57	rechter Unterarm	Fresenius HF80S	8000	35	unbekannt	Charcot-Marie-Tooth-Krankheit
RSI	50	weiblich	41	Doppel-lumen-katheter	Fresenius HF80S	0	3	Glomerulo-nephritis	Lupus erythematodes; Thrombozytopenie; Antiphospholipid-Syndrom

Tabelle A: Detaillierte Patientencharakterisierung

2.5. Dialysegeräte/Extrakorporales System/Wasseraufbereitung

Für die Dialysen dieser Studie wurden Fresenius-Hämodialysegeräte des Typs 4008H (Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Deutschland) verwendet. Zur Ultrareinfiltration des Dialysats waren alle Geräte mit einem Dialysierflüssigkeitsfilter (Diasafe plus, online plus) der Firma Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Deutschland, ausgestattet. Das Dialysewasser wurde „online“ unter Verwendung von Kohle- (Pall-Industry, New York, USA) und Desinfektions-Filtern (Oxy-Aniolyse, Laboratoires Anios, Lille-Hellemmes, Frankreich) aufbereitet. Eingespeist wurde das Permeat nach Passage einer zentralen Umkehrosmoseanlage des Typs RO-3000TP der Firma RWA (Villeurbanne, Frankreich).

Als extrakorporaler Kreislauf wurde bei dieser Studie das Blutschlauchsystem Life-Line-Beta, AV-Set BRDT-R der Firma Fresenius Medical Care (Bad Homburg, Deutschland) verwendet.

2.6. Versuchsdialysatoren

Beide in dieser Studie untersuchten Hohlfaser-Dialysemembranen stellen synthetische High-flux-Membranen dar, die sowohl im HD-, als auch im Postdilutions-HDF-Modus getestet wurden. Der PUREMA[®] H- wurde die PUREMA[®] H+ -Dialysemembran, beide ein Produkt der Firma Membrana GmbH, Wuppertal, Deutschland, gegenübergestellt. Eine Zusammenfassung der technischen Daten der Dialysemembranen findet sich in Tabelle B.

Beide Membranen kamen in Form von 1,9 m² großen gammasterilisierten Kapillardialysatoren zum Einsatz, dem Baxter Xenium[®] 190- (Baxter Healthcare, McGaw Park, Illinois, USA) bzw. dem Nipro Pureflux[®] 190 H+-Dialysator (Nipro Corp., Nissho, Japan).

Beide Dialysatoren waren baugleich, das heißt Fadenzahl, Fläche, effektive Länge und Dimensionen der Membran sowie Design und Dimension der Gehäuse waren identisch.

PUREMA[®] H unterscheidet sich von PUREMA[®] H+ lediglich durch eine geringere Permeabilität. Beide Membranen bestehen aus dem hydrophoben Polymer Polyethersulfon und dem hydrophilen Poly-Vinyl-Pyrolidone (PVP). Bei diesen asymmetrisch aufgebauten Kapillarmembranen werden die Filtrationseigenschaften von der inneren Schicht bestimmt, während die grobporige mittlere Schicht das Stützgerüst der Membran bildet. Die äußere Schicht fungiert als Trennschicht gegenüber dem Dialysat. Ein spezielles Spinnverfahren hat zusätzlich zum asymmetrischen Aufbau gleichmäßigere Porengröße und -verteilung als bei herkömmlichen synthetischen Dialysemembranen zur Folge (Krieter et al. 2007).

Tabelle B: Technische Daten der untersuchten Dialysemembranen

	PUREMA[®] H	PUREMA[®] H+
Dialysatorbezeichnung	Baxter Xenium [®] 190	Nipro Pureflux [®] 190 H+
Membranmaterial	Polyethersulfon/PVP	Polyethersulfon/PVP
Oberfläche	1,9 m ²	1,9 m ²
Fadenzahl	Ca. 11000 Kapillaren	Ca. 11000 Kapillaren
Kapillarwandstärke	30 µm	30 µm
Kapillarlumen	200 µm	200 µm
Siebkoefizient Cytochrom C	0,9	0,9
Siebkoefizient	0,002	0,003
Albumin		
Länge der Kapillaren	265 mm	265 mm
mittlerer Porendurchmesser	8-9 nm	8-9 nm

2.7. Versuchsdurchführung

Jeder Patient wurde nach Randomisation der beiden Dialysemembranen jeweils dreimal mit jedem der beiden Dialysatoren im HD-Verfahren und anschließend jeweils dreimal mit beiden Versuchsdialysatoren im Postdilutions-HDF-Verfahren behandelt. Dabei wurde der individuelle Dialyserhythmus der Patienten beibehalten. Die Blutentnahmen und die Dialysatsammlung erfolgten jeweils erst bei der dritten Behandlung zu festgesetzten Zeiten. Die Versuchsdialysedauer betrug 229 ± 22 Minuten, war aber, wie die verschiedenen Flussraten, für den jeweiligen Patienten stets identisch. Der Blutfluss wurde auf 378 ± 33 ml/min, der Dialysatfluss auf 500 ± 0 ml/min eingestellt und wurde während der gesamten Versuchsdauer konstant gehalten. Im Postdilutions-HDF-Verfahren wurde der Infusatfluss auf 94 ± 9 ml/min, entsprechend 25% des Blutflusses, eingestellt. Vor der Dialyse erfolgte das Entlüften und Spülen des extrakorporalen Systems mit mindestens 2,5 L ultrareinem Infusat im „Single-pass“- Verfahren. Am Versuchsende wurde zur Blutrückgabe mit isotoner Kochsalzlösung (Mavoflex 500ml, MacoProductions, Mouvoux, Frankreich) gespült. Die individuell angepasste Antikoagulation wurde unverändert von den Routinedialysebehandlungen übernommen und erfolgte bei sechs Patienten mit unfraktioniertem Heparin-Natrium (Heparine Choay, 25000 U.I./5ml, Sanofi-Synthelabo France, Paris, Frankreich), das bei vier Patienten nach initialem Bolus anschließend kontinuierlich während der Behandlung infundiert wurde. Bei den anderen zwei Patienten (FR und JN) wurde beim Spülen des extrakorporalen Kreislaufs nach 2,5 L dem ultrareinen Dialysat jeweils 5000 I.U. Heparin zugefügt, so dass auf eine zusätzliche kontinuierliche Antikoagulation während der Behandlung nach initialem Bolus verzichtet werden konnte. Ein Patient erhielt wegen einer heparininduzierten Thrombozytopenie vom Typ II statt des unfraktionierten Heparins das Medikament Orgaran[®] (N.V. Organon, Oss, Niederlande), von dem eine Ampulle 750 Einheiten Danaparoid-Natrium enthält. Bei einem Patienten wurde wegen einer ausgeprägten Thrombozytopenie im Rahmen eines Lupus erythematodes auf eine Antikoagulation verzichtet.

Nach der Shuntpunktion wurden die ersten Blutentnahmen gemäß Entnahmeprotokoll direkt aus der Dialylenadel durchgeführt. Anschließend wurde der Patient mit dem arteriellen Schenkel des Blutschlauchsystems bei reduziertem Blutfluss an die Maschine angeschlossen. Nach der vollständigen Füllung des extrakorporalen Systems mit Blut wurde auch der venöse Schenkel des Blutschlauchsystems mit dem Patienten verbunden. Der Blutfluss wurde nun auf bis zu 400 ml/min erhöht. Der anschließende Start der Ultrafiltration war gleichbedeutend mit dem Versuchsbeginn.

2.7.1. Dialysatsammlung

Das anfallende Dialysat wurde während der gesamten Versuchsdauer mithilfe von hochpräzisen Rollerpumpen (Typ: ISM9230V4.01, Ismatec, Glattbrugg, Zürich, Schweiz) über ein spezielles Schlauchsystem (A/V 2000, Medizintechnik Promedt GmbH, Tornesch, Deutschland) in einer Menge von 10 ml/min gesammelt. Dabei wurde zwischen dem abführenden Dialysatschlauch und dem Abfluss ein Auffangbehälter installiert, aus dem das Dialysat in einen Sammelbehälter gepumpt wurde. Nach 30 min und nach 180 min Dialyse wurden Dialysatproben in jeweils vier Eppendorfreagiergefäße (2,5 µl) der Firma Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland) direkt aus dem Schlauchsystem getropft.

Am Versuchsende wurden aus dem gesammelten Dialysat nach Durchmischung Proben mit einer Transferpipette (3,5 ml, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) in weitere vier Eppendorfreagiergefäße gegeben und anschließend bei -20°C bis zur Probenmessung eingefroren. Das restliche Dialysat wurde verworfen.

2.7.2. Blutprobenentnahme

Die Tabelle C zeigt Schemata zu Art und Zeitpunkt der Blutprobenentnahmen. Prä-Dialyseabnahmen wurden direkt aus der Punktionsnadel unmittelbar nach der Shuntpunktion durchgeführt, während der Behandlung wurden arterielle

Abnahmen (a) stets aus einer Gummimuffe des arteriellen Schlauchs und venöse Abnahmen (v) aus einer Gummimuffe des venösen Schlauchs des extrakorporalen Systems entnommen. Zur Probengewinnung kam das Blutmonovetten-System der Firma Sarstedt (Nümbrecht, Deutschland) bzw. Venosafe 4,5 ml (Terumo Europe N.V., Leuven, Belgien) zur Anwendung. In den Venosafe-Monovetten war Litiumdioxidgel enthalten und es wurde Tetrahydrolipstatin hinzugefügt, um die Heparin-induzierte Lipaseaktivität und die Entstehung freier Fettsäuren, die mit den proteingebundenen Molekülen um die Bindungsplätze konkurrieren würden, in den Röhrchen zu verhindern. Außer den für die Hämatokritbestimmung vorgesehenen Monovetten wurden alle Blutproben frühestens 10 min und spätestens innerhalb von 30 min nach Entnahme für 10 min bei 3700 Umdrehungen/min zentrifugiert, das überstehende Plasma wurde in Eppendorf-Reagiergefäße (Micro-Tubes, 1,5 ml, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) pipettiert und bei -20°C bis zur Weiterbearbeitung eingefroren.

2.7.3. Hämatokritbestimmung

Vor und nach der Dialysebehandlung wurde der Hämatokrit der Patienten bestimmt. Dafür wurde Blut in 1,2 ml-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) abgenommen. Ein kleiner Teil dieses Blutes wurde in Mikro-Hämatokrit-Kapillaren (Brand, Wertheim, Deutschland) aufgezogen. Die Kapillaren wurden für 10 Minuten bei 7500 Umdrehungen/min zentrifugiert und anschließend konnte der Hämatokrit mithilfe einer Skala abgelesen werden.

2.7.4. Messung der Parameter in Plasma und Dialysat

Alle im Folgenden beschriebenen Messungen wurden mit Proben durchgeführt, welche nach dem in Tabelle C beschriebenen Schema entnommen wurden. Einen Überblick über die Messungen bietet Tabelle D.

Tabelle C: Entnahmeschema für Blut- und Dialysatproben

	pre	30 min	240 min	post
<p>Clearance Harnstoff, Crea, PO₄, β₂m, CYC, Myo, RbP <i>(Blutvolumen)</i></p>	-	a,v,d <i>(4 ml)</i>	a,v,d <i>(4 ml)</i>	-
<p>Reduktionsrate Harnstoff, β₂m, CyC, Myo, RbP, IL-6, Alb, TP, ADMA, pCS, pCG, IS <i>(Blutvolumen)</i></p>	a <i>(7,5 ml)</i>	-	-	a <i>(7,5 ml)</i>
<p>Hkt <i>(Blutvolumen)</i></p>	a <i>(1,5 ml)</i>	-	-	a <i>(1,5 ml)</i>
<p>Dialysatmassentransfer Urea, β₂m, CyC, Myo, Alb, pCS, pCG, IS <i>(Dialysatsammelvolumen)</i></p>	-	-	Kontinuierliche Dialysat- sammlung (4 h pool) <i>(2 x 1 + 2 x 50 ml)</i>	-

2.7.4.1. Messung der kleinmolekularen Substanzen

Ein Cobas c 111 Analyzer (Roche Instrument Center, Rotkreuz, Schweiz) diente zur vollautomatischen Bestimmung von Harnstoff (60 Da), Kreatinin (113 Da) und Phosphat (30 Da).

2.7.4.2. Messung der mittelmolekularen Substanzen

Die Werte für Cystatin C (13400Da), β_2 -Mikroglobulin (11800Da), Myoglobin (17800Da), Retinol bindendes Protein (21000Da) und Albumin (66000 Da) wurden nephelometrisch bestimmt. Bei der Nephelometrie wird Licht gemessen, das durch suspendierte Antigen-Antikörper-Komplexe gestreut wird. Im Vorfeld wird mit einem Standard mit bekanntem Proteingehalt für jeden zu bestimmenden Parameter die jeweilige Referenzkurve ermittelt. Bei den Probenmessungen liegt stets ein Antikörperüberschuss vor, wodurch die Intensität des gemessenen Streulichts proportional der Proteinmenge in der Probe ist. Um eine ausreichende Präzipitation der mittelmolekularen Proteine im Reagenzansatz für die Nephelometrie zu gewährleisten, wurden diese an Latex agglutiniert (latex enhanced). Bei dieser Studie kam ein Dade Behring BNPS (Seriennummer 2513967, Dade Behring GmbH, Marburg, Deutschland) zum Einsatz. 300 μ l Plasma (K-EDTA-Plasma) bzw. Dialysat wurden mit dem jeweils spezifischen Antikörper gemischt und 1 ml dieser Mischung wurde in den BNPS eingesetzt, der die Messung dann vollautomatisch durchführte.

2.7.4.3. Messung von ADMA und Interleukin-6

Die Werte für ADMA (202 Da) und Interleukin-6 (26000 Da) im Blutplasma wurden mithilfe eines ELISA bestimmt. Ein ELISA ist ein gängiges immunologisches Nachweisverfahren, das auf einer enzymatischen Farbreaktion basiert. Bei dem ADMA[®]-ELISA der Firma DLD Diagnostika GmbH (Hamburg, Deutschland) handelt es sich um einen kompetitiven Immunoassay. An die Festphase gebundenes, durch ein Peroxidasekonjugat markiertes und ein freies, in Lösung befindliches Antigen konkurrieren um eine definierte Zahl an Antikörper-Bindungsstellen. In einem Waschschrift werden nichtgebundene Antigen-Antikörper-Komplexe entfernt. Die Peroxidase setzt nun zugefügtes Tetramethylbenzidin um. Diese Reaktion wird gestoppt und bei 450 nm photometrisch gemessen. Die Konzentration des an die Festphase

gebundenen Antigen-Antikörper-Komplexes ist umgekehrt proportional zur Konzentration des ADMA in der Probe.

Interleukin-6 wurde mit dem QuantiGlo[®]-ELISA der Firma R&D Systems GmbH (Wiesbaden-Nordenstadt, Deutschland) bestimmt, der nach dem „Sandwich“-Prinzip funktioniert. Während der ersten Inkubation bindet das in der Probe befindliche Protein an einen spezifischen, an eine Mikrotiterplatte gebundenen, Antikörper. In einem nachfolgenden Waschvorgang werden nicht-gebundene Proteine entfernt und während einer zweiten Inkubation bindet ein weiterer Peroxidase-konjugierter Antikörper am Protein. Durch einen weiteren Waschvorgang werden ungebundene Antikörper entfernt, Substratlösung wird hinzugegeben und nach einer weiteren Inkubation von 20 min werden die „relative light units“ (RLU) mit einem Luminometer gemessen.

Bei beiden ELISAs wurde anhand des Standards eine Eichgerade erstellt und die Proteinkonzentration der Probe errechnet.

2.7.4.4. Messung der proteingebundenen Urämietoxine im Blutplasma

Die eiweißgebundenen Urämietoxine Paracresylsulfat, Paracresylglucuronid und Indoxylsulfat wurden im Blutplasma mithilfe des HPLC-Verfahrens bestimmt.

HPLC ist ein trennanalytisches Flüssigchromatographie-Verfahren, bei dem Substanzen getrennt und durch Standards identifiziert und quantifiziert werden. Die eiweißgebundenen Urämietoxine liegen im Blutplasma sowohl in freier als auch in gebundener Form vor. Zur Bestimmung der freien Toxine wurde aus den Plasmaproben ein Filtrat hergestellt und mit der HPLC-Methode gemessen. Die proteingebundenen Urämietoxine wurden in Blutplasma nach Hitzedenaturierung bei 95°C für 30 min bestimmt.

Dieses Verfahren zur Lösung der Toxine aus ihrer Proteinbindung wurde eigens für die vorliegende Studie entwickelt und erwies sich als notwendig, da das bisher gängige Verfahren, bei dem die Proteinbindung durch saure Hydrolyse mithilfe von HCl und NaCl gelöst wurde, nur Werte für Paracresol lieferte und so keine Unterscheidung zwischen Paracresylsulfat und Paracresylglucuronid, die

die eigentlichen Toxine darstellen, zuließ (Niwa et al. 1993, Dhondt et al. 2003, Beerenhout et al. 2005). Inzwischen arbeiten auch Meert et al. (2009 und 2010) mit dem beschriebenen Verfahren der Hitzedenaturierung mit anschließender HPLC, zur Messung der freien und gebundenen Form der proteingebundenen Toxine Paracresylsulfat und Indoxylsulfat.

Die Standardlösung für pCS wurde von Prof. Vanholder, Universität Gent, Belgien, bereitgestellt, diejenige für IS wurde von der Firma Sigma, Taufkirchen, Deutschland, bezogen.

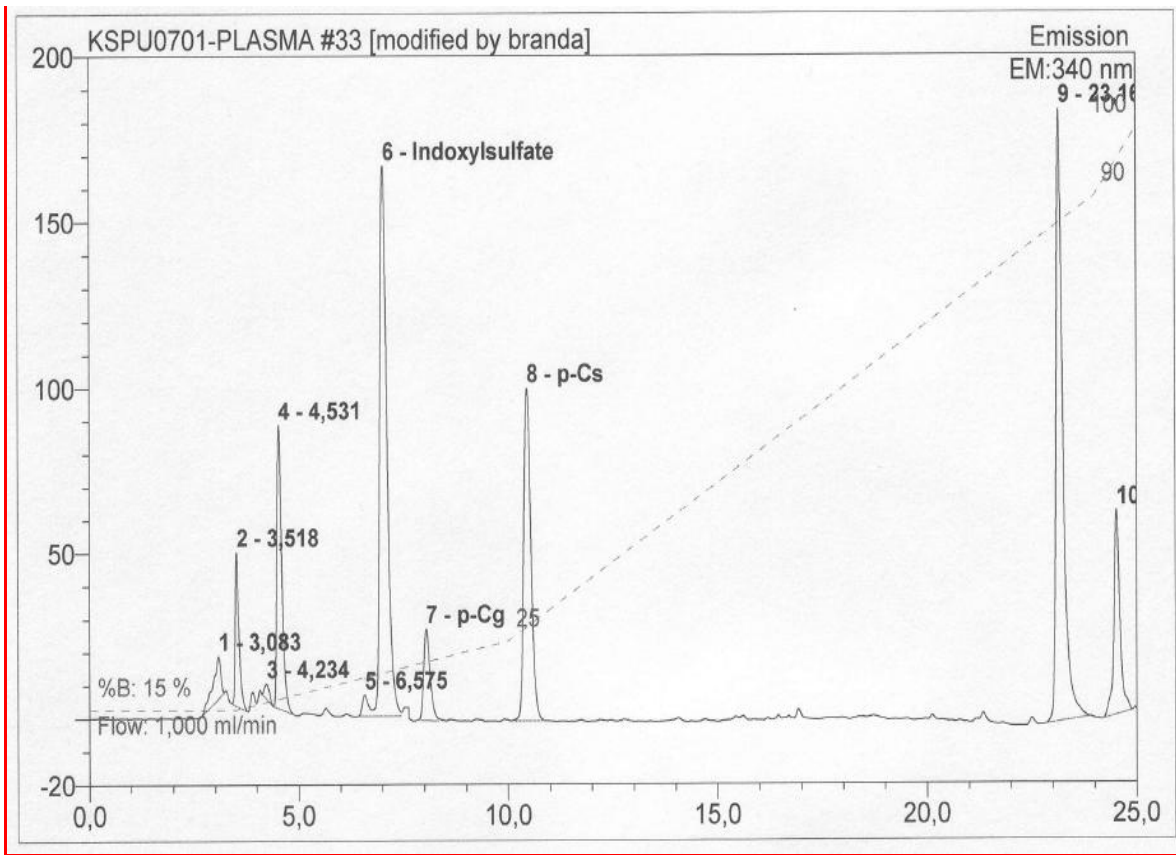
Sowohl Filtrat als auch Plasma und Dialysat wurden mit dem Trennverfahren der Verteilungs-Chromatographie (Reversed Phase, RP) gemessen.

Ein Fluoreszenzdetektor diente zur Messung der Emission des Eluats. Die Emission von Indoxylsulfat wurde bei einer Wellenlänge von 290 nm gemessen und wies im Chromatogramm ein Maximum bei 7 Minuten auf. Nach 7,5 min begann der Fluoreszenzdetektor bei 290 nm die Emission der Paracresolderivate zu messen. Paracresylglucoronid war durch ein Maximum bei 8,05 min markiert, während Paracresylsulfat eines bei 10,5 min aufwies. Die beschriebenen Höchstwerte sind am Beispiel von Abbildung 1 veranschaulicht. Die Messwerte wurden von einer Software der Firma Dionex GmbH (Chromeleon Version 6.80; Idstein, Deutschland) umgesetzt.

Tabelle D: Überblick über die Methoden zur Bestimmung der kleinmolekulargewichtigen Proteinen, Interleukin-6, ADMA und proteingebundenen Urämietoxine in Blutplasma und Dialysat

Parameter	Messmethode	Hersteller	Testbezeichnung
Myoglobin	Immuno-nephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer Prospec, latex enhanced
Cystatin C	Immuno-nephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer Prospec, latex enhanced
β2-Mikroglobulin	Immuno-nephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer Prospec, latex enhanced
Albumin	Immuno-nephelometrie	Dade Behring	Behring Nephelometer Prospec
ADMA	ELISA	DLD Diagnostika GmbH	ADMA®-ELISA
Interleukin-6	ELISA	R&D Systems GmbH	QuantiGlo®-ELISA
Paracresylglucuronid	HPLC	Bischoff Analysentechnik und –geräte GmbH	Verteilungs-Chromatographie (Reversed Phase, RP)
Paracresylsulfat	HPLC	Bischoff Analysentechnik und –geräte GmbH	Verteilungs-Chromatographie (Reversed Phase, RP)
Indoxylsulfat	HPLC	Bischoff Analysentechnik und –geräte GmbH	Verteilungs-Chromatographie (Reversed Phase, RP)

Abbildung 1: Chromatogramm; dargestellt sind die Emissionen von IS, pCg und pCs



2.8. Berechnung der Behandlungseffizienz

Nach der von Hoenich und Mitarbeitern (1979) vorgeschlagenen Formel (Gleichung 1) wurden die Clearances (K) der beiden Dialysatoren ermittelt:

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

Q_B steht für den Blutfluss, C_{art} für die Konzentration der gemessenen Substanz vor und C_{ven} für die Konzentration der gemessenen Substanz nach dem Dialysator. Q_{UF} bezeichnet die Ultrafiltrationsrate pro min.

