Aus der Abteilung für Nephrologie
der Klinik für Innere Medizin der Universität Rostock
Direktor: Prof. Dr. med. habil. R. Schmidt

Entwicklung eines Zweikompartimentmodells zur Untersuchung und Optimierung universeller Entgiftungseigenschaften von Leberunterstützungsverfahren

Untersuchungen am in-vitro Modell des
Molecular Adsorbents Recirculating System (MARS)

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von
Tina Szyszkowitz

geb. am 27.10.1982 in Perleberg

Rostock 2008

urn:nbn:de:gbv:28-diss2010-0066-3

Dekan : Prof. Dr. med. Emil Christian Reisinger

1. Gutachter : Prof. Dr. med. Jan Stange

2. Gutachter : Priv.-Doz. Dr. med. Michael Steiner

3. Gutachter : Prof. Dr. med. Markus Wolfgang Büchler

Datum der Promotionsverteidigung : 13. April 2010

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

1.1 Der Organismus im Leberversagen 1

1.2 Potentielle wasserlösliche und albumingebundene Toxine im Leberversagen 2

1.2.1 Ammoniak 2

1.2.2 Gallensäure 3

1.2.3 Bilirubin 5

1.2.4 Kreatinin 6

1.2.5 Harnstoff 7

1.2.6 Bromosulfophthalein (BSP) als Markermolekül 9

1.3 Das Albuminmolekül als Trägerprotein 9

1.4 Verteilungsräume im menschlichen Körper und Rebound-Phänomen 11

1.5 Therapieoptionen im Leberversagen 14

1.5.1 Überblick 14

1.5.2 Extrakorporale Leberunterstützungsverfahren 14

1.6 Die Notwendigkeit der Weiterentwicklung von Leberunterstützungsverfahren 15

1.7 Ziel der Arbeit 16

2 Material und Methoden 18

2.1 Versuchsplanung 18

2.2 Herstellung der Substanzgemische 20

2.3 Versuchsaufbau 21

2.3.1 Versuchsaufbau der Versuche zum Einkompartimentmodell 21

2.3.2 Versuchsaufbau der Versuche zum Zweikompartimentmodell (24 h) 22

2.3.3 Versuchsaufbau der Leerversuche zum Zweikompartimentmodell (6 h) 23

2.4 Versuchsdurchführung 24

2.5 Biochemische Analysen 25

2.6 Datenbearbeitung und Statistik 26

3 Ergebnisse 29

3.1 Das Zweikompartimentmodell: Standard- vs. Leerversuch 29

3.1.1 Kreatinin im Standard- und Leerversuch 29

3.1.2 Ammoniak im Standard- und Leerversuch 30

3.1.3 Harnstoff im Standard- und Leerversuch 32

3.1.4 Gallensäure im Standard- und Leerversuch 33

3.1.5 Bilirubin im Standard- und Leerversuch 35

3.1.6 Bromosulfophthalein (BSP) im Standard- und Leerversuch 36

3.2 Gegenüberstellung von Ein- und Zweikompartimentmodell 38

3.2.1 Kreatinin im Ein- und Zweikompartimentmodell 38

3.2.1.1 Vergleich der Kreatininclearance über dem MARSflux (PIPO) im Ein- und Zweikompartimentmodell 38

3.2.1.2 Vergleich der Kreatininclearance über dem Diaflux (M1M2) im Ein- und Zweikompartimentmodell 41

3.2.1.3 Vergleich der Kreatininclearance über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) im Ein- und Zweikompartimentmodell 43

3.2.2 Bromosulfophthalein (BSP) im Ein- und Zweikompartimentmodell 46

3.2.2.1 Vergleich der BSP-Clearance über dem MARSflux (PIPO) im Ein- und Zweikompartimentmodell 46

3.2.2.2 Vergleich der BSP-Clearance über dem Anionenaustauscher (M3M4) im Ein- und Zweikompartimentmodell 47

3.2.3 Gallensäure im Ein- und Zweikompartimentmodell 48

3.2.3.1 Vergleich der Gallensäureclearance über dem MARSflux (PIPO) im Ein- und Zweikompartimentmodell 48

3.2.3.2 Vergleich der Gallensäureclearance über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) im Ein- und Zweikompartimentmodell 50