Die Plasmaclearances wurden durch Gleichung 2 berechnet. Vor Behandlungsbeginn wurden hierzu der Patientenhämatokrit (Hkt) und das Plasmagesamteiweiß (TP, g/L) bestimmt (Henderson et al. 1996). Da sich die Verteilung der verschiedenen gemessenen Substanzen von der Zelle ins Blut unterscheidet, wurden die jeweiligen Distributionskoeffizienten (SPC) verwendet. Diese betragen für Harnstoff 0,86, für Kreatinin 0,73, für Phosphat 0,5 und für die übrigen kleinmolekulargewichtigen Eiweiße jeweils 0 (Henderson et al. 1996).

$$K_{\text{Plasma}} = K_{\text{Substanz}} \times (1 - 0,0107 \times \text{TP}) \times (\text{SPC} \times \text{Hkt} + (1 - \text{Hkt})) \quad [\text{ml/min}] \quad (\text{Gleichung 2})$$

Nach Gleichung 3 (Basile et al. 1990) wurde die Reduktionsratio (RR) errechnet.

$$\text{RR} = (1 - C_{\text{post}}/C_{\text{pre}}) \times 100 \quad [\%] \quad (\text{Gleichung 3})$$

Die Konzentration der gemessenen Substanz vor der Behandlung wird mit C_{pre} angegeben, entsprechend steht C_{post} für die Konzentration der gemessenen Substanz nach der Behandlung. Für die Berechnung der Mittelmolekül-Reduktionsrate (β_2 -Mikroglobulin, Cystatin C, Myoglobin und Retinol-bindendes Protein) wurde der C_{post} -Wert zuvor nach der von Bergström und Wehle

beschriebenen Formel für Veränderungen des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens korrigiert (Bergström und Wehle 1987).

Mithilfe von Gleichung 4 wurde der Massentransfer der verschiedenen Substanzen ins Dialysat (MT_D) ermittelt (Krieter et al. 2005).

$$MT_D = C_{D \text{ Substanz}} \times (Q_D + Q_{UF}) \times t \quad [\text{mg}] \quad (\text{Gleichung 4})$$

Die Korrelation zwischen der Plasmakonzentration an freiem Toxin vor der Behandlung und der Masse an freiem Toxin im Dialysat wurde mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten nach Pearson berechnet (Krieter et al. 2010).

2.9. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte unter Verwendung der "Minitab 15 Statistical Software" der Firma Additive Soft- und Hardware für Technik und Wissenschaft GmbH. Die statistische Signifikanz wurde mit einer Zweifach-ANOVA und einem Turkey post-hoc-test ermittelt, wobei Unterschiede ab einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ als statistisch signifikant gewertet wurden. Vergleichende statistische Analysen der within-subject within-treatment Veränderungen von der Grundlinie wurden mithilfe des two-side paired-Tests berechnet. Die Korrelationskoeffizienten wurden nach Pearson für die Plasmakonzentrationen vor Behandlungsbeginn und die Gesamtmasse der proteingebundenen Toxine ausgemittelt. Zusätzlich wurden für alle Ergebnisse die Mittelwerte (MW) und die Standardabweichung (SD) errechnet.

3. ERGEBNISSE

3.1. Klinische Beobachtung

Die Dialysebehandlungen mit den PUREMA[®] H- und PUREMA[®] H+-Membranen verliefen ohne Zwischenfälle oder Nebenwirkungen für die Patienten und wurden von diesen gut toleriert. Die Dialysatoren waren unkompliziert in der Handhabung: Füllen, Entlüften und Spülen erfolgten problemlos. Größere Thrombenbildung nach der Behandlung oder technische Probleme, wie Blutlecks, waren nicht zu beobachten.

3.2. Dokumentation der Behandlungsparameter

Alle Patienten wurden, abgesehen von der Behandlungsart, während des Studienverlaufs durchgehend intraindividuell identisch behandelt, wodurch sich kein Unterschied zwischen PUREMA[®] H- und PUREMA[®] H+ bezüglich der Dauer der Studiendialyse ergab (229 ± 22 min). Auch die die erzielten Blut- und Dialysatflüsse waren mit 378 ± 33 ml/min bzw. 500 ± 0 ml/min genauso identisch wie auch der Infusatfluss im HDF-Verfahren (94 ± 9 ml/min). Die Gesamtultrafiltrationsrate (UFR_{gesamt}) betrug bei PUREMA[®] H im HD-Verfahren 2673 ± 510 ml/min und im HDF-Verfahren 3012 ± 651 ml/min. Bei PUREMA[®] H+ betrug die UFR_{gesamt} im HD-Verfahren 2726 ± 816 ml/min und im HDF-Verfahren 2837 ± 1208 ml/min. Das Körpergewicht der Patienten vor Beginn der Dialyse war bei beiden Membranen (PUREMA[®] H: $73,1 \pm 19,6$ kg, PUREMA[®] H+: $73,6 \pm 20,4$ kg) im HD-Verfahren und war auch im HDF-Verfahren für PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ nahezu identisch ($74,0 \pm 20,0$ kg bzw. $74,1 \pm 20,6$ kg). Das Gewicht nach der Dialysebehandlung war unter PUREMA[®] H in beiden Verfahren nahezu identisch (HD: $70,4 \pm 19,2$ kg; HDF: $70,9 \pm 19,4$ kg). Unter PUREMA[®] H+ betrug das Gewicht nach Dialyse im HD-Verfahren $70,8 \pm 19,6$ kg und im HDF-Verfahren $71,2 \pm 19,9$ kg.

3.3. Performance-Messungen

3.3.1. Plasmaclearances

3.3.1.1. Kleinmolekulare Substanzen

Die Abbildungen 2 bis 6 veranschaulichen die Plasmaclearances der kleinmolekularen Substanzen Harnstoff, Kreatinin und Phosphat zum Zeitpunkt 30 und 180 min der Studiendialysen. Die mittleren Harnstoffclearances, graphisch dargestellt in Abbildung 2, wiesen nach 30 min deutliche Unterschiede sowohl zwischen den angewandten Dialyseverfahren, als auch zwischen PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren (275 ± 12 ml/min vs. 267 ± 20 ml/min) auf. In HDF waren PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ nahezu identisch (298 ± 27 ml/min vs. 299 ± 22 ml/min). Bei PUREMA[®] H im HDF-Verfahren konnte nach 30 min ein signifikanter Unterschied zu PUREMA[®] H im HD-Verfahren ermittelt werden ($p=0,0102$). Die mittlere Harnstoffplasmaclearance von PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren nach 30 min war signifikant geringer als bei PUREMA[®] H im HDF-Verfahren ($p=0,0003$). Bei PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren nach 30 min konnte sowohl gegenüber PUREMA[®] H im HD-Verfahren ($p=0,0031$), als auch gegenüber PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren ($p=0,0001$) eine signifikant höhere mittlere Harnstoffclearance nachgewiesen werden. Nach 180 min war der Unterschied zwischen PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren kleiner als nach 30 min (273 ± 18 ml/min vs. 265 ± 18 ml/min), im HDF-Verfahren jedoch größer (288 ± 58 ml/min vs. 296 ± 24 ml/min). Obwohl sich derselbe Trend wie nach 30 min abzeichnete, waren

hier die Unterschiede zwischen den Dialyseverfahren nicht signifikant.

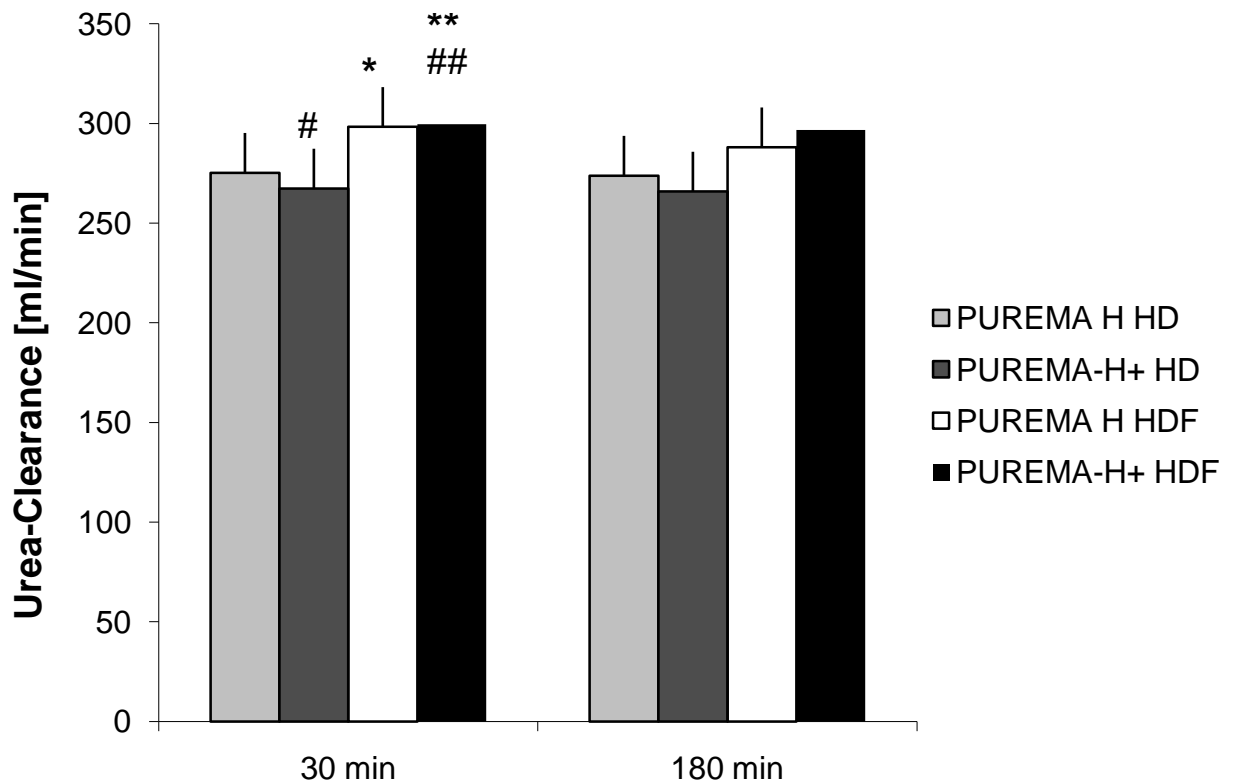


Abb. 2: Vergleich der Harnstoffplasmaclearances von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF nach 30 und 180 min * p=0,0102 vs. 190H in HD, ** p=0,0031 vs. 190H in HD, # p=0,0003 vs. 190H in HDF, ## p=0,0001 vs. 190H+ in HD

Die Kreatininplasmaclearances nach 30 und 180 min sind in Abbildung 3 dargestellt. Nach 30 min unterschieden sich PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ weder im HD-Verfahren (212 ± 25 ml/min vs. 207 ± 25 ml/min), noch im HDF-Verfahren (241 ± 38 ml/min vs. 246 ± 35 ml/min). Signifikant waren vielmehr die Unterschiede zwischen den Dialyseverfahren. So war die Kreatininclearance von PUREMA[®] H im HDF-Verfahren nach 30 min signifikant höher als im HD-Verfahren (p=0,0242), was nach 180 min nicht mehr festgestellt werden konnte. Noch signifikanter war der Unterschied zu PUREMA[®] H im HD-Verfahren bei PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren (p=0,0068). Dieser Unterschied war auch nach 180 min noch deutlich signifikant (p=0,0118). Sowohl PUREMA[®] H+, als

auch PUREMA[®] H im HDF-Verfahren unterschieden sich nach 30 min signifikant von PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren ($p=0,0022$ bzw. $p=0,0081$), was auch nach 180 min noch deutlicher sichtbar war ($p=0,0005$ bzw. $p=0,0067$). Nach 180 min unterschieden sich PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ weder im HD-Verfahren (223 ± 25 ml/min vs. 206 ± 28 ml/min), noch im HDF-Verfahren (242 ± 44 ml/min vs. 252 ± 30 ml/min).

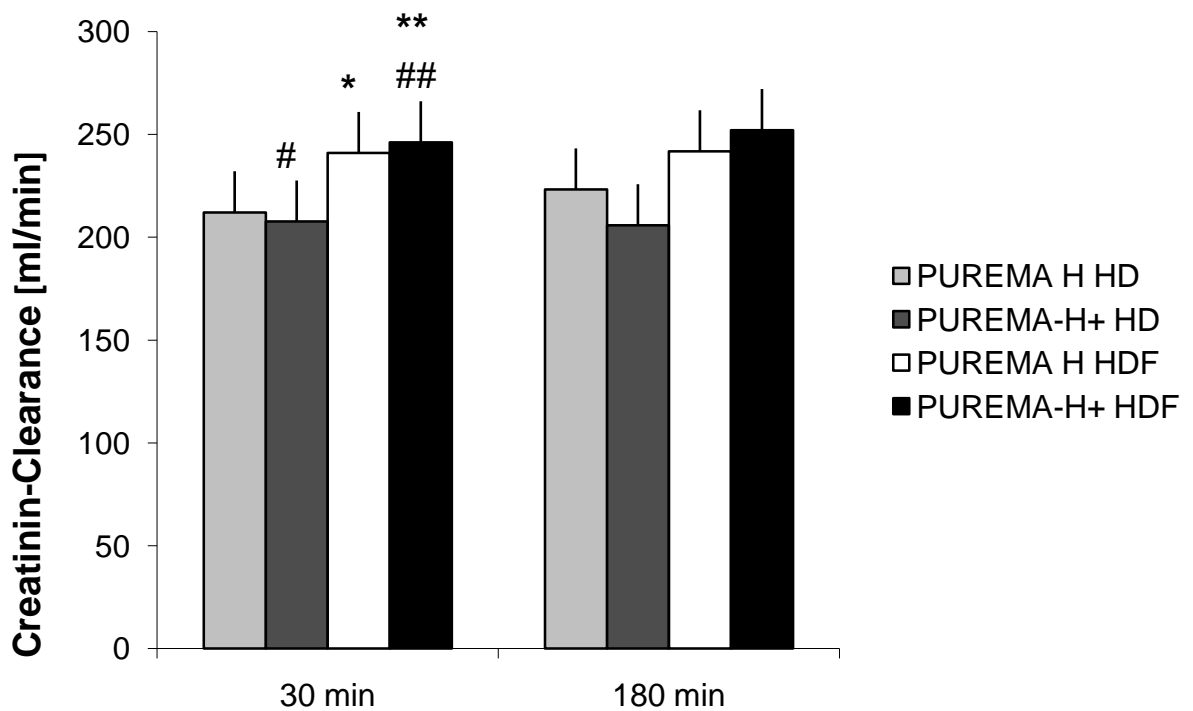


Abb. 3: Vergleich der Kreatininplasmaclearances von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF nach 30 min und 180 min * $p=0,0242$ vs. 190H in HD, ** $p=0,0068$ vs. 190H in HD, # $p=0,0081$ vs. 190H in HDF, ## $p=0,0022$ vs. 190H+ in HD, \diamond $p=0,0118$ vs. 190H in HD, $\diamond\diamond$ $p=0,0067$ vs. 190H in HDF, $\diamond\diamond\diamond$ $p=0,0005$ vs. 190H+ in HD

Die Phosphatplasmaclearances nach 30 und 180 min sind der Abbildung 4 zu entnehmen. Die Clearances von PUREMA[®] H waren sowohl nach 30 min im HD-Verfahren niedriger als im HDF-Verfahren (223 ± 16 ml/min vs. 242 ± 25 ml/min), als auch nach 180 min (225 ± 27 ml/min vs. 242 ± 36 ml/min). Dieselbe Tendenz zeichnete sich auch bei PUREMA[®] H+ nach 30 min (214 ± 24 ml/min

vs. 251 ± 25 ml/min) und nach 180 min (219 ± 24 ml/min vs. 258 ± 26 ml/min) ab. Nach 30 min waren die Clearances beider Membranen im HDF-Verfahren signifikant höher als bei PUREMA[®] H im HD-Verfahren ($p=0,0108$ für PUREMA[®] H bzw. $p=0,0002$ für PUREMA[®] H+). Nach 180 min ließ sich ein signifikanter Unterschied nur noch bei PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren gegenüber PUREMA[®] H im HD-Verfahren nachweisen ($p=0,0036$). Die Clearance von PUREMA[®] H im HDF-Verfahren war nach 30 min signifikant höher als bei PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren ($p=0,0002$). Nach 30 min ließ sich ein signifikanter Unterschied bei PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren gegenüber PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren nachweisen ($p<0,00001$). Auch nach 180 min war dieser Unterschied als signifikant zu werten ($p=0,0033$).

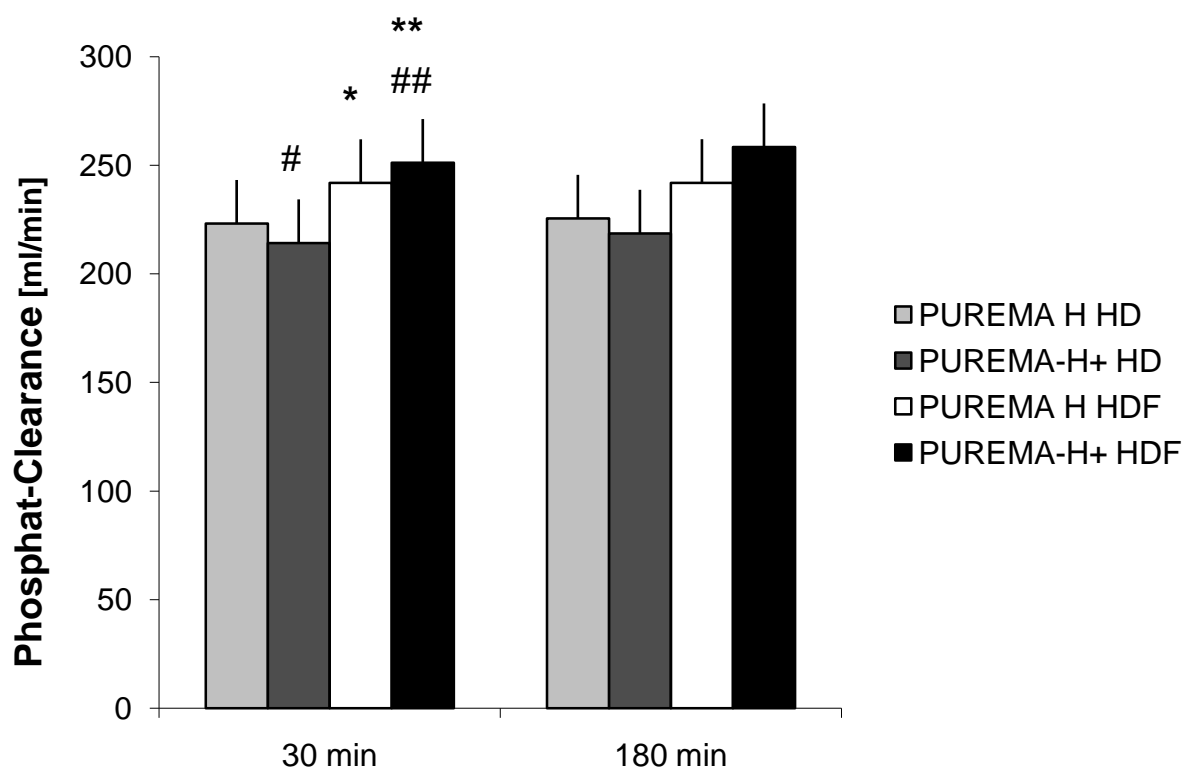


Abb. 4: Vergleich der Phosphatplasmaclearances von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF nach 30 min und 180 min * $p=0,0108$ vs. 190 H in HD, ** $p=0,0002$ vs. 190H in HD, # $p=0,0002$ vs. 190H in HDF, ## $p<0,00001$ vs. 190H+ in HD, \diamond $p=0,0036$ vs. 190H in HD, $\diamond\diamond$ $p=0,0033$ vs. 190H+ in HD

3.3.1.2. Mittelmolekulare Substanzen

Die β_2 -Mikroglobulinplasmaclearances nach 30 und 180 min sind in Abbildung 5 dargestellt. PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ verhielten sich nach 30 min sowohl im HD-Verfahren (63 ± 19 ml/min vs. 60 ± 9 ml/min) als auch im HDF-Verfahren (96 ± 6 ml/min vs. 97 ± 9 ml/min) nahezu identisch. Auch nach 180 min unterschieden sich PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ weder im HD-Verfahren (59 ± 9 ml/min vs. 62 ± 7 ml/min), noch im HDF-Verfahren (102 ± 10 ml/min vs. 94 ± 11 ml/min) wesentlich. Allerdings war das HDF-Verfahren dem HD-Verfahren bezüglich der β_2 -Mikroglobulinclearance zu beiden Zeitpunkten hochsignifikant überlegen. Hochsignifikante Unterschiede ($p < 0,00001$) fanden sich sowohl beim Vergleich beider Membranen im HDF-Verfahren mit PUREMA[®] H im HD-Verfahren, als auch mit PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren.

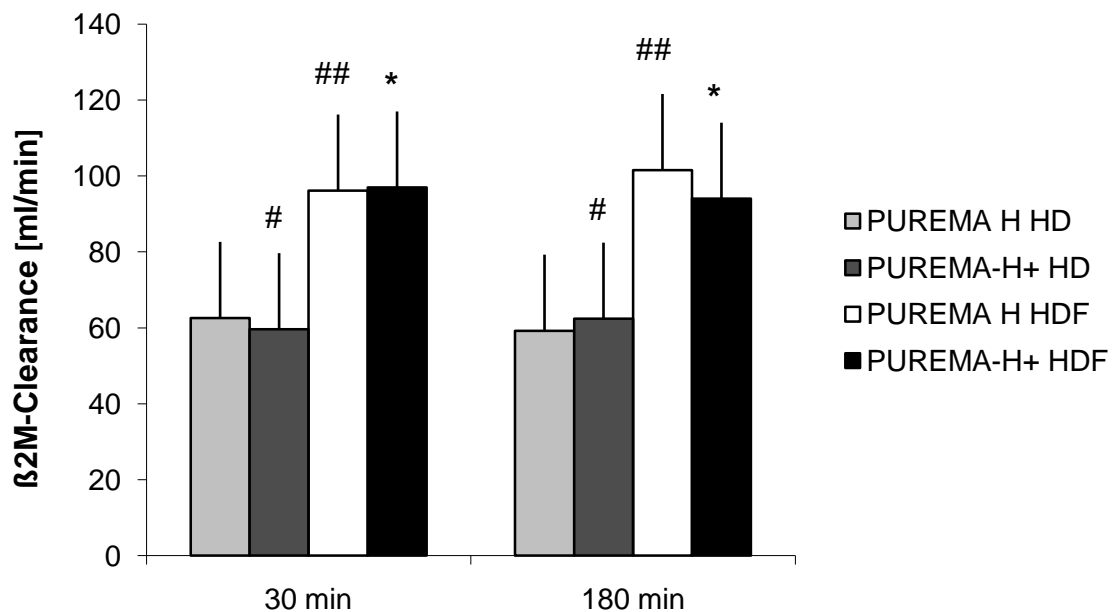


Abb. 5: Vergleich der β_2 -Mikroglobulinplasmaclearances von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF nach 30 min und 180 min * $p < 0,00001$ vs. 190H und H+ in HD, # $p < 0,00001$ vs. 190H in HDF, ## $p < 0,00001$ vs. 190H in HD

Die Cystatin C-Plasmaclearance, welche der Abbildung 6 zu entnehmen ist, gleicht weitgehend der β_2 -Mikroglobulinclearance. Auch hier unterscheiden sich die Membranen nicht wesentlich, allerdings lassen sich hochsignifikante Unterschiede der beiden Behandlungsverfahren feststellen. Nach 30 min war sowohl bei PUREMA[®] H, als auch bei PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren (100 ± 6 ml/min und 100 ± 11 ml/min) die Clearance signifikant höher ($p < 0,00001$) als bei PUREMA[®] H im HD-Verfahren (69 ± 10 ml/min). Dies gilt genauso zum Zeitpunkt 180 min für PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren (94 ± 4 ml/min und 88 ± 7 ml/min) verglichen mit PUREMA[®] H im HD-Verfahren (58 ± 9 ml/min). Auch verglichen mit PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren nach 30 bzw. 180 min (64 ± 8 ml/min bzw. 62 ± 9 ml/min) war sowohl bei PUREMA[®] H, als auch bei PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren der Unterschied bezüglich der CystatinC-Clearance signifikant ($p < 0,00001$).

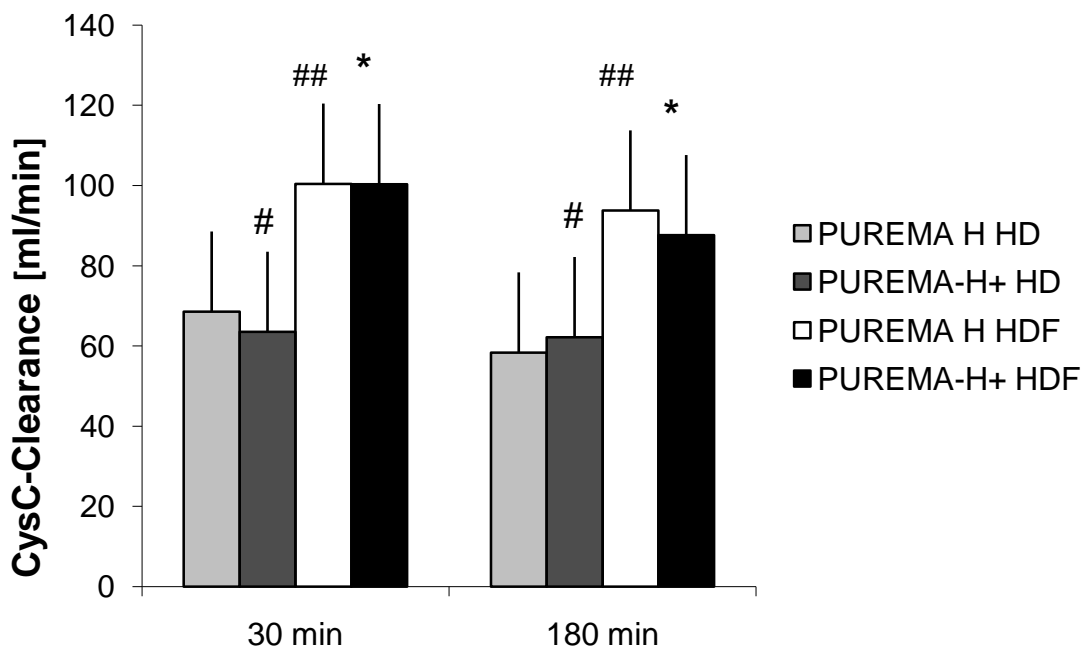


Abb. 6: Vergleich der Cystatin C-Plasmaclearances von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF nach 30 min und 180 min * $p < 0,00001$ vs. 190H und H+ in HD, # $p < 0,00001$ vs. 190H in HDF, ## $p < 0,00001$ vs. 190H in HD

Die Myoglobinplasmaclearances, welche in Abbildung 7 dargestellt sind zeigten ebenfalls signifikante Unterschiede bezüglich der Behandlungsarten, jedoch nicht im selben Ausmaß wie β_2 -Mikroglobulin und Cystatin C. PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ unterschieden sich im HD-Verfahren weder nach 30 min (24 ± 10 ml/min vs. 25 ± 8 ml/min), noch nach 180 min (25 ± 7 ml/min vs. 19 ± 8 ml/min). Auch im HDF-Verfahren verhielten sich PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ sowohl nach 30min (55 ± 15 ml/min vs. 53 ± 9 ml/min), als auch nach 180 min (52 ± 8 ml/min vs. 54 ± 13 ml/min) nahezu identisch. Nach 30 min zeigten PUREMA[®] H ($p=0,0001$) und H+ ($p=0,0003$) im HDF-Verfahren eine signifikant höhere Clearance als PUREMA[®] H im HD-Verfahren. Auch PUREMA[®] H+ war im HD-Verfahren beiden Membranen im HDF-Verfahren signifikant unterlegen ($p=0,0001$ für PUREMA[®] H und $p=0,0004$ PUREMA[®] H+). Die Clearance von PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren war nach 180 min der Clearance von PUREMA[®] H im HD Verfahren signifikant überlegen ($p<0,00001$). Ein signifikanter Unterschied zeigte sich beim Vergleich von PUREMA[®] H ($p=0,0002$) und H+ ($p=0,0001$) im HDF-Verfahren mit PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren.

Die Plasmaclearance des Retinol bindenden Proteins (Abbildung 8) zeigte sowohl nach 30 min, als auch nach 180 min signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsarten. Nach 30 min war sowohl PUREMA[®] H im HDF-Verfahren (13 ± 13 ml/min, $p=0,0001$), als auch PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren (11 ± 10 ml/min, $p=0,0003$) PUREMA[®] H im HD-Verfahren (2 ± 9 ml/min) signifikant überlegen. Auch PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren (8 ± 9 ml/min) erzielte signifikant geringere Reduktionsraten als PUREMA[®] H im HDF-Verfahren ($p=0,0001$) bzw. als PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren ($p=0,0004$). Nach 180 min war PUREMA[®] H im HD-Verfahren (4 ± 8 ml/min) beiden Filtern im HDF-Verfahren signifikant ($p<0,00001$) unterlegen. PUREMA[®] H im HDF-Verfahren erzielte eine Clearance von 6 ± 12 ml/min. Mit PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren konnten 6 ± 9 ml/min Retinol bindendes Protein entfernt werden. Auch gegenüber PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren waren die Unterschiede zu beiden Filtern im HDF-Verfahren signifikant ($p=0,0002$ für PUREMA[®] H und $p=0,0001$ für PUREMA[®] H+).

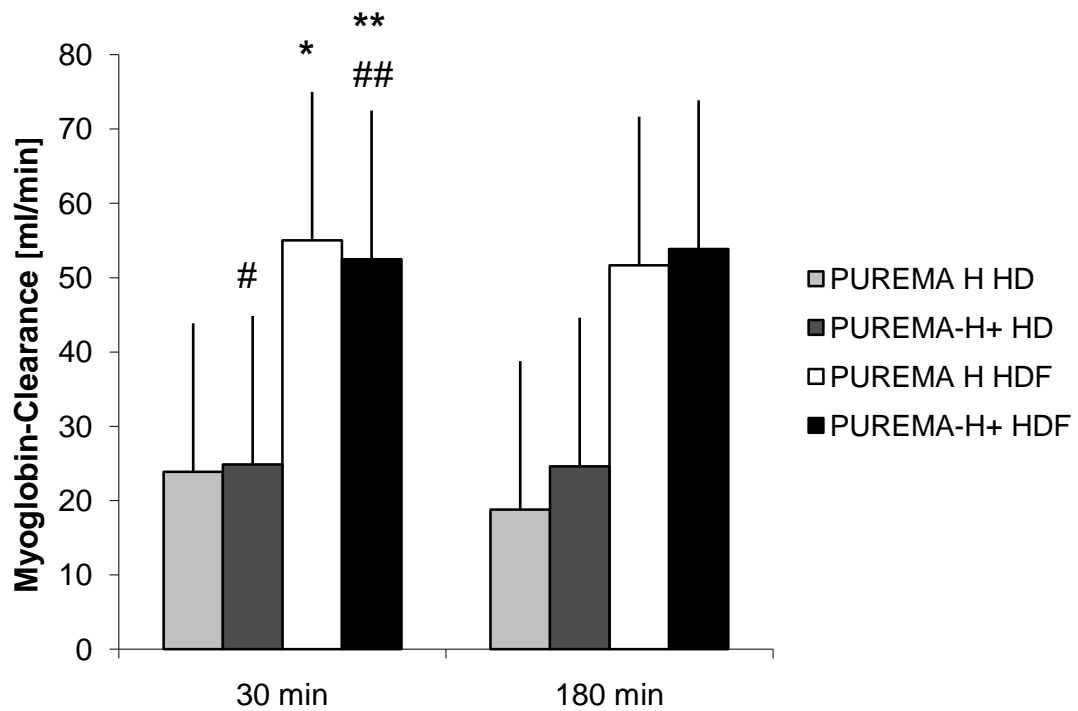


Abb. 7: Vergleich der Myoglobinplasmaclearances von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF nach 30 min und 180 min * p=0,0001 vs. 190H in HD, **p=0,0003 vs. 190H in HD, # p=0,0001 vs. 190H in HDF, ## p=0,0004 vs. 190H+ in HD, ◇ p<0,00001 vs. 190H in HD, □ p=0,0002 vs.190H in HDF, □□ p=0,0001 vs. 190H+ in HD

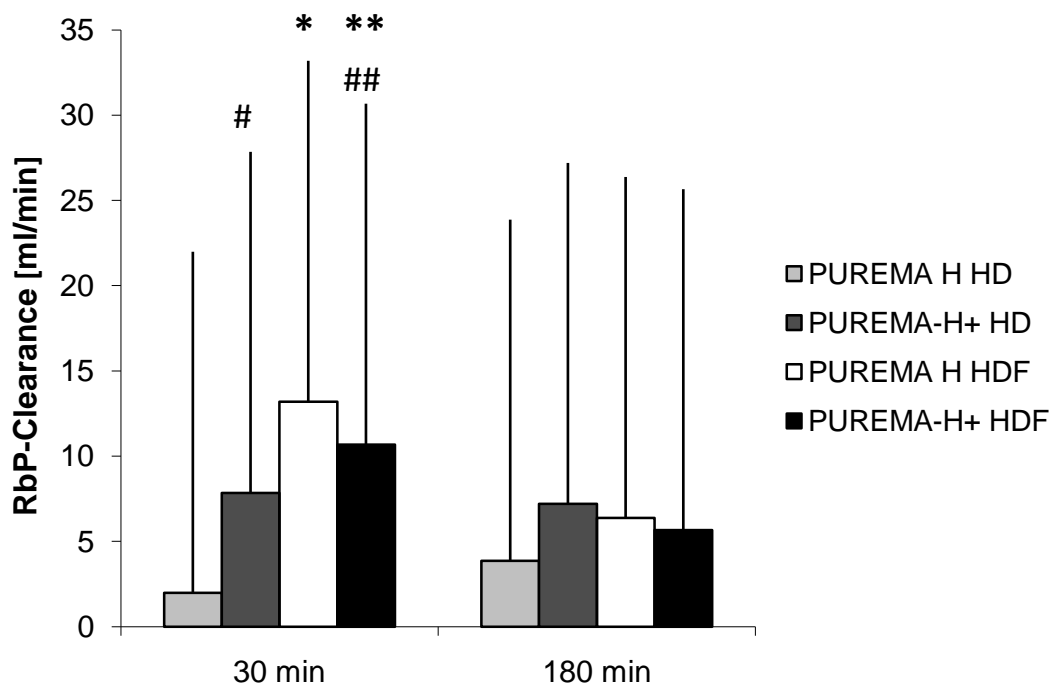


Abb. 8: Vergleich der Retinol bindendes Protein-Plasmaclearances von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF nach 30 min und 180 min * p=0,0001 vs. 190 H in HD, ** p=0,0003 vs. 190H in HD, # p=0,0001 vs. 190H in HDF, ## p=0,0004 vs. 190H+ in HD; □ p<0,00001 vs. 190H in HD, □□ p=0,0002 vs. 190H in HDF, □□□ p=0,0001 vs. 190H+ in HD

3.3.2. Reduktionsraten der kleinmolekulargewichtigen Proteine

Hinsichtlich der Reduktionsraten von β_2 -Mikroglobulin, die in Abbildung 9 veranschaulicht werden, zeigte sich derselbe Trend wie bei den Plasmaclearances. Die beiden Membranen PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ unterschieden sich weder im HD- (beide $68 \pm 6\%$) noch im HDF-Verfahren (beide $78 \pm 5\%$). Dagegen erzielten die Membranen im HDF-Verfahren gegenüber dem HD-Verfahren signifikant höhere ($p<0,00001$) Reduktionsraten.

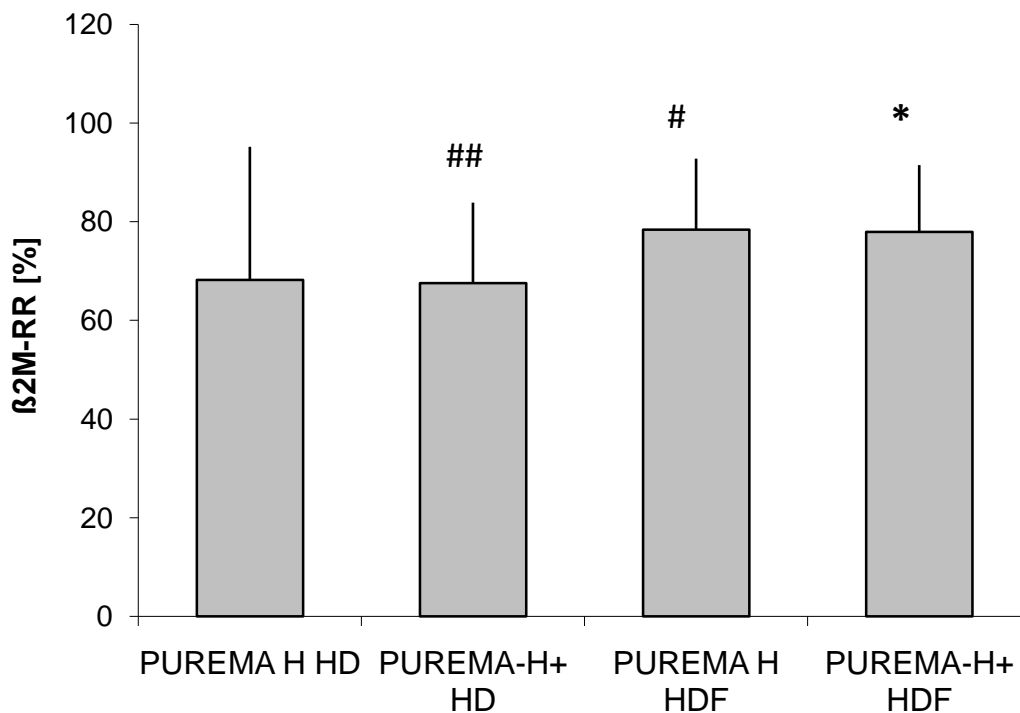


Abb. 9: Vergleich der β_2 -Mikroglobulinreduktionsraten von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF * $p < 0,00001$ vs. 190H und H+ in HD, # $p < 0,00001$ vs. 190H in HD, ## $p < 0,00001$ vs. 190 H in HDF

Die Ergebnisse bezüglich der Cystatin C-Reduktionsraten, dargestellt in Abbildung 10, weisen in dieselbe Richtung wie bei β_2 -Mikroglobulin. Im HD-Verfahren erzielten beide Filter Reduktionsraten von $67 \pm 6\%$. Auch im HDF-Verfahren konnte kein wesentlicher Unterschied zwischen PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ festgestellt werden ($77 \pm 5\%$ vs. $76 \pm 5\%$). Sowohl bei PUREMA[®] H ($p=0,0001$), als auch bei PUREMA[®] H+ ($p=0,0003$) im HDF-Verfahren, konnte ein signifikanter Unterschied zu PUREMA[®] H im HD-Verfahren ermittelt werden. Gegenüber PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren war der Unterschied bei den Filtern im HDF-Verfahren signifikant ($p=0,0001$, PUREMA[®] H+, bzw. $p < 0,00001$, PUREMA[®] H).

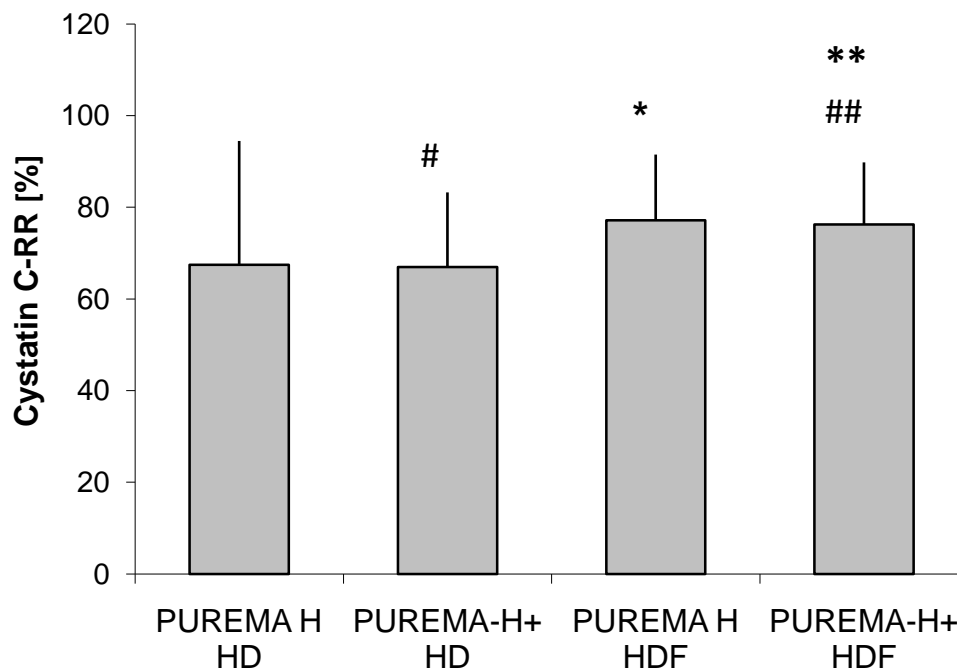


Abb. 10: Vergleich der Cystatin C-Reduktionsraten von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF * p=0,0001 vs. 190H in HD, ** p= 0,0003 vs. 190H in HD, # p<0,00001 vs. 190H in HDF, ## p=0,0001 vs. 190H+ in HD

Die Myoglobinreduktionsraten, die in Abbildung 11 dargestellt sind, verhielten sich ähnlich denen der beiden anderen mittelmolekularen Proteine, jedoch konnte hier auch ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Filtern im HD-Verfahren ermittelt werden: PUREMA[®] H+ erzielte mit $46 \pm 9\%$ eine signifikant höhere ($p=0,0333$) Reduktionsrate als PUREMA[®] H mit $37 \pm 9\%$. Zudem war der Unterschied zwischen beiden Filtern im HDF-Verfahren im Vergleich zum HD-Verfahren signifikant ($p<0,00001$). Zwischen PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren ließ sich kein wesentlicher Unterschied erkennen ($65 \pm 6\%$ vs. $66 \pm 7\%$).

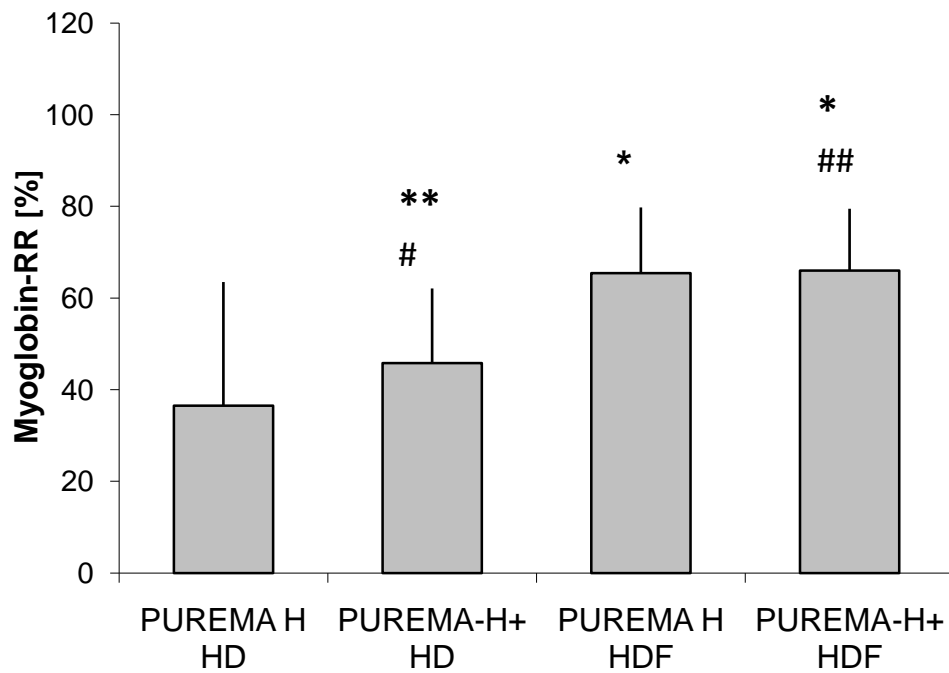


Abb. 11: Vergleich der Myoglobinreduktionsraten von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF * p<0,00001 vs. 190H in HD, ** p= 0,0333 vs. 190H in HD, # p<0,00001 vs. 190H in HDF, ## p<0,00001 vs. 190H+ in HD

Eine Übersicht über die Reduktionsraten von β_2 -Mikroglobulin, Cystatin C und Myoglobin liefert Abbildung 12.

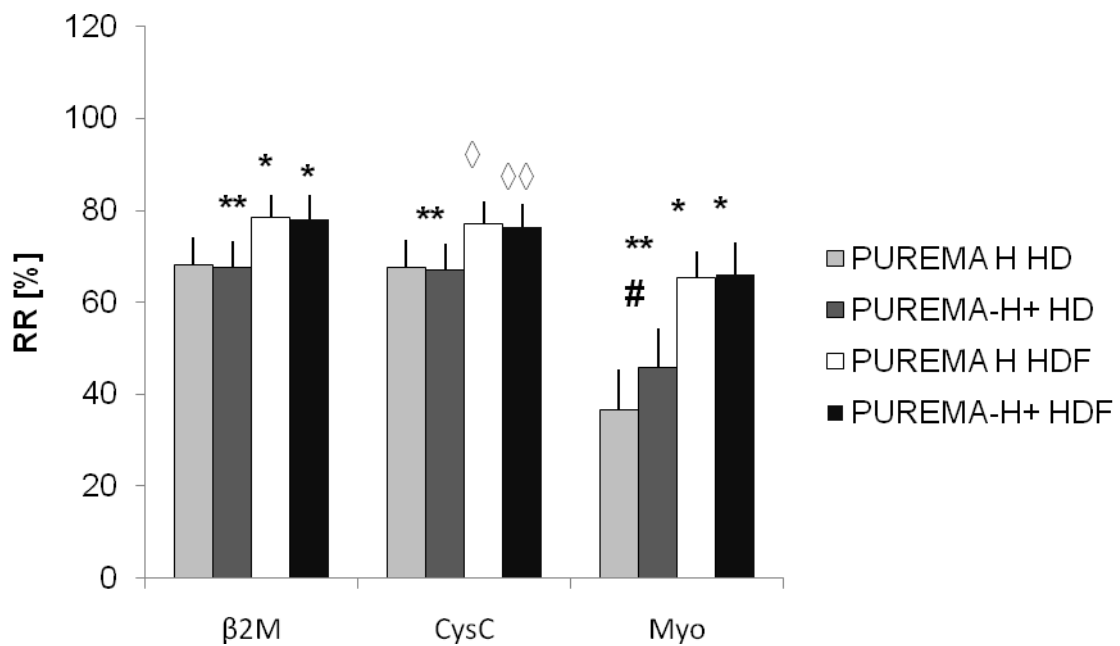


Abb. 12: Vergleich der Reduktionsraten [%] von β ₂-Mikroglobulin, Cystatin C und Myoglobin von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF * p<0,00001 vs. H und H+ in HD, ** p<0,00001 vs. 190H in HDF, \diamond p=0,0001 vs. 190H und H+ in HD, $\diamond\diamond$ p=0,0003 vs. 190H+ in HD, # p=0,0333 vs. 190H in HD

Hinsichtlich der Reduktionsraten von Retinol bindendem Protein (Abbildung 13) waren beide Filter im HDF-Verfahren PUREMA[®] H im HD-Verfahren ($15 \pm 5\%$) signifikant überlegen ($p<0,00001$). PUREMA[®] H im HDF-Verfahren erzielte $19 \pm 8\%$ Reduktion, während der Wert für PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren $26 \pm 16\%$ betrug. PUREMA[®] H im HD-Verfahren war außerdem PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren signifikant ($p<0,05$) unterlegen. PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren ($18 \pm 5\%$) war sowohl PUREMA[®] H im HDF-Verfahren ($p=0,0002$) als auch PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren ($p=0,0001$) signifikant unterlegen.

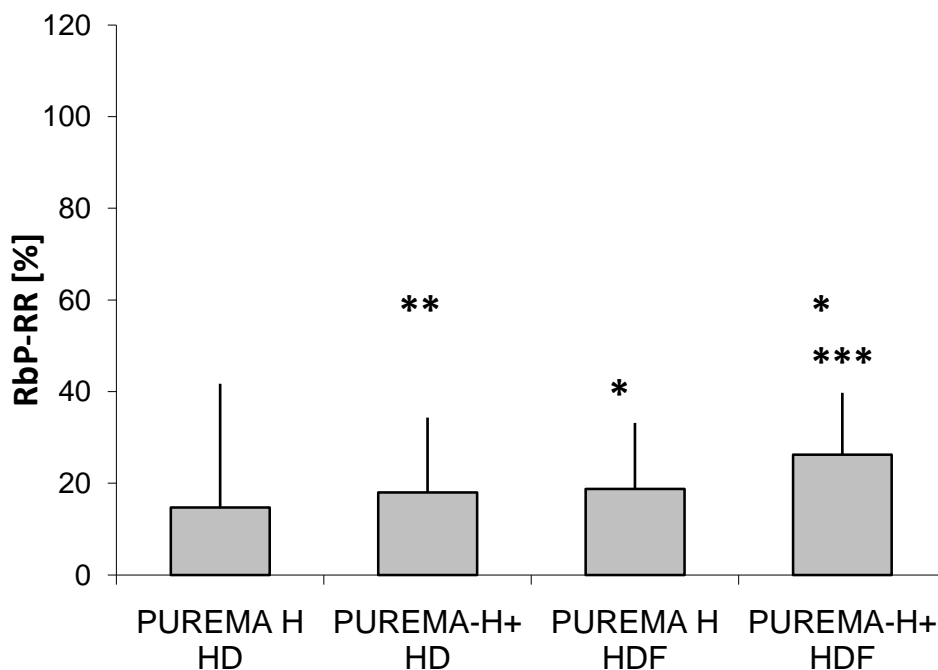


Abb. 13: Vergleich der RbP-Reduktionsraten von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF * p<0,00001 vs. 190H in HD; ** p<0,00001 vs. 190H in HDF; ***p<0,00001 vs. 190H+ in HD, ◇ p<0,05 vs. 190H in HD

Die Reduktionsraten von IL-6 betragen für PUREMA[®] H -17 ± 74% im HD- und -7 ± 24% im HDF-Verfahren. Für PUREMA[®] H+ betragen die IL-6-Reduktionsraten 5,9 ± 55,4% im HD-Verfahren und -13 ± 32% im HDF-Verfahren.

3.3.3 Reduktionsraten der proteingebundenen Urämietoxine

Hinsichtlich der Reduktionsraten von Indoxylsulfat (Abbildung 14) waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Filtern oder den Behandlungsarten und zwischen freier (Filtrat) oder proteingebundener Fraktion (Plasma) des Toxins festzustellen. Für PUREMA[®] H im HD-Verfahren verhielten sich freie (55 ± 20%) und proteingebundene Fraktion (50,4 ± 2,6%) ähnlich. Bei PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren war die Reduktionsrate der freien Toxine 52 ± 12% und

der gebundenen Toxine $43 \pm 27\%$, bei PUREMA[®] H im HDF-Verfahren $55 \pm 9\%$ bzw. $45 \pm 33\%$. Auch unter Behandlung mit PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren ähnelten sich die Werte für freie ($56 \pm 8\%$) und gebundene Toxine ($53 \pm 9\%$).

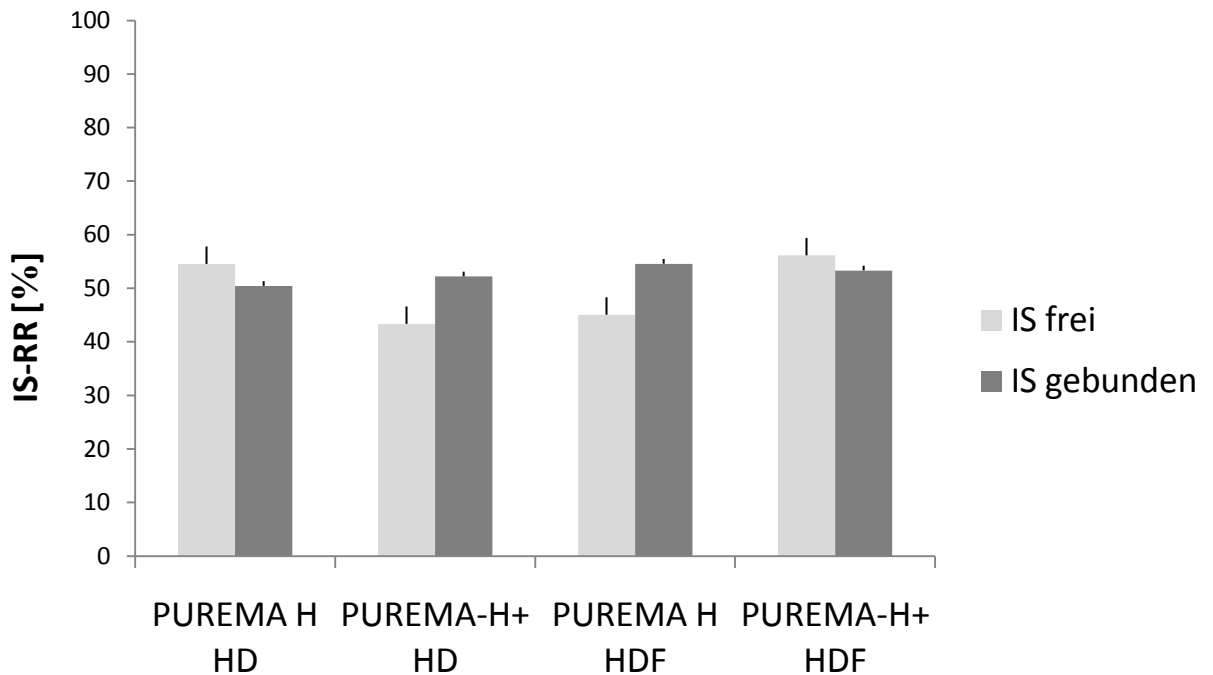


Abb. 14: Vergleich der IS-Reduktionsraten in Plasma und Filtrat von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF

Auch der Vergleich der Reduktionsraten der freien und der gebundenen Fraktion von Paracresylglucuronid bezüglich der Behandlung mit PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ im HD- und HDF-Modus (Abbildung 15) ergab keine signifikanten Unterschiede. Die Reduktionsraten betragen unter Behandlung mit PUREMA[®] H im HD-Verfahren $88 \pm 3\%$ bei der freien und $87 \pm 5\%$ bei der gebundenen Fraktion des Toxins. $85 \pm 6\%$ Reduktionsrate der freien und $88 \pm 7\%$ Reduktionsrate der gebundenen Fraktion im Plasma fanden sich bei Behandlung mit PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren. Im HDF-Verfahren erzielte PUREMA[®] H Werte von $89 \pm 5\%$ bezüglich der freien und $85 \pm 7\%$ bezüglich der gebundenen Fraktion. PUREMA[®] H+ in HDF erzielte Werte von $76 \pm 59\%$ (frei) bzw. $90 \pm 5\%$ (gebunden).

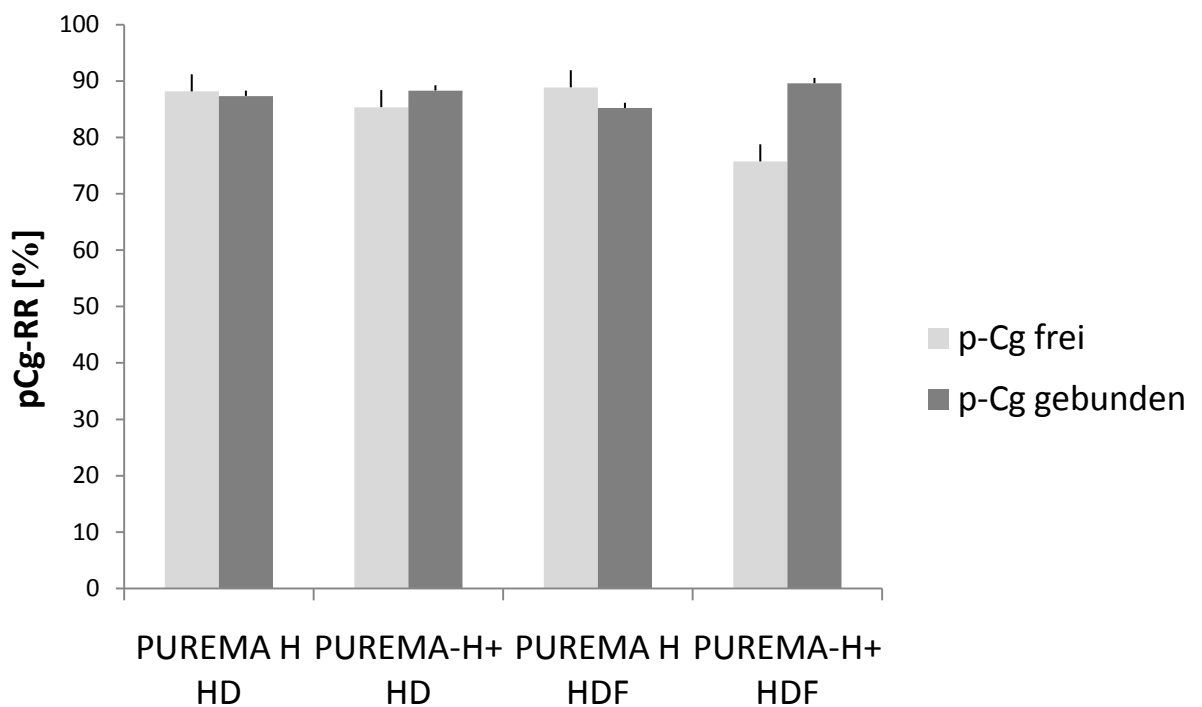


Abb. 15: Vergleich der pCg-Reduktionsraten in Plasma und Filtrat von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF

Die Reduktionsraten von Paracresylsulfat (Abbildung 16) unter Behandlung mit PUREMA[®] H im HD-Verfahren unterschieden sich hinsichtlich der freien ($48 \pm 19\%$) und der gebundenen Fraktion ($46 \pm 2\%$) kaum. Unter Behandlung mit PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren ergaben sich bezüglich der freien Fraktion Werte von $29 \pm 33\%$ und $47 \pm 15\%$ bezüglich der gebundenen Fraktion. Im HDF-Verfahren gab es zwar Unterschiede zwischen freien und proteingebundenen Toxinen sowohl unter Behandlung mit PUREMA[®] H ($35 \pm 44\%$ vs. $48 \pm 10\%$), als auch mit PUREMA[®] H+ ($76 \pm 60\%$ vs. $40 \pm 15\%$), jedoch waren diese nicht signifikant.

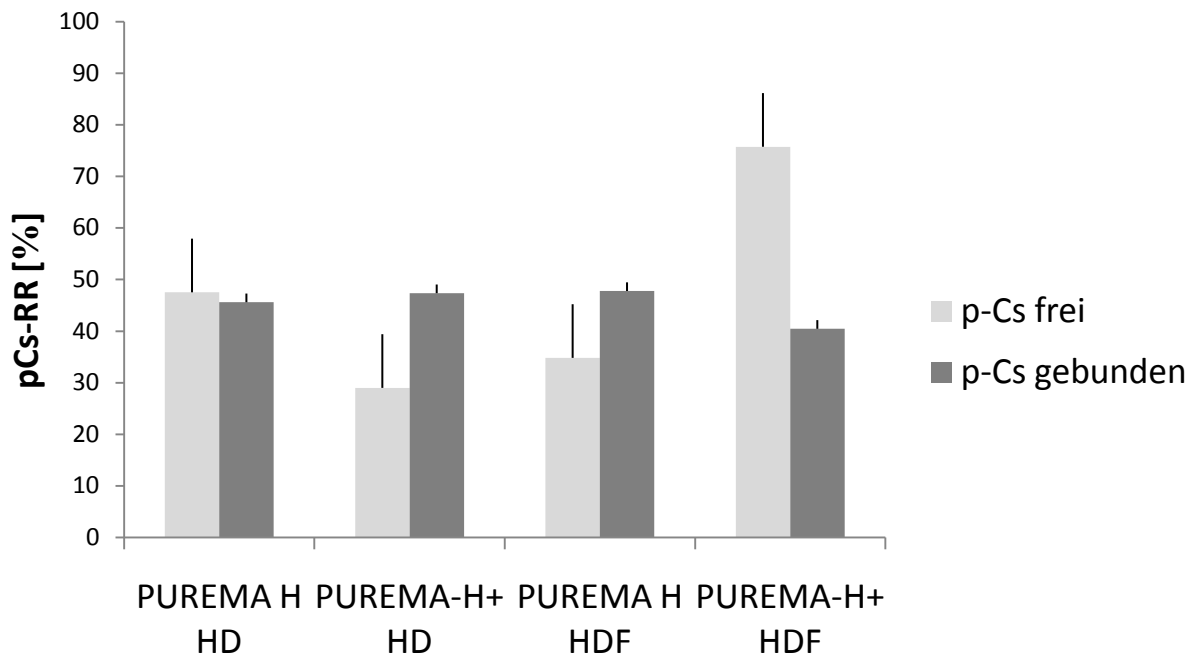


Abb. 16: Vergleich der pCs-Reduktionsraten in Plasma und Filtrat von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF

Die Reduktionsraten von ADMA, welche Abbildung 17 zu entnehmen sind, betragen für PUREMA[®] H 39 ± 27% im HD- und 55 ± 14% im HDF-Verfahren. Für PUREMA[®] H+ wurden folgende Werte ermittelt: 44 ± 16% im HD-Verfahren und 53 ± 14% im HDF-Verfahren.

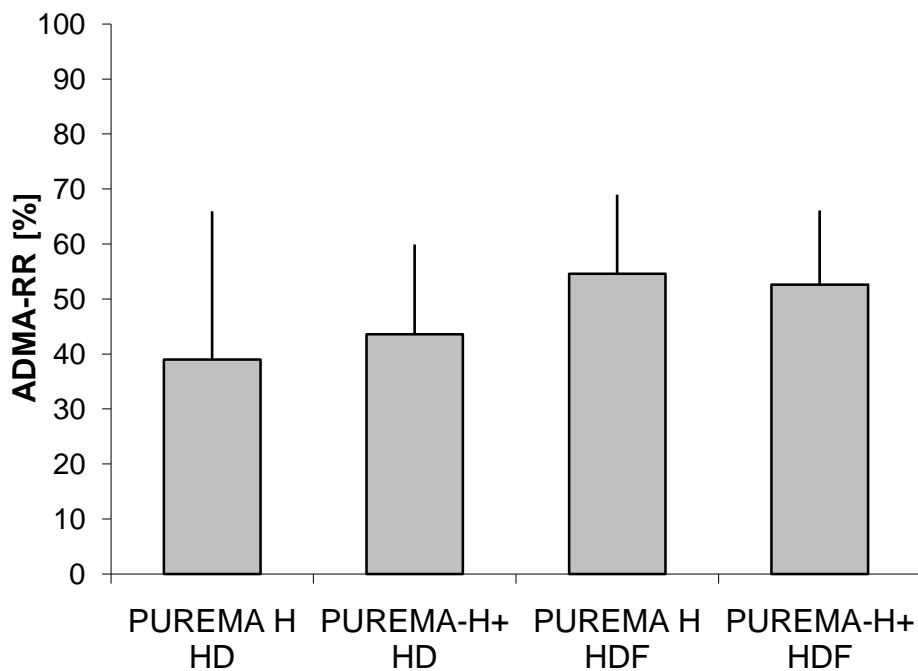


Abb. 17: Vergleich der ADMA-Reduktionsraten von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF

3.3.4. Dialysatmassentransfer

Bezüglich des Dialysatmassentransfers von Phosphat (Abbildung 18) und Harnstoff (Abbildung 19) ließen sich weder im Vergleich der beiden Filter zueinander, noch im Vergleich der angewandten Dialyseverfahren signifikante Unterschiede feststellen. Mit PUREMA[®] H konnten im HD-Verfahren 38140 ± 11997 mg und im HDF-Verfahren 33794 ± 16396 mg Harnstoff eliminiert werden. Mit PUREMA[®] H+ wurden im HD-Verfahren 39813 ± 21897 mg und im HDF-Verfahren 33452 ± 12131 mg entfernt. Bezüglich des Dialysatmassentransfers von Phosphat konnten zwischen PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ ebenfalls nur geringfügige Unterschiede festgestellt werden (1041 ± 337 mg vs. 1029 ± 445 mg). Auch im HDF-Verfahren unterschieden sich die beiden Filter kaum (861 ± 393 mg vs. 887 ± 337 mg).

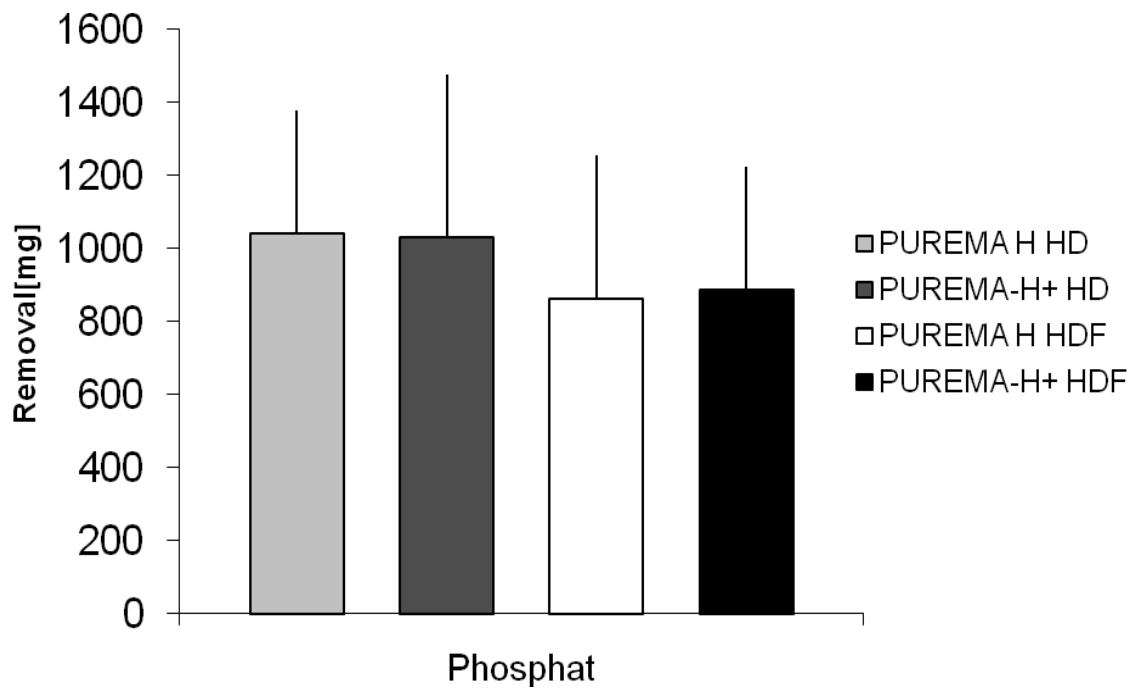


Abb. 18: Vergleich von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF bezüglich des Dialysatmassentransfers von Phosphat

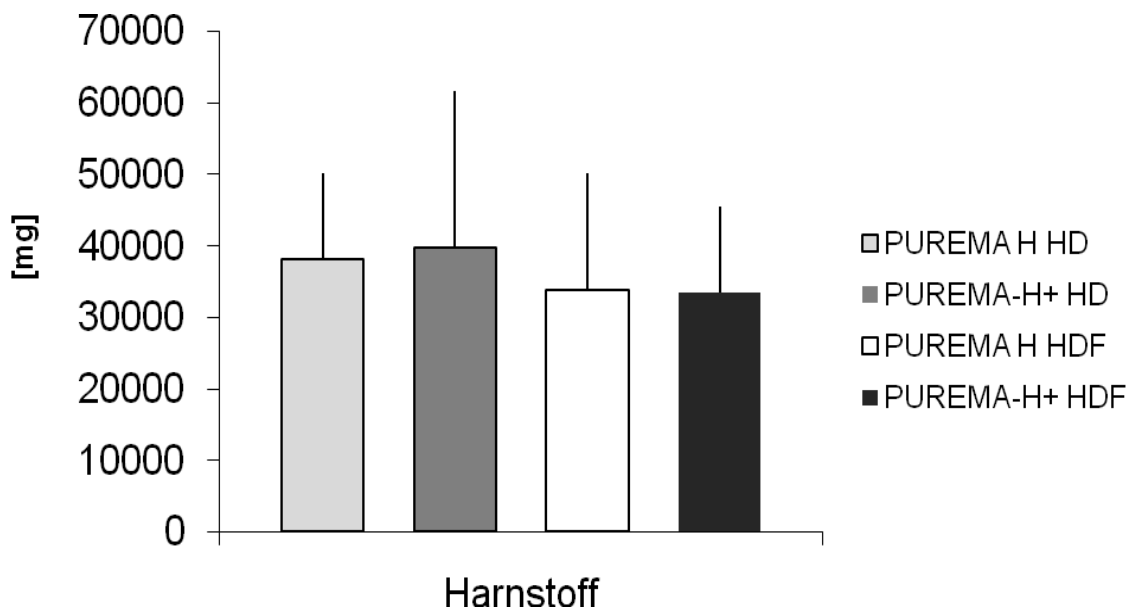


Abb. 19: Vergleich von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF bezüglich des Dialysatmassentransfers von Harnstoff

Hinsichtlich des Dialysatmassentransfers von β_2 -Mikroglobulin (Abbildung 20) fanden sich sowohl zwischen den Membranen, als auch zwischen den angewandten Verfahren keine signifikanten Unterschiede. Für PUREMA[®] H betrug die Entfernung von β_2 -Mikroglobulin im Dialysat $173 \pm 42\%$ im HD-Verfahren und $181 \pm 32\%$ im HDF-Verfahren. Für PUREMA[®] H+ konnten 185 ± 72 mg im HD-Verfahren und 216 ± 72 mg im HDF-Verfahren ermittelt werden. Auch für die Entfernung von Cystatin C aus dem Dialysat, ebenfalls dargestellt in Abbildung 20, konnten weder zwischen den Filtern noch zwischen HD- und HDF-Verfahren signifikante Unterschiede ermittelt werden (PUREMA[®] H im HD-Verfahren: 39 ± 5 mg, PUREMA[®] H im HDF-Verfahren: 35 ± 11 mg, PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren: 40 ± 12 mg, PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren: 46 ± 8 mg).

Auch hinsichtlich des Dialysatmassentransfers von Myoglobin (Abb. 20) ergaben sich zwischen PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ weder im HD-Verfahren (236 ± 82 mg vs. 290 ± 119 mg), noch im HDF-Verfahren (502 ± 241 mg vs. 613 ± 248 mg) signifikante Unterschiede. Die Myoglobinentfernung aus dem Dialysat war jedoch sowohl bei PUREMA[®] H ($p=0,0021$), als auch bei PUREMA[®] H+ ($p<0,00001$) im HDF-Verfahren signifikant bzw. hochsignifikant höher als bei PUREMA[®] H im HD-Verfahren. Auch gegenüber PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren erzielte PUREMA[®] H im HDF-Verfahren eine signifikant höhere ($p=0,0149$) Entfernung von Myoglobin aus dem Dialysat. Genauso war PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren gegenüber PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren signifikant ($p=0,0003$) überlegen.

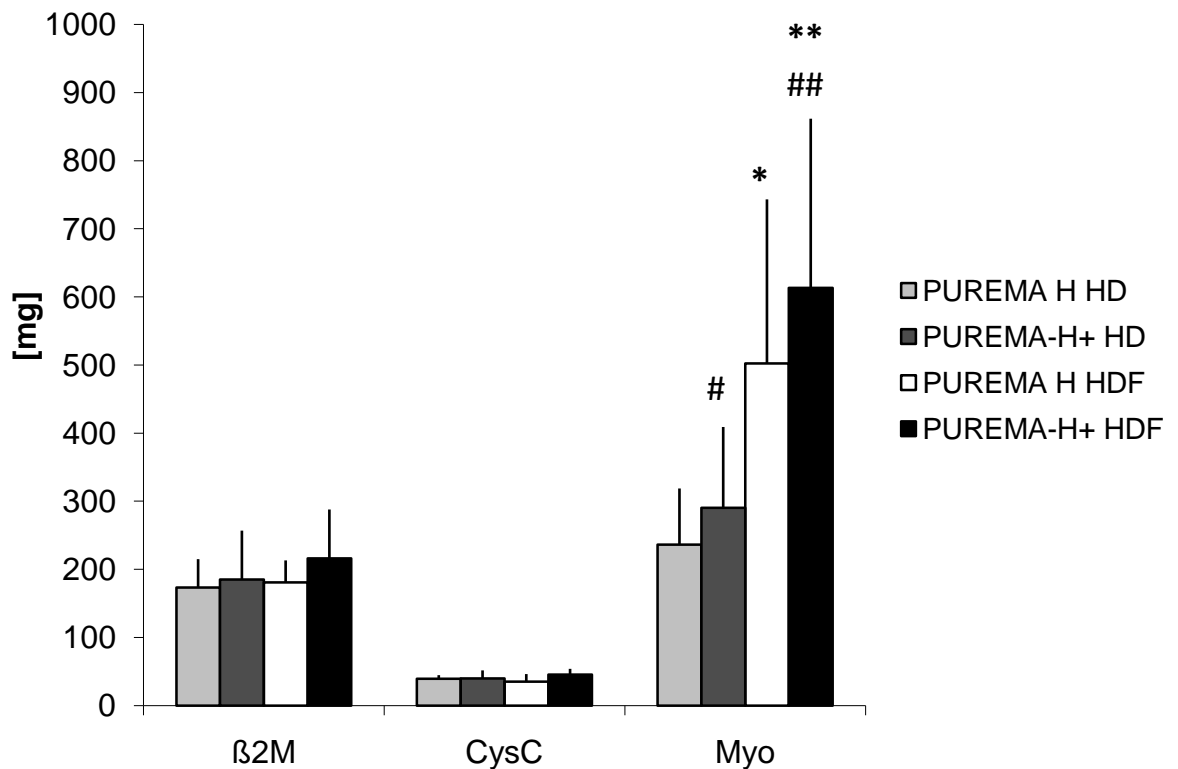


Abb. 20: Vergleich von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF bezüglich des Dialysatmassentransfers der kleinmolekulargewichtigen Proteine;
 * p=0,0021 vs. 190H HD, ** p<0,00001 vs. 190 H HD, # p=0,0149 vs. 190H HDF, ## p=0,0003 vs.190H+ HD

Hinsichtlich des Albuminverlustes ins Dialysat (Abbildung 21) unterschieden sich PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ signifikant sowohl während des HD-Verfahrens, als auch während des HDF-Verfahrens. Im HD-Verfahren war der Albuminverlust bei PUREMA[®] H immer unter der Nachweisgrenze von 200 mg, während er bei PUREMA[®] H+ durchschnittlich 482 ± 154 mg pro Behandlung betrug, was einem signifikanten Unterschied (p<0,05) entspricht. Im HDF-Verfahren betrug der Albuminverlust für PUREMA[®] H 809 ± 206 mg, was signifikant geringer ist (p=0,002) als 1430 ± 566 mg Verlust bei PUREMA[®] H+. Gleichzeitig war der Albuminverlust von PUREMA[®] H im HD-Verfahren signifikant geringer (p=0,007) als bei PUREMA[®] H im HDF-Verfahren und als bei PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren (p<0,00001). PUREMA[®] H im HDF-Verfahren verlor signifikant weniger (p=0,0020) Albumin ins Dialysat als

PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren. PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren verlor signifikant mehr ($p < 0,00001$) Albumin ins Dialysat als PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren.

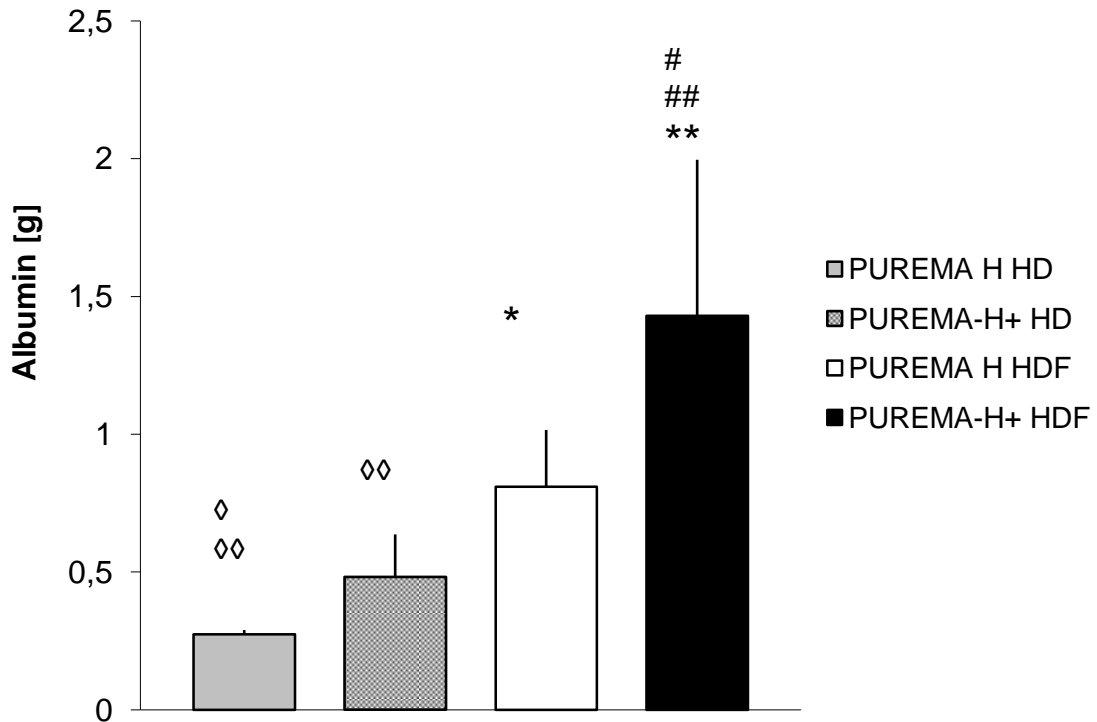


Abb. 21: Vergleich von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF bezüglich des Albuminverlustes ins Dialysat; * $p = 0,0076$ vs. 190H HD, ** $p < 0,00001$ vs. 190H HD, # $p = 0,0020$ vs. 190H HDF, ## $p < 0,00001$ vs. 190H+ HD, ◇ $p < 0,05$ vs. 190 H+ HD, ◇◇ $p < 0,001$ vs. 190 H HDF und 190 H+ HDF, □ $p = 0,002$ vs. 190 H+ HDF

3.3.5. Dialysatmassentransfer der proteingebundenen Urämietoxine:

Im Dialysatpool nach Behandlung mit PUREMA[®] H im HD-Verfahren (Abbildung 22) war die höchste Menge an Paracresylsulfat im Dialysat zu finden (604 ± 445 μMol). PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren erzielte dagegen die geringste Masse der Substanz (303 ± 290 μMol), jedoch war der Unterschied zwischen den

beiden Filtern im HD-Verfahren nicht signifikant. Im HDF-Verfahren wurde sowohl durch PUREMA[®] H ($428 \pm 391 \mu\text{Mol}$), als auch durch PUREMA[®] H+ ($461 \pm 430 \mu\text{Mol}$) annähernd die gleiche Menge an Paracresylsulfat eliminiert.

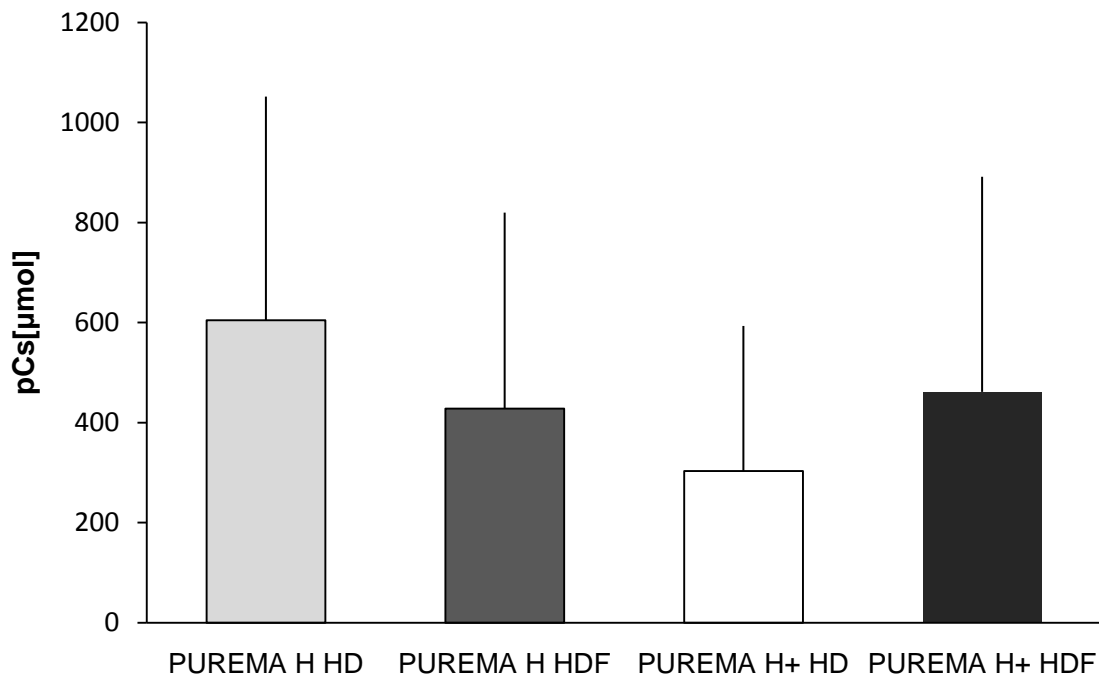


Abb. 22: Vergleich von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF bezüglich des Dialysatmassentransfers von Paracresylsulfat

Hinsichtlich des Dialysatmassentransfers von Paracresylgluconid konnte mit PUREMA[®] H im HD-Verfahren (Abbildung 23) keine signifikant höhere Elimination erreicht werden als im HDF-Verfahren ($471 \pm 337 \mu\text{Mol}$ vs. $280 \pm 278 \mu\text{Mol}$). Unter der Behandlung mit PUREMA[®] H+ konnten zwischen HD- und HDF-Verfahren keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden ($303 \pm 290 \mu\text{Mol}$ vs. $461 \pm 430 \mu\text{Mol}$).

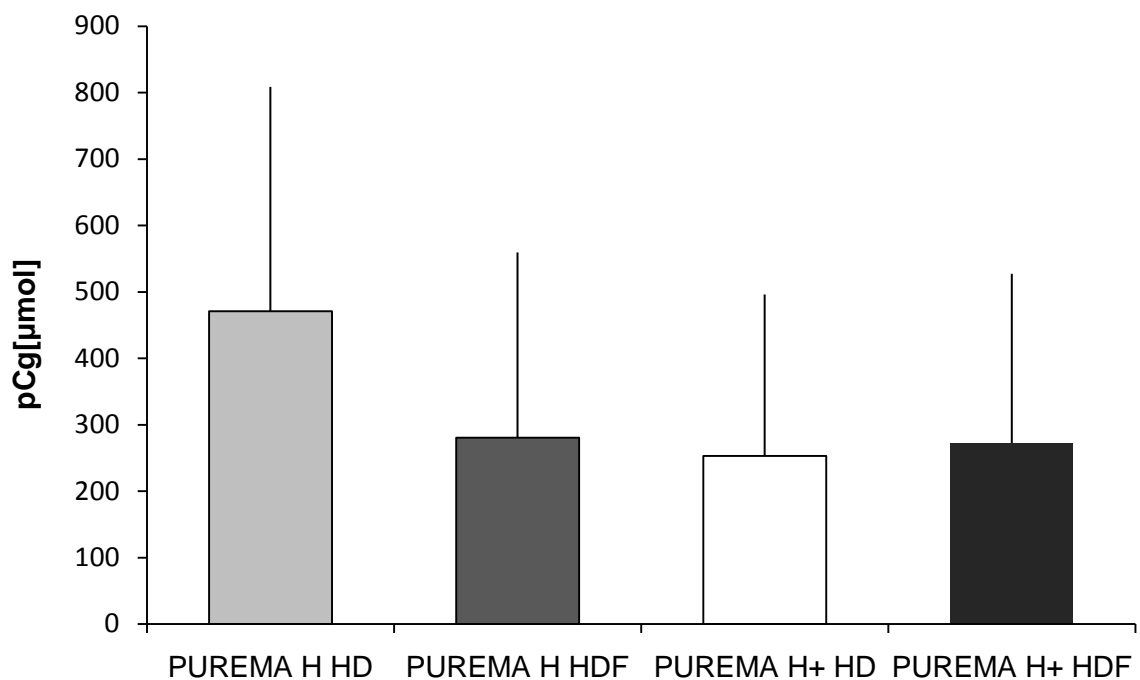


Abb. 23: Vergleich von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF bezüglich des Dialysatmassentransfers von Paracresylglucuronid

Bezüglich der transmembranösen Elimination von Indoxylsulfat (Abbildung 24) verhielten sich PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren ähnlich ($352 \pm 196 \mu\text{Mol}$ vs. $401 \pm 269 \mu\text{Mol}$). Im HD-Verfahren war die PUREMA[®] H-Membran der PUREMA[®] H+-Membran signifikant überlegen ($539 \pm 235 \mu\text{Mol}$ vs. $422 \pm 237 \mu\text{Mol}$; $p=0,0406$).

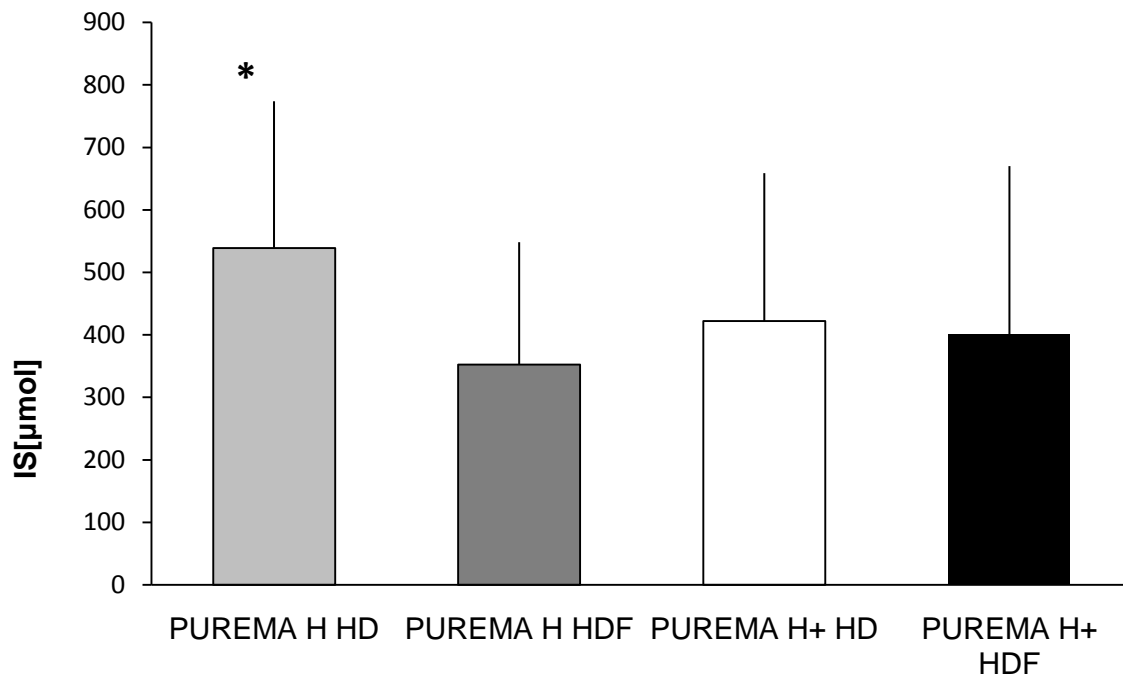


Abb. 24: Vergleich von PUREMA[®] H und H+ in HD und HDF bezüglich des Dialysatmassentransfers von Indoxylsulfat; * p=0,0406 vs. 190H+ HD

3.3.6. Kinetik der Urämietoxine

Um die Aussagen zur Kinetik der Urämietoxine Indoxylsulfat, Paracresylsulfat und Paracresylglucoronid treffen zu können, wurde ihre Konzentration im Dialysat jeweils nach 30 und nach 180 min gemessen.

Bei Behandlung mit PUREMA[®] H im HD-Verfahren (Abbildung 25) betrug die Konzentration von Indoxylsulfat im Dialysat nach 30 min $5,3 \pm 2,6 \mu\text{Mol/L}$ und fiel dann auf $4,0 \pm 1,6 \mu\text{Mol/L}$ ab. Bei Paracresylsulfat wurden nach 30 min $4,3 \pm 3,6 \mu\text{Mol/L}$ gemessen und nach 180 min $3,6 \pm 3,2 \mu\text{Mol/L}$. Während Paracresylglucoronid sich nach 30 min noch in einer Konzentration von $5,5 \pm 5,0 \mu\text{Mol/L}$ im Dialysat befand, konnten nach 180 min nur noch $1,7 \pm 1,7 \mu\text{Mol/L}$ gemessen werden.

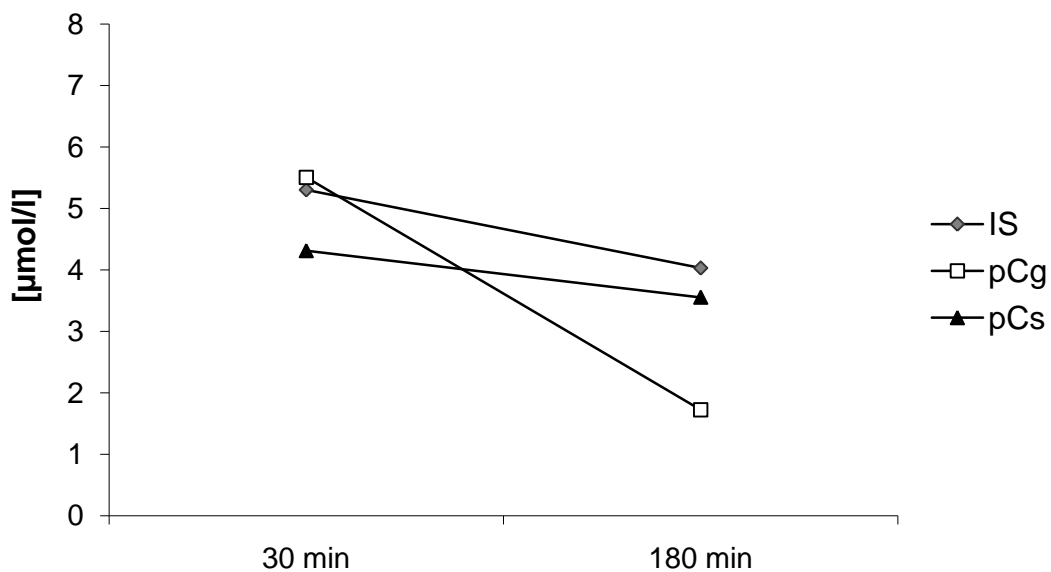


Abb. 25: Verlauf der Dialysatkonzentration der Urämietoxine Indoxylsulfat, Paracresylsulfat und Paracresylglucoronid bei der Behandlung mit PUREMA[®] H im HD-Verfahren

Auch bei PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren (Abbildung 26) verhielten sich die Konzentrationen der Urämietoxine im Dialysat ähnlich. Nach 30 min wurden $5,0 \pm 2,6$ µMol/L Indoxylsulfat im Dialysat gemessen und nach 180 min $3,4 \pm 2,0$ µMol/L. Bezüglich der Kinetik von Paracresylsulfat konnten Werte von $4,6 \pm 4,2$ µMol/L nach 30 min und $3,7 \pm 3,7$ µMol/L nach 180 min ermittelt werden. Auch bei Behandlung mit PUREMA[®] H+ im HD-Verfahren zeigte Paracresylglucoronid den stärksten Unterschied zwischen der Konzentration im Dialysat nach 30 min ($5,4 \pm 4,3$ µMol/L) und derjenigen nach 180 min ($1,8 \pm 1,7$ µMol/L).

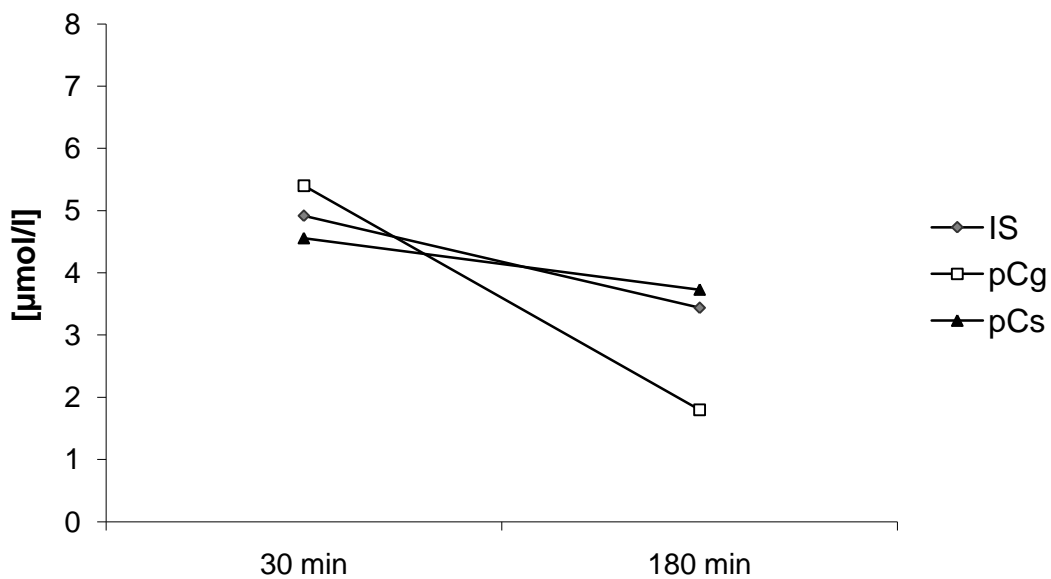


Abb. 26: Verlauf der Dialysatkonzentration der Urämietoxine Indoxylsulfat, Paracresylsulfat und Paracresylglucoronid bei der Behandlung mit PUREMA® H+ im HD-Verfahren

Unter der Behandlung mit PUREMA® H im HDF-Verfahren (Abbildung 27) konnte nach 30 min eine Konzentration von $3,5 \pm 2,0$ µMol/L Indoxylsulfat im Dialysat gemessen werden, die nach 180 min auf $1,9 \pm 1,0$ µMol/L abfiel. Paracresylsulfat zeigte mit Werten von $4,0 \pm 3,4$ µMol/L nach 30 min und $3,0 \pm 2,4$ µMol/L eine weniger stark ausgeprägten Abfall. Der deutlichste Unterschied war wiederum bei den Konzentrationen von Paracresylglucoronid nach 30 min ($3,8 \pm 3,7$ µMol/L) und 180 min ($1,2 \pm 0,9$ µMol/L) festzustellen.

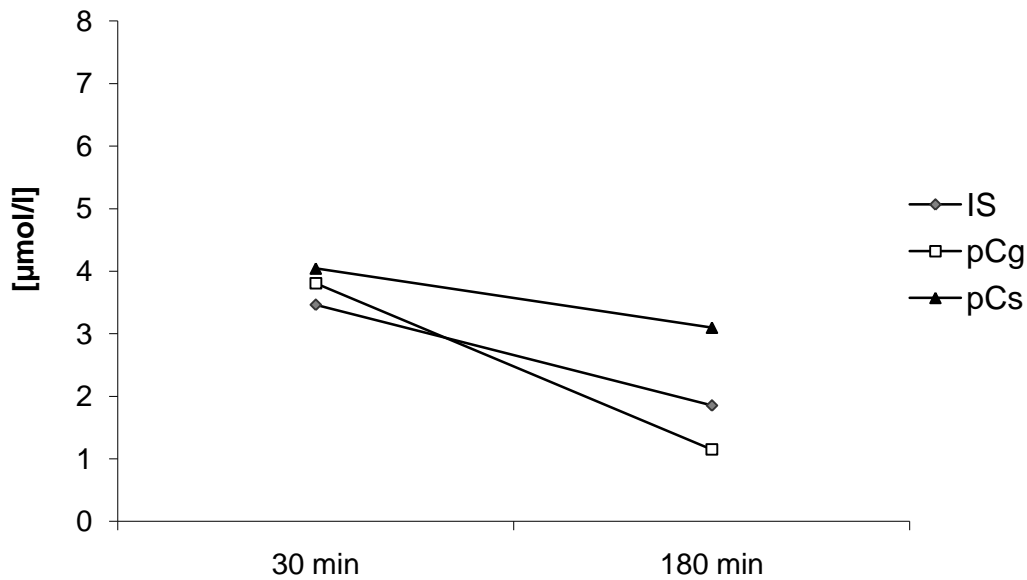


Abb. 27: Verlauf der Dialysatkonzentration der Urämietoxine Indoxylsulfat, Paracresylsulfat und Paracresylgluconid bei der Behandlung mit PUREMA[®] H im HDF-Verfahren

Die Kinetik der Urämietoxine unter der Behandlung mit PUREMA[®] H+ im HDF-Verfahren (Abbildung 28) stellte sich wie folgt dar: Nach 30 min betrug die Konzentration von Indoxylsulfat im Dialysat $3,4 \pm 2,0 \mu\text{Mol/L}$ und nach 180 min $2,7 \pm 1,7 \mu\text{Mol/L}$. Paracresylsulfat zeigte auch hier eine eher unauffällige Kinetik mit Werten von $3,9 \pm 4,0 \mu\text{Mol/L}$ nach 30 min und $2,8 \pm 2,6 \mu\text{Mol/L}$. Im Gegensatz dazu war die Konzentration an Paracresylgluconid im Dialysat nach 30 min $3,6 \pm 3,5 \mu\text{Mol/L}$ und fiel nach 180 min ab auf $0,9 \pm 0,8 \mu\text{Mol/L}$.

Fasst man die Ergebnisse der Kinetik der Urämietoxine im Dialysat zusammen kann festgehalten werden, dass sowohl unter der Behandlung mit PUREMA[®] H, als auch mit PUREMA[®] H+, Paracresylgluconid mit beiden Behandlungsverfahren den stärksten Abfall und Paracresylsulfat den schwächsten Abfall zeigte. Außerdem waren die Konzentrationen aller drei Urämietoxine bei Behandlung im HDF-Verfahren geringer als bei Behandlung im HD-Verfahren.

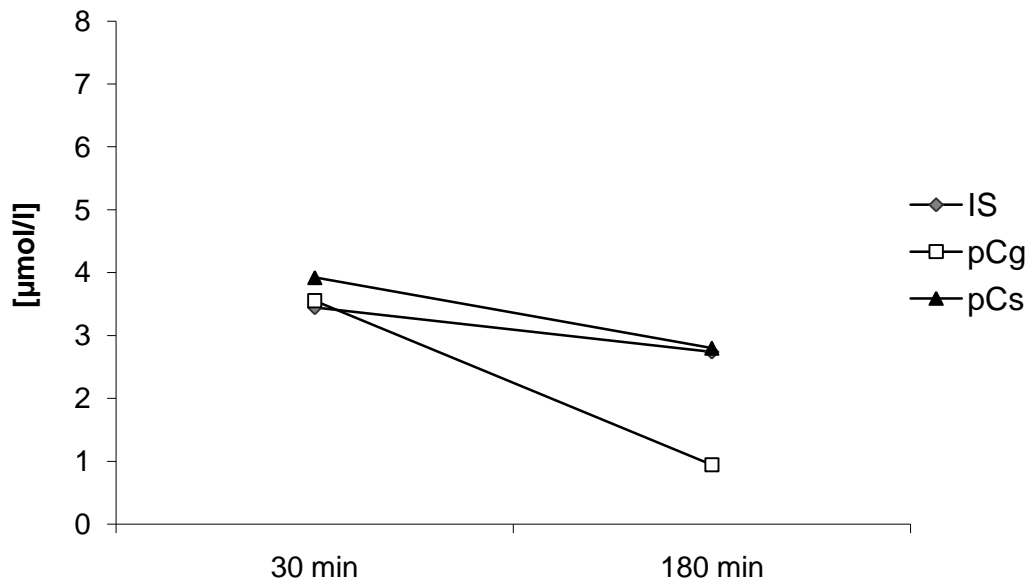


Abb. 28: Verlauf der Dialysatkonzentration der Urämietoxine Indoxylsulfat, Paracresylsulfat und Paracresylglucuronid bei der Behandlung mit PUREMA® H im HDF-Verfahren

3.4 Masse der proteingebundenen Urämietoxine im Dialysatpool und Plasmakonzentration vor Behandlungsbeginn

Um die Bedeutung der Plasmakonzentration der proteingebundenen Toxine vor Behandlung für deren Entfernung mittels Dialyse einschätzen zu können wurde auch die Masse der proteingebundenen Toxine im Dialysat gemessen. Hierbei wurde angenommen, dass es sich im Dialysatpool um den freien Anteil der Toxine handelte, da die gebundenen Toxine die Dialysemembran nicht passieren können. Es wurden außerdem die Plasmakonzentrationen vor der Behandlung mit denjenigen nach der Dialyse verglichen und es wurde die Korrelation zwischen den prädialytischen Plasmakonzentrationen und der Masse im Dialysatpool berechnet (s. Tabelle E). Dabei fiel zum einen eine signifikante Reduktion der Konzentration von pCs und IS im Plasma auf, zum anderen eine deutlich positive Korrelation (für pCs: $r=0,906$ für die gebundene Fraktion, $r=0,800$ für die freie Fraktion; für IS: $r=0,920$ für die gebundene

Fraktion und $r=0,873$ für die freie Fraktion) zwischen der Plasmakonzentration vor Behandlung und der Masse im Dialysat. Für pCg konnten keine signifikanten Ergebnisse ermittelt werden.

Tabelle E: Vergleich der Plasmakonzentrationen der proteingebundenen Toxine vor und nach Dialyse, sowie der Plasmakonzentration vor Dialyse mit der Masse der proteingebundenen Toxine im Dialysat; * $p<0,05$ vs. Plasmakonzentration vor Behandlung; ** $p<0,01$ vs. Plasmakonzentrationen vor Behandlung; # $p<0,001$ vs. Plasmakonzentration vor Behandlung

		p-Cresylsulfat		
		prä [$\mu\text{Mol/L}$]	post [$\mu\text{Mol/L}$]	Dialysat [mol]
190 H in HD	gebunden	139,8 \pm 82,9	88,6 \pm 55,1*	604 \pm 447
	frei	5,5 \pm 4,3	4,0 \pm 2,2*	604 \pm 447
190 H+ in HD	gebunden	121,2 \pm 77,1	83,0 \pm 62,3**	303 \pm 290
	frei	5,4 \pm 4,2	4,5 \pm 2,8	303 \pm 290
190 H in HDF	gebunden	114,4 \pm 97,2	70,8 \pm 55,9*	428 \pm 391
	frei	5,4 \pm 4,8	3,9 \pm 3,1	428 \pm 391
190 H+ in HDF	gebunden	109,3 \pm 109,5	75,7 \pm 59,6*	461 \pm 430
	frei	5,6 \pm 5,0	3,5 \pm 2,1*	461 \pm 430
		p-Cresylglucoronid		
		prä [$\mu\text{Mol/L}$]	post [$\mu\text{Mol/L}$]	Dialysat [mol]

190 H in HD	gebunden	24,5 ± 14,6	3,7 ± 3,6	471 ± 337
	frei	17,3 ± 15,6	3,1 ± 2,1	471 ± 337
190 H+ in HD	gebunden	19,5 ± 13,0	4,8 ± 2,2	253 ± 243
	frei	16,0 ± 12,2	3,6 ± 2,9	253 ± 243
190 H in HDF	gebunden	16,2 ± 15,3	3,7 ± 2,2	280 ± 279
	frei	15,3 ± 14,0	2,2 ± 1,6	280 ± 279
190 H+ in HDF	gebunden	15,2 ± 15,1	2,4 ± 1,3	272 ± 255
	frei	15,3 ± 14,8	2,0 ± 1,2	272 ± 255
		Indoxylsulfat		
		prä [µMol/L]	post [µMol/L]	Dialysat [mol]
190 H in HD	gebunden	104,0 ± 37,1	62,5 ± 24,8 [#]	539 ± 235
	frei	4,6 ± 2,2	2,4 ± 1,1 ^{**}	539 ± 235
190 H+ in HD	gebunden	86,7 ± 46,2	51,5 ± 34,1 [#]	422 ± 237
	frei	3,8 ± 2,0	2,5 ± 1,9 [*]	422 ± 237
190 H in HDF	gebunden	79,4 ± 41,4	44,3 ± 26,7 [#]	353 ± 196
	frei	3,0 ± 1,5	1,8 ± 0,9 ^{**}	353 ± 196
190 H+ in HDF	gebunden	83,7 ± 54,0	47,1 ± 34,2 ^{**}	401 ± 269
	frei	3,0 ± 1,8	1,6 ± 0,9 ^{**}	401 ± 269

4. DISKUSSION

Die Mortalität unter Dialysepatienten ist gegenüber der Normalbevölkerung um das 6,7-8,5-fache gesteigert (Annual Data Report USRDS 2009). Hierfür wird unter anderem die Akkumulation von Urämietoxinen verantwortlich gemacht. Urämietoxine und mögliche Wege, diese durch extrakorporale Blutreinigungsverfahren zu eliminieren sind daher Gegenstand intensiver Forschungen (Vanholder et al. 2003 und 2008; Jourde-Chiche et al. 2009). In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, welches Dialyseverfahren die besten Ergebnisse hinsichtlich Verträglichkeit und Langzeitüberleben der Patienten bringt. Den bisher wenigen retrospektiven Analysen zufolge scheint die HDF der HD bei der Behandlung chronisch dialysepflichtiger Patienten überlegen zu sein (Canaud et al. 2006, Vilar et al. 2009), wobei erste prospektive Studien aktuell auf dem Weg sind.

Ein weiterer Fokus in der Weiterentwicklung von extrakorporalen Nierenersatzverfahren sind die Dialysemembranen und die Frage nach der Permeabilität, um einerseits die Masse der eliminierten Urämietoxine zu maximieren, aber andererseits den Albuminverlust möglichst gering zu halten (Eknoyan et al. 2002, Krieter et al. 2003).

PUREMA[®] H ist eine Dialysemembran, die sich im klinischen Alltag bereits durch ihre hervorragende Biokompatibilität und durch eine sehr gute Elimination kleinmolekulargewichtiger Proteine bewährt hat (Krieter et al. 2008). Es handelt sich um eine synthetische High-flux-Dialysemembran aus hydrophobem Polyethersulfon und hydrophilem Polyvinylpyrrolidon, deren innere Oberfläche während des Herstellungsprozesses mit einem negativ geladenen Polyelektrolytadditiv behandelt wird. Dadurch kommt es zu einer Neuausrichtung der polaren Polyvinylpyrrolidon-Moleküle, gleichzeitig findet sich ein höheres Z-Potential der Membranoberfläche. Durch die auf diese Weise optimierte Porenmorphologie und -verteilung lassen sich die hervorragenden Filtereigenschaften von PUREMA[®] H bezüglich der kleinmolekulargewichtigen Proteine erklären (Krieter et al. 2007). PUREMA[®] H+

stellt eine modifizierte Form von PUREMA[®] H dar und unterscheidet sich von dieser lediglich durch eine erhöhte Permeabilität für kleinmolekulargewichtige Proteine. In der vorliegenden Studie sollten beide Membranen hinsichtlich ihrer klinischen Leistungsfähigkeit bei der Elimination kleinmolekulargewichtiger und proteingebundener Toxine verglichen werden.

4.1. Bewertung der Performanceparameter der klein- und mittelmolekularen Substanzen

Harnstoff ist ein anerkannter Marker für die Bewertung der Effizienz einer Dialysebehandlung hinsichtlich der Elimination harnpflichtiger Substanzen. Zudem korreliert die Harnstoffclearance mit den klinischen Resultaten die für Dialysepatienten erzielt werden (Vanholder et al. 1992) und wird als Markersubstanz zur Messung der Dialyседosis in Form von Harnstoffreduktionsrate und Kt/V herangezogen. Harnstoff stellt, genauso wie Phosphat, ein anerkanntes Molekül zur Bewertung der kleinmolekularen Clearance dar (Trachsler & Ambühl 2009).

Betrachtet man diese in der vorliegenden Studie, so wurde für Harnstoff unabhängig von der Membran oder dem Behandlungsverfahren stets eine höhere Clearance erzielt als für Phosphat. Phosphat wird vor allem intrazellulär gespeichert und hat nur sehr geringe Transferraten sowohl nach extra- als auch nach intrazellulär (Gutzwiller et al. 2002), was unter anderem einen Grund für die niedrigen Clearancewerte darstellt. Zehnder et al. stellten außerdem in einer 1999 veröffentlichten Studie fest, dass ca. 40% des Phosphats im Blutplasma an Natrium-, Kalium- und Magnesium-Salze gebunden vorliegt. Zudem haben die negativ geladenen Phosphatmoleküle die Eigenschaft, Wassermoleküle anzulagern (Kuhlmann 2010). Das Phosphatmolekül ist dadurch größer und verhält sich wie ein mittelmolekulares Molekül und ist somit schwieriger durch Hämodialyse zu entfernen als Harnstoff. Die geringsten Clearances in der Gruppe der kleinmolekularen Substanzen wurden für Kreatinin erzielt, was sich anhand der im Vergleich zu Harnstoff langsameren Diffusion von Kreatinin aus

der Blutzelle ins Plasma erklären lässt (Henderson et al. 1996). Wird ein Molekül (z.B. durch Dialyse) aus dem Plasma entfernt, flutet die Substanz aus der Blutzelle entlang des Konzentrationsgradienten nach, um das osmotische Gleichgewicht im Extrazellulärraum wiederherzustellen. Bei Kreatinin findet dieser Vorgang wesentlich langsamer als bei Harnstoff statt und setzt sich über längere Zeit nach Abnahme in der Blutprobe fort, so dass die Kreatininkonzentration im Plasma ansteigt und vollständig äquilibriert deutlich über der Konzentration von Harnstoff liegt. Folglich ist die Konzentrationsdifferenz im Plasma der vor und nach dem Dialysator entnommenen Proben und damit die Kreatininclearance geringer. Desweiteren korrelieren neben einem geringen Konzentrationsgradienten zwischen Plasma und Dialysat ein hohes Molekulargewicht des zu entfernenden Stoffes und die Membrandicke negativ mit der Diffusionsrate eines Stoffes (Vychytil & Haag-Weber 2006).

PUREMA[®] H wurde in der jüngsten Vergangenheit in zwei weiteren randomisierten „Cross-over“-Studien im HD-Verfahren getestet. Die Membran kam bei Krieter et al. 2007 und 2008 zum Einsatz. Die Oberfläche der Membran betrug in beiden Studien 1,7 m², damit war die in der vorliegenden Studie verwendete Membran 0,2 m² größer. Der Blut- und Dialysatfluss betrug jeweils 300 und 500 ml/min, somit war der Blutfluss in der vorliegenden Studie mit 378 ± 33 ml/min um 26% höher als bei Krieter et al. PUREMA[®] H erzielte in der vorliegenden Studie durchgehend höhere Clearances im kleinmolekularen Bereich als in den beiden Vergleichsstudien (4,5% höhere Kreatininclearance als 2008; 14% höhere Phosphatclearance als 2007; 27% höhere Harnstoffclearance als 2008), was sich mit der größeren Oberfläche von PUREMA[®] H und dem höheren Blutfluss erklären lässt.

In der vorliegenden Studie wurde PUREMA[®] H erstmals in HDF getestet und erzielte hinsichtlich der kleinmolekularen Clearances im Durchschnitt 8% bessere Ergebnisse als im HD-Verfahren. Ein Vergleich lässt sich auch mit den laut der DOPPS-Studie in Europa am häufigsten für HDF verwendeten

Membranen aus Polysulfon (1.8 m² Oberfläche) bzw. Polyamix[®] (1,7 m² Oberfläche) anstellen, die bei Krieter et al. 2008b verwendet wurden. Die Plasmaclearances für PUREMA[®] H in HD und für PSU und POX in HDF waren bei Krieter et al. 2008b sowohl für Harnstoff als auch für Phosphat und Kreatinin geringer als diejenigen, die in der vorliegenden Studie für PUREMA[®] H in HDF gemessen wurden. Die Studie von Krieter et al. 2008b ließ darauf schließen, dass PUREMA[®] H in HD genauso effektiv in der Entfernung klein- und mittelmolekulargewichtiger Substanzen ist wie die konventionellen Polysulfon- und Polyamix[®]- Membranen im HDF-Verfahren. Vor diesem Hintergrund erscheint es naheliegend, dass PUREMA[®] H in HDF den beiden Referenzmembranen Polysulfon und Polyamix[®] in HDF überlegen sein dürfte.

Auch die Clearances der mittelmolekulargewichtigen Proteine β_2 -Mikroglobulin, Cystatin C, Myoglobin und Retinol bindendem Protein waren sowohl nach 30 min, als auch nach 180 min bei beiden Membranen im HDF-Verfahren im Durchschnitt 34% höher als im HD-Verfahren.

Dieses Ergebnis überrascht nicht, da die Überlegenheit von HDF gegenüber HD hinsichtlich der größeren, d.h. mittelmolekularen Substanzen bereits in mehreren Studien dargelegt wurde (Canaud et al. 1998, Lornoy et al. 2000, Wizemann et al. 2000, Locatelli et al. 2009).

Dennoch wurden laut dem „Bericht über Dialysebehandlung und Nierentransplantation in Deutschland 2006/2007“ (Frei & Schober-Halstenberg 2006/2007) in Deutschland im Jahr 2006 87,5% der dialysepflichtigen Patienten mit HD versorgt und nur 7,3% mit HDF, obwohl sich möglicherweise ein besseres Überleben ergäbe (Passlick-Deetjen et al. 2002). In der DOPPS-Studie zeigte sich, dass Patienten die hocheffiziente HDF erhielten, ein um 35% geringeres Mortalitätsrisiko hatten als Patienten die Low-flux-HD erhielten. Durch die Kombination von Konvektion, bei der ein Ultrafiltrat abgepresst und durch ein Infusat ersetzt wird, und Diffusion stellt HDF eine besonders effektive Dialysemethode dar, um das Spektrum der eliminierten harnpflichtigen Substanzen bis hin zu mittel- und großmolekularen Proteinen zu erweitern (Canaud et al. 2006). Je größer ein Molekül ist, desto langsamer diffundiert es, weswegen Diffusion bei der Entfernung mittelmolekularer Proteine weniger

effektiv ist (Trachsler J et al. 2009). Online-HDF ist zudem ein Verfahren mit einer hohen Biokompatibilität. Patienten, die mit online-HDF behandelt werden setzen weniger proinflammatorisch aktive Moleküle, wie z. B. IL-1, IL-6 und TNF, frei und haben weniger Mikroinflammation (Vanholder et al. 2003, Guth et al. 2003).

Während sich die Überlegenheit des HDF- gegenüber dem HD-Verfahren in der vorliegenden Studie herausarbeiten ließ, konnte ein wesentlicher Unterschied zwischen den beiden Membranen PUREMA[®] H und PUREMA[®] H+ hinsichtlich der Clearances der kleinmolekulargewichtigen Proteine weder im HD-, noch im HDF-Verfahren, gefunden werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie für die Clearances von β_2 -Mikroglobulin, Cystatin C und Myoglobin lagen für PUREMA[®] H in HD im Schnitt 2 bis 10% niedriger verglichen mit den Angaben in der Literatur (Krieter et al. 2007), trotz des höheren Blutflusses in der vorliegenden Studie. Eine mögliche Erklärung für die im Vergleich niedrigen Clearancewerte könnten Unterschiede in der Verarbeitung der Membran sein. In der Studie von 2007 wurde ein Prototyp der Membran verwendet, welcher von einem anderen Hersteller in einen Dialysator außerhalb der Serienproduktion eingebaut wurde. Zudem wurde die Membran 2007 zwar demselben γ -Strahlen-Sterilisationsverfahren unterzogen wie in der der vorliegenden Studie, allerdings unterschied sich vermutlich die Art der Durchführung (z.B. Dosis, Restfeuchtigkeit vor Sterilisation, etc.), was eine veränderte Porenmorphologie und damit auch eine veränderte Permeabilität der Membran zur Folge gehabt haben könnte (Takesawa et al. 1987).

Betrachtet man die Ergebnisse für PUREMA[®] H in HD, so fallen die Clearances für β_2 -Mikroglobulin, Cystatin C und Myoglobin nach 180 min im Vergleich zu 30 min um ca. 8 bis 20% ab. Dieselbe Beobachtung machten auch Krieter et al. 2007, hier wurde ein Clearanceabfall über die Zeit von ca. 15% beobachtet.

Eine mögliche Erklärung für den Clearanceabfall über die Behandlungszeit ist die Bildung einer Sekundärmembran durch Eiweiße und zelluläre Bestandteile, wie zum Beispiel Thrombozyten auf der Dialysemembranoberfläche. Clark und

Gao beschrieben dieses Phänomen in einem Artikel von 2002. Durch diese Sekundärmembran wird vor allem die Passage höhermolekularer Substanzen, deren Größe sich nahe an der Trenngrenze der Dialysemembran befindet, betroffen.

Der beschriebene Clearanceabfall könnte auch auf einen verminderten Diffusionsgradienten zurückzuführen sein. Der Diffusionsgradient stellt ein Maß für den Konzentrationsunterschied der Substanzen auf beiden Seiten der Membran dar. Je mehr sich die Konzentrationen einander angleichen, desto kleiner wird er (Kramme 2006). Diffusion und damit auch der Diffusionsgradient spielen eine führende Rolle bei der Elimination der kleinmolekularen Proteine (Sargent et al. 1996). Auch wenn die Elimination mittelmolekularer Proteine zum Großteil durch Konvektion bestimmt wird, kann Diffusion eine zusätzliche Rolle spielen, sofern moderne, hoch permeable „High-flux“-Membranen zum Einsatz kommen (Tattersall 2007, Trachsler et al. 2009).

Die gemessenen Plasmaclearances geben das Plasmavolumen pro Zeit an, das von einer definierten Substanz vollständig gereinigt wird. Daraus lässt sich auf die Menge der entfernten Substanz schließen (Seldin 2004). Dagegen spiegeln Reduktionsraten wider, welcher Anteil der gemessenen Substanz über die gesamte Behandlungsdauer durch den Dialysator aus dem Körper des Patienten entfernt wird. Die Berechnung beruht auf dem Quotienten aus der prä- und postdialytischen Serumkonzentration der Substanz (Kuhlmann & Riegel 2006).

In der vorliegenden Studie wurden die Reduktionsraten der kleinmolekulargewichtigen Proteine bestimmt, welche entsprechend den Plasmaclearances zeigten, dass das HDF- dem HD-Verfahren überlegen war. Um die Eliminationsleistung der Dialysatoren besser darzustellen, wurden zusätzlich die Reduktionsraten des Zytokins Interleukin-6 (26000 Da), eines weiteren Vertreters der kleinmolekulargewichtigen Proteine, gemessen. Es sollte insbesondere unterstrichen werden, dass PUREMA[®] H+ wesentlich durchlässiger ist als PUREMA[®] H, was sich allerdings durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie nicht bestätigen ließ. Dementsprechend zeigten die für

Interleukin-6 gemessenen Werte keine Unterschiede, weder zwischen den beiden Membranen, noch zwischen den Behandlungsarten. Die IL-6-Reduktionsraten waren sowohl in HD, als auch in HDF vernachlässigbar, so dass von einer niedrigeren Trenngrenze der Membranen auszugehen ist. Darüber hinaus konnte die Hypothese von Guth et al. 2003, nach der „Online“-HDF bezüglich der IL-6-Elimination herkömmlicher HD überlegen sei, nicht bestätigt werden.

Im Gegensatz dazu zeigten die Reduktionsraten von β_2 -Mikroglobulin (PUREMA[®] H und H+ in HD: $68 \pm 6\%$, in HDF: $78 \pm 5\%$), Cystatin C (PUREMA[®] H und H+ in HD: $67 \pm 6\%$, in HDF: $77 \pm 5\%$ vs. $76 \pm 5\%$), Myoglobin (PUREMA[®] H und H+ in HD: $37 \pm 9\%$ vs. $46 \pm 9\%$; in HDF: $65 \pm 6\%$ vs. $66 \pm 7\%$) und Retinol-bindendem Protein (PUREMA[®] H und H+ in HD: $15 \pm 5\%$ vs. $18 \pm 5\%$; in HDF: $19 \pm 8\%$ vs. $26 \pm 16\%$), dass die Eliminationsleistung beider Membranen im HDF-Verfahren signifikant besser als im HD-Verfahren war. Zusätzlich war im HD-Verfahren PUREMA[®] H der durchlässigeren Membran PUREMA[®] H+ bezüglich der Reduktionsraten von Myoglobin signifikant unterlegen. Myoglobin ist mit 17000 Da das größte Molekül aus der Gruppe der mittelmolekulargewichtigen Proteine. Die signifikante Überlegenheit der permeableren PUREMA[®] H+-Membran ist folglich nicht völlig unerwartet. In der Studie von Krieter et al. 2007 erzielte PUREMA[®] H in HD für Myoglobin eine 39,7 % höhere Reduktionsrate, was angesichts des höheren Blutflusses und der größeren Membranoberfläche in der vorliegenden Studie überrascht und letztlich nur auf die bereits beschriebenen Unterschiede in der Verarbeitung der Membranen zurückzuführen ist. Die Reduktionsraten die für β_2 -Mikroglobulin und Cystatin C bei Krieter et al. 2007 bestimmt wurden, entsprechen hingegen den vorliegenden Ergebnissen. Betrachtet man die Reduktionsraten, die Lornoy et al. 2000 mit einem vergleichbaren „High-flux“-Polysulfon-Dialysator für β_2 -Mikroglobulin im HD-Verfahren erzielten (49,7 %), so schnitt PUREMA[®] H, sowohl in der vorliegenden Studie, als auch bei Krieter et al. deutlich besser ab. Die β_2 -Mikroglobulin-Reduktionsraten lagen in beiden Studien in HD über 38 % über den Ergebnissen von Lornoy et al. Auch im HDF-Verfahren erzielten PUREMA[®] H und H+ im Vergleich zu der bei Lornoy et al. verwendeten

Membran um 7,3% höhere Reduktionsraten. Bei der Betrachtung dieser Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass der Blutfluss in der vorliegenden Studie um 26% höher war als bei Lornoy et al. 2000. Dennoch lassen die Ergebnisse den Schluss zu, dass die in der vorliegenden Studie zum Einsatz gekommenen PUREMA[®]-Membranen effektiver hinsichtlich der Entfernung des mittelmolekularen Proteins β_2 -Mikroglobulin sind, als die bei Lornoy et al. 2000 verwendete Polysulfon-Membran.

Zur Beurteilung der Eliminationsleistung der Dialysemembranen wurden nicht nur Werte im Plasma bestimmt. Einen weiteren Parameter stellte auch der Massentransfer ins Dialysat dar. Betrachtet man den Dialysatmassentransfer von Harnstoff und Phosphat, so fällt auf, dass HDF sich nicht als dem HD-Verfahren überlegen erwies. Ein denkbarer Grund hierfür wäre eine Verunreinigung des Dialysats bei der Sammlung oder auch ein Sammelfehler, was wiederum die Genauigkeit der Messungen beeinträchtigt hätte. Dadurch wären feine Unterschiede zwischen HDF und HD eventuell verborgen geblieben.

Der Dialysatmassentransfer von β_2 -Mikroglobulin und Cystatin C zeigte analog zu den Reduktionsraten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Membranen, während allerdings die Plasmaclearances und insbesondere die Reduktionsraten darauf hindeuteten, dass das HDF- dem HD-Verfahren überlegen ist. Interessanterweise ergaben sich bei der Messung des Dialysatmassentransfers von Myoglobin signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsverfahren, wobei HDF HD sowohl bei Anwendung mit PUREMA[®] H, als auch mit PUREMA[®] H+ signifikant überlegen war. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Differenz zwischen HD und HDF, d.h. der konvektive Unterschied, in der Entfernung von Myoglobin, das mit 17000 Da relativ nah an der Trenngrenze der Membranen liegt, im Vergleich zu β_2 -Mikroglobulin und Cystatin C deutlich ausgeprägter ist. Hingegen ließen sich zwischen den Membranen keine Unterschiede hinsichtlich des Massentransfers von Myoglobin ins Dialysat ermitteln.

Während sich bei der Zusammenschau der bisher diskutierten Ergebnisse HDF als das der HD überlegene Verfahren bestätigte (Canaud 2006, Tattersall J.

2007, Ledebro & Blankestijn 2010), konnten durch PUREMA[®] H+ gegenüber PUREMA[®] H keine wesentlich besseren Ergebnisse erzielt werden. PUREMA[®] H+ erwies sich trotz eines größeren Porendurchmessers weder hinsichtlich der Plasmaclearances, noch der Reduktionsraten und des Dialysatmassentransfers als effektiver. Dies liegt möglicherweise daran, dass die Poren bei PUREMA[®] H+ im Mittel zwar minimal größer sind, sich jedoch hinsichtlich Morphologie und Verteilung nicht von PUREMA[®] H unterscheiden. Bemerkbar machten sich die größeren Poren lediglich hinsichtlich des Albuminverlustes ins Dialysat. Dieser war sowohl im HD-Verfahren ($0,27 \pm 0,02$ g vs. $0,48 \pm 0,15$ g), als auch im HDF-Verfahren ($0,8 \pm 0,2$ g vs. $1,4 \pm 0,6$ g) bei PUREMA[®] H+ signifikant größer als bei PUREMA[®] H. Allerdings betrug der maximale Albuminverlust gemessen für PUREMA[®] H+ in HDF nur 1,4 g. Dieser Wert liegt innerhalb des Limits welches im Allgemeinen als tolerabel angesehen wird (Krieter et al. 2003). Verglichen mit albumindurchlässigen „Super-flux-Dialysatoren“, bei denen ein Albuminverlust von 3 g (De Smet et al. 2007) über 7g (Ahrenholz et al. 2004) bis zu 25 g (Hillion et al. 1999) pro Behandlung beobachtet wurde, sind die in der vorliegenden Studie gemessenen Werte als sehr gering einzustufen (Krieter et al. 2003). Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass sich PUREMA[®] H+ für den Einsatz im HDF-Verfahren sehr gut eignet und darüber hinaus ggf. Spielraum besteht, die Permeabilität der Membran noch zu steigern. Ob und wie sich eine weitere Erhöhung der Membranpermeabilität auf die Entfernung von Urämietoxinen und auf den Albuminverlust auswirkt, bliebe in weiteren Studien abzuklären.

4.2 Proteingebundene Urämietoxine

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind bei chronisch Niereninsuffizienten weit verbreitet und stellen die häufigste Todesursache in dieser Patientengruppe dar (Frei & Schober-Halstenberg, 2006/2007). Jedoch scheinen die klassischen Risikofaktoren für kardiovaskuläre Ereignisse, wie Alter, Bluthochdruck, männliches Geschlecht, Rauchen und Adipositas, bei dieser Patientenpopulation nicht ausschlaggebend zu sein (Junyent et al. 2010). Dies führt zu der Vermutung, dass harnpflichtige Substanzen, die im Körper akkumulieren, das kardiovaskuläre Risiko steigern (Meijers et al. 2008). Insbesondere auch proteingebundene Toxine schädigen das kardiovaskuläre System der Dialysepatienten und haben einen negativen Einfluss auf die Progression der chronischen Niereninsuffizienz (Meijers et al. 2009). Es konnte jedoch noch kein befriedigendes Konzept zu deren Entfernung entwickelt werden (Jourde-Chiche et al. 2009), was unter anderem damit zusammenhängt, dass die proteingebundenen Toxine selbst zwar überwiegend kleinmolekular sind, durch ihr Trägerprotein allerdings zu den höhermolekularen Substanzen gerechnet werden müssen (Jourde-Chiche et al. 2009). Da nur die freie Fraktion diffundieren kann, können sie durch konventionelle Hämodialyse nicht in ausreichendem Maße entfernt werden (Brunet et al. 2003). Durch die zusätzliche Konvektion bei HDF wird zwar die Elimination verbessert, jedoch auch nur der freien Form und so bleibt auch hier der Nutzen limitiert. Ein wesentlicher Ansatz, die Entfernung der proteingebundenen Toxinen zu verbessern, wäre ihre Dissoziation vom Bindungsprotein zu stimulieren (Jourde-Chiche et al. 2009). Um die Elimination zu verbessern, sind verschiedene Ansätze denkbar, darunter ein größerer Durchmesser der Membranporen, die tägliche Hämodialyse (Rayment & Chow 2010), die Anwendung der Peritonealdialyse (Pham et al. 2008), das Hinzufügen adsorbierender Substanzen zum Dialysat (Meyer et al. 2007) oder auch die Steigerung von Membranoberfläche und Dialysatfluss (Luo et al. 2009). In der vorliegenden Studie sollte der Effekt einer größeren Membranpermeabilität und von

zusätzlicher Konvektion durch HDF auf die Entfernung proteingebundener Toxine untersucht werden.

Sowohl PUREMA[®] H, als auch die permeablere PUREMA[®] H+-Membran wurden in der vorliegenden Studie hinsichtlich ihrer Eliminationsleistung für die proteingebundenen Urämietoxine Indoxylsulfat, Paracresylsulfat, Paracresylglucuronid und des Aminosäurederivats ADMA getestet.

Paracresylsulfat (108 Da) gilt als Prototyp der proteingebundenen Urämietoxine. Bei dialysepflichtigen Patienten beträgt seine Proteinbindung ca. 90% (Bammens et al. 2006). In-vitro-Studien weisen darauf hin, dass pCs eine Rolle bei der Entstehung von Immunschwäche spielt. Erhöhte pCs-Spiegel im Blut vermindern die Zytokin-induzierte Expression von Adhäsionsmolekülen am Endothel, an welche die Phagozyten während der Immunantwort binden (Dou et al. 2002) und gehen mit erhöhten Konzentrationen von endothelialen Mikropartikeln einher (Winchester et al. 2009). Endotheliale Mikropartikel werden mit verminderter Gefäßelastizität in Zusammenhang gebracht und zudem als Trigger für thrombotische Vorgänge an Gefäßwänden und für Inflammation angesehen (Winchester et al. 2009). Ein Zusammenhang zwischen pCs-Akkumulation und dem vermehrten Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen bei chronischer Niereninsuffizienz ist somit naheliegend. Dies gilt auch für Indoxylsulfat. Es beeinträchtigt die endotheliale Proliferation bei der Wundreparation, wobei die Mechanismen, die dazu führen, noch nicht abschließend geklärt sind (Dou et al. 2004). Indoxylsulfat verändert außerdem das Gleichgewicht von pro- und antioxidativen Elementen in den Endothelzellen (Dou et al. 2007) und trägt somit zur endothelialen Dysfunktion bei chronisch niereninsuffizienten Patienten bei. Diese wiederum spielt eine entscheidende Rolle bei der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen, die die Haupttodesursache chronisch niereninsuffizienter Patienten darstellen. Die Integrität und funktionierende Reparaturmechanismen des Endothels stellen entscheidende Voraussetzungen für die Vermeidung vaskulärer Erkrankungen dar (Dou et al. 2004).

Paracresylglucoronid hingegen ist nur in sehr geringen Konzentrationen im Serum zu finden (Scheepers et al. 2007). Die Frage nach seiner Toxizität bleibt noch in weiteren Studien abzuklären.

Betrachtet man die Ergebnisse der Reduktionsraten, so wird pCg leichter durch extrakorporale Blutwäsche entfernt als pCs. Die gemessenen Reduktionsraten weisen darauf hin, dass sich die Toxine während der Dialysebehandlung unterschiedlich verhalten. Die Reduktionsraten für pCs betragen zwischen $29 \pm 33\%$ (PUREMA[®] H+ in HD) und $76 \pm 60\%$ (PUREMA[®] H+ in HDF) für die freie und zwischen $40 \pm 15\%$ (PUREMA[®] H+ in HDF) und $48 \pm 10\%$ (PUREMA[®] H in HDF) für die proteingebundene Fraktion. Für pCg hingegen waren die Reduktionsraten durchgehend zwischen $70 \pm 59\%$ (PUREMA[®] H+ in HDF, freie Fraktion) und $90 \pm 5\%$ (PUREMA[®] H+ in HDF, proteingebundene Fraktion). Ob diese Beobachtung allerdings bedeutsam für weitere Entwicklungen in der Nierenersatztherapie sein könnte, ist zum aktuellen Zeitpunkt nicht absehbar.

Die Werte, die in der vorliegenden Studie für pCs gemessen wurden lassen sich nur bedingt mit der Studie von Meert et al. aus dem Jahr 2009 vergleichen, da hier nicht zwischen freier und proteingebundener Fraktion unterschieden wurde, d. h., es wurde lediglich Total-pCs gemessen. Die Reduktionsraten die in der vorliegenden Studie für pCs erzielt wurden, sind etwas höher als die Reduktionsraten, die bei Meert et al. 2009 für pCs erzielt wurden. Meert et al. hatten eine „High-flux“-Membran mit $1,7 \text{ m}^2$ im post-HDF-Modus verwendet. Meert et al. hatten die Membran zusätzlich auch im prä-HDF und im prä-HF-Modus untersucht. Die Blutproben wurden nach 240 min entnommen und ergaben für pCs eine Reduktionsrate von $40,0 \pm 8,8\%$. Auch die Reduktionsraten für IS lagen in der vorliegenden Studie höher (zwischen $45 \pm 33\%$ für PUREMA[®] H, und $56 \pm 8\%$ für PUREMA[®] H+, freie Form, beides in HDF) als bei Meert et al. 2009 ($44,8 \pm 12,1\%$). Die PUREMA[®]-Membranen entfernen die erwähnten Toxine also effektiver als die von Meert et a. 2009 verwendete Vergleichsmembran, jedoch muss auch hier einschränkend erwähnt werden, dass sowohl der Blutfluss mit $311 \pm 17 \text{ ml/min}$, als auch die

Ultrafiltrationsrate mit 89 ± 5 ml/min bei Meert et al. 2009 niedriger lagen als in der vorliegenden Studie.

Im Gegensatz zu pCS und IS lassen sich für pCg aktuell keine geeigneten Studien zum Vergleich heranziehen, da unsere Messungen die ersten in dieser Form sind.

Zusätzlich zu den proteingebundenen Toxinen wurden auch die Reduktionsraten für das Aminosäurederivat ADMA gemessen, welches zu den Guanidinen gezählt wird (Jourde-Chiche et al. 2009). ADMA ist als einziger Vertreter dieser Gruppe ebenfalls kardiovaskulär toxisch, indem es die endotheliale NO-Synthase hemmt (Vallance et al. 1992). Stickstoffmonoxid aktiviert das Enzym lösliche Guanylatcyclase, welches durch Bildung des Botenstoffes zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) die Relaxation der glatten Gefäßmuskelzellen auslöst (Förstermann 2008). Die endotheliale NO-Synthase ist folglich an der Regulation des Gefäßmuskeltonus bzw. des Blutdrucks beteiligt. In der vorliegenden Studie konnten jedoch auch hinsichtlich der Reduktionsraten für ADMA, im Gegensatz zu Angaben in der Literatur (Schröder et al. 2001, Zhang et al. 2010) keine signifikanten Unterschiede, weder zwischen den Membranen, noch zwischen den Behandlungsverfahren, gezeigt werden. Bei Schröder et al. 2001 und bei Zhang et al. 2010 erwies sich HDF bezogen auf die Entfernung von ADMA als überlegen im Vergleich zu HD.

Für IS, pCs und pCg wurde zusätzlich zur Reduktionsrate noch die Masse an freiem Toxin im Dialysat bestimmt. Aus methodischen Gründen wurde diese für ADMA nicht bestimmt.

Gemäß des Fick'schen Gesetzes, ist die Diffusionsrate während der Hämodialyse proportional zum Konzentrationsunterschied einer Substanz zwischen Plasma und Dialysat, vorausgesetzt, dass der Abstand und die Fläche der Diffusionsbarriere, z. B. der Dialysemembran, genauso wie der Diffusionskoeffizient, welcher eine Konstante für jede Substanz ist, unverändert bleiben (Sargent & Gotch 1996). Die Masse im Dialysat ist hauptsächlich das Ergebnis der Diffusionsrate. Für kleine Teilchen, wie freies pCs, pCg und IS, ist

der Konzentrationsgradient die treibende Kraft für die Diffusion (Sargent und Gotch 1996). Abhängig vom Bindungskoeffizienten eines Toxins an ein Protein, löst es sich aus seiner Bindung dann, wenn der freie Anteil im Plasma entfernt wurde, wobei stets ein Gleichgewicht zwischen den freien und den gebundenen Anteilen im Plasma herrscht (Farrell et al. 1972).

In der vorliegenden Studie kann die Masse im Dialysat als ein besonders empfindlicher Parameter für die Entfernung von pCs, pCg und IS angesehen werden, da die getesteten Dialysemembranen beinahe identisch waren und deshalb Adsorption und andere physiochemische Unterschiede zwischen den Membranen vernachlässigt werden können. Es wurde die Korrelationen zwischen der Masse der proteingebundenen Toxine im Dialysat-Pool und den Plasmakonzentrationen vor Behandlungsbeginn analysiert. Interessanterweise wurde eine sehr starke positive Korrelation sowohl für die freien als auch für die gebundenen Anteile der Toxine gefunden (für pCs: $r=0,906$ für die gebundene Fraktion, $r=0,800$ für die freie Fraktion; für IS: $r=0,920$ für die gebundene Fraktion und $r=0,873$ für die freie Fraktion), was zu der Annahme führt, dass das Maß der Entfernung der proteingebundenen Toxine durch die Plasmakonzentration vor der Behandlung bestimmt wird.

Insgesamt wurde eine signifikante Reduktion der Plasmakonzentrationen von pCs und IS über die Behandlungszeit festgestellt (PUREMA[®] H+ in HDF: freies pCs vor Dialyse: $5,6 \pm 5,0 \mu\text{Mol/L}$ vs. $3,5 \pm 2,1 \mu\text{Mol/L}$, $p<0,05$), jedoch fand sich kein Unterschied bezüglich der Entfernung der proteingebundenen Toxine zwischen den Behandlungsformen. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die Konvektion kaum einen Einfluss darauf hat, sondern dass hauptsächlich Diffusion dafür verantwortlich ist. Diese Schlussfolgerung geht konform mit den Ergebnissen einer in vitro Studie, bei der der Einfluss von Ultrafiltration und Dialysatfluss bei kontinuierlicher HD und HDF untersucht wurde (Meyer et al. 2005). Darüber hinaus unterstreichen die engen Korrelationen zwischen Gesamtmasse im Dialysat und Plasmakonzentration vor der Behandlung die Validität unserer Messungen.

Insgesamt ließ sich hinsichtlich der Elimination der proteingebundenen Toxine weder eine Überlegenheit von PUREMA® H+ gegenüber PUREMA® H, noch des HD-Verfahrens gegenüber dem HDF-Verfahren feststellen. Meert et al. hatten 2010 eine Studie publiziert, die die Plasmakonzentrationen von jeweils totalem und freiem Paracresylsulfat und Indoxylsulfat vor Behandlungsbeginn über neun Wochen „online Postdilutions-HDF“ beobachtete. Die Ergebnisse zeigten einen signifikanten Abfall der Konzentration von totalem pCS über den Behandlungszeitraum. Für totales IS und für die freien Formen von pCs und IS ließ sich auch ein abfallender Trend festhalten, jedoch war dieser nicht signifikant. Obwohl die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung diesen Befund nicht bestätigen, legt die Studie von Meert et al. 2010 trotz ebenfalls kleiner Patientenzahl den Schluss nahe, dass online-HDF längerfristig angewandt der konventionellen Hämodialyse hinsichtlich der Elimination der proteingebundenen Toxine überlegen ist. Obwohl größer angelegte, kontrollierte Studien diese widersprüchlichen Ergebnisse verifizieren, sollten alternative Behandlungsstrategien, wie eingangs erwähnt, ebenso verfolgt werden, da zum heutigen Zeitpunkt noch keines der konventionellen Konzepte befriedigende Ergebnisse hinsichtlich der proteingebundenen Urämietoxinreduktion geliefert hat.

4.3 Fazit

Trotz höherer Permeabilität ließ sich für PUREMA® H+ weder in HD noch in HDF eine relevante Überlegenheit bei der Entfernung kleinmolekulargewichtiger Proteine gegenüber PUREMA® H nachweisen. Lediglich im Bereich der Trennschärfe der Membranen, d.h. hinsichtlich der größeren kleinmolekulargewichtigen Proteine Myoglobin und RbP (höhere RRs für PUREMA® H+) erwies sich PUREMA® H+ als durchlässiger. Diese Ergebnisse geben Anlass zu der Überlegung, dass bei der Weiterentwicklung von PUREMA® H zu PUREMA® H+ die Porengröße noch größer gewählt werden können, zumal der Albuminverlust, der für PUREMA® H+ in HDF gemessen wurde, als klinisch vernachlässigbar anzusehen ist, PUREMA® H+

sich somit aber grundsätzlich für den Einsatz in diesem Verfahren eignet. Im Gegensatz zu der erwarteten deutlich besseren Entfernung der kleinmolekulargewichtigen Markersubstanzen durch die stärker konvektive „Online Postdilutions-HDF“ war in der vorliegenden Studie die HD hinsichtlich der Elimination der proteingebundenen Toxine nicht unterlegen. Dies hebt die geringe Bedeutung der Konvektion für die Clearance der proteingebundenen Toxine hervor. Insgesamt waren die für die Entfernung der proteingebundenen Toxine erzielten Ergebnisse nicht zufriedenstellend. Darüber konnte ein direkter Zusammenhang der mit den Ausgangskonzentrationen im Plasma gezeigt werden. Deshalb ist es gerechtfertigt, alternative Behandlungsansätze, wie zum Beispiel die Verwendung zusätzlicher adsorbierender Substanzen zu verfolgen. Ob jedoch eine Senkung der Spiegel proteingebundener Toxine im Plasma durch andere Therapieansätze die Lebensqualität und die Mortalität von Dialysepatienten nachhaltig verbessern, bleibt abzuwarten

5. ZUSAMMENFASSUNG

Im Vergleich zur Normalbevölkerung ist die Morbidität und Mortalität chronisch hämodialysepflichtiger Patienten signifikant erhöht. Daher wird intensiv an der Optimierung der Nierenersatztherapie einschließlich der Effizienzsteigerung der Dialysemembranen gearbeitet. PUREMA[®] H ist eine innovative synthetische High-Flux-Membran, die in Form der durchlässigeren PUREMA[®] H+ nochmals weiterentwickelt wurde. In der vorliegenden Untersuchung wurde ein klinischer Vergleich der PUREMA[®] H- und H+-Membranen sowohl im HD-, als auch im HDF- Verfahren hinsichtlich der Elimination von Urämietoxinen in Abhängigkeit von der Permeabilität der Membranen für Albumin angestellt.

In einer prospektiven, randomisierten „Cross-over-Studie“ an acht chronisch dialysepflichtigen Patienten wurde die Behandlungseffizienz anhand von Plasmaclearances, Reduktionsraten und Dialysatmassentransfer von kleinmolekulargewichtigen Proteinen, sowie proteingebundenen Toxinen gemessen.

Weder für die kleinmolekularen Substanzen Harnstoff, Kreatinin und Phosphat noch für die mittelmolekularen Marker b2m und Cystatin C ließen sich in HD und HDF Unterschiede zwischen den beiden Membranen ermitteln. Lediglich hinsichtlich der Reduktionsraten der größeren Substanzen Myoglobin und Retinol-bindendem Protein wurden im HD-Verfahren mit PUREMA[®] H+ signifikant bessere Ergebnisse erzielt..Dagegen ließ sich die Überlegenheit von HDF gegenüber HD im Bereich der mittelmolekularen und größeren Proteine durchgehend nachweisen. So lagen die Clearances für b2m in HDF im Schnitt 52% über den im HD-Verfahren ermittelten Werten.

Bezüglich der proteingebundenen Toxine konnte weder zwischen den Membranen, noch zwischen HD und HDF ein signifikanter Unterschied in der Entfernung nachgewiesen werden. Die Reduktionsraten für die proteingebundenen Anteile von pCs betrugen zwischen ca.,40 und 48%, bei Indoxylsulfat lagen sie zwischen 50 und 55%. Interessanterweise fand sich ein

hochgradiger direkter positiver Zusammenhang zwischen der Konzentration von pCs und IS im Plasma vor der Behandlung und der entfernten Masse der freien Fraktion im Dialysat.

Der Albuminverlust ins Dialysat war bei PUREMA[®] H+ in beiden Verfahren signifikant größer als bei PUREMA[®] H, betrug jedoch maximal 1,4 g (PUREMA[®] H+ in HDF). Eine derartige Größenordnung ist klinisch als sehr gering einzustufen, so dass die Albuminpermeabilität von PUREMA[®] H+ noch gesteigert werden könnte, um damit über eine konsekutive Erhöhung der internen Filtration ggf. eine Verbesserung der konvektiven Entfernung von kleinmolekulargewichtigen Urämietoxinen herbeizuführen. Ob eine Steigerung der Porengröße auch zu einer effizienteren Elimination von proteingebundenen Urämietoxinen führt, dürfte jedoch höchst fraglich sein, da die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung im Gegensatz zu Diffusion nur für eine unbedeutende Rolle von Konvektion bei der Entfernung dieser Substanzen sprechen. Diesbezüglich sind alternative, z.B. adsorptive Behandlungsstrategien möglicherweise vielversprechender.

6. LITERATURVERZEICHNIS

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(3), 275-316

Bammens B, Evenepoel P, Keuleers H, Verbeke K, Vanrenterghem Y (2006): Free serum concentrations of the protein-bound retention solute p-cresol predict mortality in hemodialysis patients. *Kidney International* 69(6), 1081-1087

Barreto D, Barreto F, Liabeuf S, Temmar M, Lemke HD, Tribouilloy C, Choukroun G, Vanholder R, Massy Z on behalf of the European Uremic Toxin Work Group (EUTox) (2010): Plasma interleukin-6 is independently associated with mortality in both hemodialysis and pre-dialysis patients with chronic kidney disease. *Kidney International* 77(6), 550-556

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(1), 40-45

Beerenhout CH, Luik AJ, Jeuken-Mertens SG, Bekers O, Menheere P, Hover L, Klaassen L, van der Sande FM, Cheriex EC, Meert N, Leunissen KM, Kooman JP (2005): Pre-dilution on-line haemofiltration vs low-flux haemodialysis: a randomized prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 20(6), 1155-1163

Benedum J (2003): Die Frühgeschichte der künstlichen Niere. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 38, 681-688

Bergström J, Wehle B (1987): No change in corrected β_2 -microglobulin concentration after cuprophane haemodialysis. *Lancet* 1(8533), 628-629

Brigelius-Flohé R (2008): Vitamine und Spurenelemente, in: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, hrsg. v. Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K, Urban & Fischer, 756-757

Brunet P, Dou L, Cerini C, Berland Y (2003): Protein-bound uremic retention solutes. *Adv Ren Replace Ther* 10(4), 310-320

Busse C (2006): Blutreinigungssysteme, in: Medizintechnik, hrsg. v. Kramme R, Springer Verlag, 456

Canaud B, Bosc JY, Leray H, Stec F, Argiles A, Leblanc M, Mion C (1998): On-line haemodiafiltration: state of the art. *Nephrol Dial Transplant* 13(Suppl 5), 3-11

Canaud B, Bragg-Gresham 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 International* 69(11), 2087-2093

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(1), 41-47

Coburn JW, Salusky IB (1989): Control of serum phosphorus in uremia. *N Engl J Med* 320(17), 1140-1142

Cohen G, Hörl WH (2004): Retinol binding protein isolated from acute renal failure patients inhibits polymorphonuclear leucocyte functions. *Eur J Clin Invest* 34(11), 774-781

De Smet R, David F, Sandrab P, Van Kaera J, Lesaffer G, Dhondt A, Lameire N, Vanholder R (1998): A sensitive HPLC method for the quantification of free and total p-cresol in patients with chronic renal failure. *Clinica Chimica Acta* 278(1), 1-21

De Smet R, Dhondt A, Eloot S, Galli F, Waterloos MA, Vanholder R (2007): Effect of the super-flux cellulose triacetate dialyser membrane on the removal of non-protein-bound and protein-bound uraemic solutes. *Nephrol Dial Transplant* 22(7), 2006-2012

Dou L, Cerini C, Brunet P, Guilianelli C, Moal V, Grau G, De Smet R, Vanholder R, Sampol J, Berland Y (2002): P-Cresol, a uremic toxin, decreases endothelial cell response to inflammatory cytokines. *Kidney Int* 62(6), 1999-2009

Dou L, Bertrand E, Cerini C, Faure V, Sampol J, Vanholder R, Berland Y, Brunet P (2004): The uremic solutes p-cresol and indoxyl sulfate inhibit endothelial proliferation and wound repair. *Kidney Int* 65(2), 442-451

Dou L, Jourde-Chiche N, Faure V, Cerini C, Berland Y, Dignat-George F, Brunet P (2007): The uremic solute indoxyl sulfate induces oxidative stress in endothelial cells. *J Thromb Haemost* 5(6), 1302-1308

Dhondt AW, Vanholder R, De Smet R, Claus SA, Waterloos MA, Glorieux G, Delanghe JR, Lameire NA (2003): Studies on dialysate mixing in the Genius[®] single-pass batch system for hemodialysis therapy. *Kidney Int* 63(4), 1540-1547

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(25), 2010-2019

Farrell BC, Grib NL, Fry DL, Popovich RP, Broviac JW, Babb AL (1972): A comparison of in vitro and in vivo solute-protein binding interactions in normal and uremic subjects. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 18, 268-276

Förstermann U (2008): Regulatoren des Gefäßtonus und verwandte Pharmaka; in: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, hrsg. v. Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K, Urban & Fischer, 457-461

Frei U, Schober-Halstenberg H-J: Nierenersatztherapie in Deutschland. *QuaSi-Niere Jahresbericht 2006/2007*, Berlin, Deutschland

Frey S, Nagl B, Henze A, Raila J, Schlosser B, Berg TH, Tepel M, Zidek W, Weickert MO, Pfeiffer A, Schweigert FJ (2008): Isoforms of retinol binding protein 4 (RBP4) are increased in chronic diseases of the kidney but not of the liver. *Lipids in Health and Disease*, 7:29

Guth HJ, Gruska S, Kraatz G (2003): On-line production of ultrapure substitution fluid reduces TNF-alpha- and IL-6 release in patients on hemodiafiltration therapy. *Int J Artif Organs* 26(3),181-187

Gutzwiller JP, Schneditz D, Huber AR, Schindler C, Gutzwiller F, Zehnder CE (2002): Estimating phosphate removal in haemodialysis: an additional tool to quantify dialysis dose. *Nephrol Dial Transplant* 17(6),1037-1044

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

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(2), 566-570

Henderson LW (1996): Biophysics of ultrafiltration and hemofiltration, in: Replacement of renal function by dialysis, hrsg. v. Jacobs C, Kjellstrand CM, Koch KM, Winchster JF, Kluwer Academic Publishers, 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 (abstract)

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

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(5), 566-582

Jourde-Chiche N, Dou L, Cerini C, Dignat-George F, Vanholder R, Brunet P (2009): Protein-Bound Toxins - Update 2009. Seminars in Dialysis 22(4), 334-339

Junyent M, Martínez M, Borràs M, Coll B, Valdivielso JM, Vidal T, Sarró F, Roig J, Craver L, Fernández E (2010): Predicting cardiovascular disease morbidity and mortality in chronic kidney disease in Spain. The rationale and design of NEFRONA: a prospective, multicenter, observational cohort study. BMC Nephrol,11:14

Karpman VL (1975): The theoretical analysis of Fick's equation. On the centennial of the use of Fick's principle in physiology. Z Kardiol 64(9), 801-808

Krieter DH, Canaud B (2003): High permeability of dialysis membranes: what is the limit of albumin loss? Nephrol Dial Transplant 18(4), 651-654

Krieter DH, Falkenhain S, Chalabi L, Collins G, Lemke HD, Canaud B (2005): Clinical cross-over comparison of mid-dilution hemodiafiltration using a novel dialyzer concept and post-dilution hemodiafiltration. *Kidney Int* 67(1), 349-356

Krieter DH, Morgenroth A, Barasinski A, Lemke H-D, Schuster O, von Harten B, Wanner C (2007): Effects of a polyelectrolyte additive on the selective dialysis membrane permeability for low-molecular-weight proteins. *Nephrol Dial Transplant* 22(2), 491-499

Krieter DH, Lemke HD, Wanner C (2008): A new synthetic dialyzer with advanced permselectivity for enhanced low-molecular-weight-protein removal. *Artificial Organs* 32(7), 547-554

Krieter DH, Hunn E, Morgenroth A, Lemke HD, Wanner C (2008b): Matching efficacy of online hemodiafiltration in simple hemodialysis mode. *Artificial Organs* 32(12), 903-909

Krieter DH, Hackl A, Rodriguez A, Chenine L, Moragues HL, Lemke HD, Wanner C, Canaud B (2010): Protein-bound uraemic toxin removal in haemodialysis and post-dilution haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 25(1), 212-218

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

Kuhlmann MK, Riegel W (2006): Quantifizierung von Blutreinigungsverfahren, in: *Dialyseverfahren in Klinik und Praxis*, hrsg. v. Hörl W, Wanner C, Thieme Verlag, 205

Kuhlmann MK (2010): Phosphate elimination in modalities of hemodialysis and peritoneal dialysis. *Blood Purif* 29(2), 137-144

Ledebo I, Blankestijn PJ (2010): Haemodiafiltration-optimal efficiency and safety. *NDT Plus* 3(1), 8-16

Lim J, Gasson C, Kaji DM (1995): Urea inhibits NaK₂Cl cotransport in human erythrocytes. *J Clin Invest* 96(5), 2126-2132

Locatelli F, Manzoni C, Cavalli A, Di Filippo S (2009): Can convective therapies improve dialysis outcomes? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 18(6), 476-80

Lornoy W, Becaus I, Billiow JM, Sierens L, Van Malderen P, D'Haenens P (2000): On-line haemodiafiltration. Remarkable removal of β_2 -microglobulin. Long-term clinical observations. *Nephrol Dial Transplant* 15(Suppl 1), 49-54

Luo F, Patel K, Marquez I, Plummer , Hostetter Th, Meyer T (2009): Effect of increasing dialyzer mass transfer area coefficient ant dialysate flow on clearance of protein-bound solutes: a pilot crossover trial. *Am J Kidney Dis* 40(6), 1042-1049

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(3), 582-589

Mann JF, Gerstein HC, Pogue J, Bosch J, Yusuf S (2001): Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: the HOPE randomized trial. *Ann Intern Med* 2001 134(8),629-636

Matsuguma K, Ueda S, Yamagishi S, Matsumoto Y, Kaneyuki U, Shibata R, Fujimura T, Matsuoka H, Kimoto M, Kato S, Imaizumi T, Okuda S (2006): Molecular mechanism for elevation of asymmetric dimethylarginine and its role for hypertension in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 17(8), 2176-2183

Meert N, Eloot S, Waterloos MA, Van Landschoot M, Dhondt A, Glorieux G, Ledebro I, Vanholder R (2009): Effective removal of protein-bound uraemic solutes by different convective strategies: a prospective trial. *Nephrol Dial Transplant* 24(2), 562-570

Meert N, Waterloos MA, Van Landschoot M, Dhondt A, Ledebro I, Glorieux G, Goeman J, Van der Eycken J, Vanholder R (2010): Prospective evaluation of the change of predialysis protein-bound uremic solute concentration with postdilution online hemodiafiltration. *Artif Organs* 34(7), 580-585

Meijers BKI, Bammens B, De Moor B, Verbeke K, Vanrenterghem Y, Evenepoel P (2008): Free p-cresol is associated with cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney International* 73(10), 1174-1180

Meijers BKI, De Loor H, Bammens B, Verbeke K, Vanrenterghem Y, Evenepoel P (2009): P-cresyl sulfate and indoxyl sulfate in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 4(12), 1932-1938

Mena C, Esser E, Sprague SM (2008): Beta2-microglobulin stimulates osteoclast formation. *Kidney Int* 73(11), 1275-1281

Meyer TW, Wither JL, Pagtalunan ME, Martinez AW, Torkamani A, Fong PD, Recht NS, Robertson CR, Hostetter TH (2005): The clearance of protein-bound solutes by hemofiltration and hemodiafiltration. *Kidney Int* 68(2), 867-877

Meyer TW, Peattie JWT, Miller JD, Dinh DC, Recht NS, Walther JL, Hostetter TH (2007): Increasing the clearance of protein-bound solutes by addition of a sorbent to the dialysate. *J Am Soc Nephrol* 18(3), 868-874

Nitta K, Hayashi T, Uchida K, Honda K, Tsukada M, Sekine S, Itabashi M, Yumura W, Nihei H (2002): Serum cystatin C concentration as a marker of glomerular filtration rate with various renal diseases. *Intern Med* 41(11), 931-935

Niwa T (1993): Phenol and p-cresol accumulated in uremic serum measured by HPLC with fluorescence detection. *Clin Chem* 39(1), 108-111

Passlick-Deetjen J, Pohlmeier R (2002): On-line hemodiafiltration. Gold standard or top therapy? *Contrib Nephrol* 137, 201-211

Pham N, Recht NS, Hostetter TH, Meyer TW (2008): Removal of the protein-bound solutes indican and p-Cresol sulfate by peritoneal dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 3(1), 85–90

Rao M, Guo D, Perianayagam MC, Tighiouart H, Jaber BL, Pereira BJ, Balakrishnan VS (2005): Plasma interleukin-6 predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 45(2), 324-333

Rayment G, Chow J (2010): The efficacy of short daily dialysis-a single-centre experience. *J Ren Care* 36(3), 118-125

Sargent JA, Gotch FA (1996): Principles and biophysics of dialysis, in: *Replacement of Renal Function by Dialysis*, hrsg. v. Jacobs C, Kjellstrand CM, Koch KM, Winchester JF, Kluwer Academic Publishers, 34-102

Schepers E, Meert N, Glorieux G, Goeman J, Van der Eycken J, Vanholder R (2007): P-cresylsulphate, the main in vivo metabolite of p-cresol, activates leucocyte free radical production. *Nephrol Dial Transplant* 22(2), 592-596

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

Schröder M, Riedel E, Beck W, Deppisch RM, Pommer W (2001): Increased reduction of dimethylarginines and lowered interdialytic blood pressure by the use of biocompatible membranes. *Kidney Int Suppl* 78, 19-24

Seldin DW (2004): The development of the clearance concept. *J Nephrol* 17(1), 166-171

Tattersall J (2007): Clearance of beta-2-microglobulin and middle molecules in haemodiafiltration. *Contrib Nephrol* 158, 201-209

Taki K, Tsuruta Y, Niwa T (2007): Indoxyl sulfate and atherosclerotic risk factors in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 27(1), 30-35

Takesawa S, Ohmi S, Konno Y, Sekiguchi M, Shitaokoshi S, Takahashi T, Hidai H, Sakai K (1987): Varying methods of sterilization, and their effects on the structure and permeability of dialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant* 1(4), 254-257

Thalhimer W, Solandt D, Best C (1938): Experimental exchange transfusion using purified heparin. *Lancet* 232(6001), 554-556

Trachsler J, Ambühl PM (2009): Chronische Niereninsuffizienz: aktueller Stand der Dialyseverfahren. *Schweiz Med Forum* 9 (3), 40-44

US Renal Data System, *USRDS 2009 Annual Data Report: Volume one, Chapter five: Morbidity and mortality.*

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S (1992): Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339(8793), 572-575

Vanholder RC, De Smet RV, Ringoir SM (1992): Assessment of urea and other uremic markers for quantification of dialysis efficacy. Clin Chem 38(8), 1429-1436

Vanholder R, Glorieux G, De Smet R, Lameire N, for the European Uremic Toxin Work Group (EUTOX) (2003): New insights in uremic toxins. Kidney Int 63(Suppl 84), 6-10

Vanholder R, Baurmeister U, Brunet Ph, Cohen G, Glorieux G, Jankowski J for the European Uremic Toxin Work Group (EUTOX) (2008): A Bench to Bedside View of Uremic Toxins. J Am Soc Nephrol 19(5), 863-870

Vienken J, Diamantoglou M, Henne W, Nederlof B (1999): Artificial dialysis membranes: from concept to large scale production. Am J Nephrol 19(2), 355-362

Vilar E, Fry AC, Wellsted D, Tattersall JE, Greenwood RN, Farrington K (2009): Long-term outcomes in online hemodiafiltration and high-flux hemodialysis: a comparative analysis. Clin J Am Soc Nephrol 4(12), 1944-1953

Vychytil A, Haag-Weber M(2006): Kontinuierliche ambulante und automatisierte Peritonealdialyse, in: Dialyseverfahren in Klinik und Praxis, hrsg. v. Hörl W, Wanner C, Thieme Verlag, 70

Winchester JF, Hostetter TH, Meyer TW (2009): P-Cresol sulfate: further understanding of its cardiovascular disease potential in CKD. Am J Kidney Dis 54(5), 792-794

Wizemann V, Lotz C, Techert F, Uthoff S (2000): On-line haemodiafiltration versus low-flux haemodialysis. A prospective randomized study. Nephrol Dial Transplant 15 (Suppl 1), 43-48

Xiao S, Wagner L, Mahaney J, Baylis C (2001): Uremic levels of urea inhibit L-arginine transport in cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 280(6), 989-995

Yavuz A, Tetta C, Fevzi Ersoy F, D'intini V, Ratanarat R, De Cal M, Bonello M, Bordoni V, Salvatori G, Andrikos E, Yakupoglu G, Levin NW, Ronco C (2005): Uremic toxins: a new focus on an old subject. *Seminars in Dialysis* 18(3), 203-211

Zehnder C, Gutzwiller JP, Renggli K (1999): Hemodiafiltration--a new treatment option for hyperphosphatemia in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 52(3), 152-159

Zhang DL, Liu J, Liu S, Zhang Y, Liu WH (2010): The differences of asymmetric dimethylarginine removal by different dialysis treatments. *Ren fail* 32(8), 935-940

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ADMA:	asymmetrisches Dimethylarginin
B2M:	β_2 -Mikroglobulin
CRP:	C-reaktives Protein
Da:	Dalton
GFR:	glomeruläre Filtrationsrate
HD:	Hämodialyse
HDF:	Hämodiafiltration
HDL:	High-Density-Lipoprotein
IS:	Indoxylsulfat
IL-6:	Interleukin 6
Kt/V:	K: Clearance, t: effektive Dialysezeit in Minuten, V: 60% der Körpermasse (Gewicht) in der das Blut zirkulieren kann (Körperwassergehalt)
NO:	Stickstoffmonoxid
pCs:	Paracresylsulfat
pCg:	Paracresylglucoronid
RbP:	Retinol bindendes Protein
TNF- α :	Tumornekrosefaktor α
UFR _{gesamt} :	Gesamtultrafiltrationsrate

8. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Wanner für die Möglichkeit der Anfertigung dieser Doktorarbeit in seiner Abteilung und der Überlassung des Themas bedanken.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Krieter für seine Betreuung und seine stetige Unterstützung. Jede Phase dieser Arbeit wurde von ihm intensiv und professionell begleitet und er trug durch zahlreiche Ideen und manche Motivation entscheidend zur Fertigstellung bei. Ich möchte mich auch dafür bedanken, dass ich in Philadelphia die Möglichkeit erhielt, die Atmosphäre eines wissenschaftlichen Kongresses kennenzulernen.

Bei Herrn Prof. Canaud möchte ich mich dafür bedanken, dass die Studie, die dieser Arbeit zugrunde liegt, in seiner Abteilung durchgeführt werden konnte. Danke auch für die herzliche Arbeitsatmosphäre, mit der er und sein Team, insbesondere Frau Rodriguez, Frau Chenine und Frau Leray Moragues, mich dort empfangen haben.

Mein Dank geht auch an Herrn Dr. Lemke, der mir zahlreiche Aspekte der Forschung an proteingebundenen Urämietoxinen geduldig erläuterte und mir insbesondere mit der Messung derselben geholfen hat. Danke möchte ich auch den Mitarbeitern der Firma Excorlab, insbesondere Frau Büttner, Frau Krug und Herrn Völker, sagen, die mich mit den Messmethoden im Labor vertraut machten.

Zuletzt möchte ich den Menschen danken, die alles erst möglich machten. Ich möchte meinen Eltern Anneliese und Michael Hackl danken, für die liebevolle Unterstützung und den aufopfernden Beistand, mit denen sie jeden der Wege, die ich bis zu diesem Punkt gegangen bin, begleiteten.

9. LEBENSLAUF

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