3.2.4 Bilirubin im Ein- und Zweikompartimentmodell 51

3.2.4.1 Vergleich der Bilirubinclearance über dem MARSflux (PIPO) im Ein- und Zweikompartimentmodell 51

3.2.4.2 Bilirubinclearance über dem Anionenaustauscher (M3M4) im Zweikompartimentmodell über 24 h 52

3.3 Neu verwendete wasserlösliche Substanzen im Zweikompartimentmodell 53

3.3.1 Harnstoff im Zweikompartimentmodell 53

3.3.1.1 Harnstoffclearance über dem Diaflux (M1M2) im Vergleich zur Kreatininclearance im Zweikompartimentmodell 53

3.3.1.2 Harnstoffclearance über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) im Vergleich zur Kreatininclearance im Zweikompartimentmodell ... 54
3.3.1.3 Clearancedarstellungen von Harnstoff und Kreatinin über den einzelnen Dialysatoren und Adsorbern im Zweikompartimentmodell ... 55
3.3.2 Ammoniak im Zweikompartimentmodell ... 57
3.3.2.1 Ammoniakclearance über dem Diaflux (M1M2) im Vergleich zur Kreatininclearance im Zweikompartimentmodell ... 57
3.3.2.2 Ammoniakclearance über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) im Vergleich zur Kreatininclearance im Zweikompartimentmodell ... 57
3.3.2.3 Clearancedarstellungen von Ammoniak und Kreatinin über den einzelnen Dialysatoren und Adsorbern im Zweikompartimentmodell ... 58

4 Diskussion ... 60

4.1 Auswertung des Zweikompartimentmodells: Standard- vs. Leerversuch ... 61
4.2 Auswertung der Gegenüberstellung des Ein- und Zweikompartimentmodells ... 64
4.2.1 Kreatinin im Ein- und Zweikompartimentmodell ... 64
4.2.1.1 Vergleich der Kreatininclearance über dem MARSflux ... 64
4.2.1.2 Vergleich der Kreatininclearance über dem Diaflux ... 65
4.2.1.3 Vergleich der Kreatininclearance über dem Aktivkohleadsorber ... 65
4.2.2 Bromosulfophthalein (BSP) im Ein- und Zweikompartimentmodell ... 66
4.2.2.1 Vergleich der BSP-Clearance über dem MARSflux ... 66
4.2.2.2 Vergleich der BSP-Clearance über dem Anionenaustauscher ... 66
4.2.3 Gallensäure im Ein- und Zweikompartimentmodell ... 67
4.2.3.1 Vergleich der Gallensäureclearance über dem MARSflux ... 67
4.2.3.2 Vergleich der Gallensäureclearance über dem Aktivkohleadsorber ... 67
4.2.4 Bilirubin im Ein- und Zweikompartimentmodell ... 68
4.2.4.1 Vergleich der Bilirubinclearance über dem MARSflux ... 68
4.2.4.2 Bilirubinclearance über dem Anionenaustauscher im Zweikompartimentmodell über 24 h ... 68
4.3 Auswertung der neu verwendeten wasserlöslichen Substanzen im Zweikompartimentmodell ... 70
4.3.1 Harnstoff im Zweikompartimentmodell ... 70
4.3.1.1 Harnstoffclearance über dem Diaflux im Vergleich zur Kreatininclearance ... 70
4.3.1.2 Harnstoffclearance über dem Aktivkohleadsorber im Vergleich zur Kreatininclearance ... 70

4.3.1.3 Auswertung der Clearancedarstellungen von Harnstoff und Kreatinin über den einzelnen Dialysatoren und Adsorbern im Zweikompartimentmodell..... 71
4.3.2 Ammoniak im Zweikompartimentmodell 71
4.3.2.1 Ammoniakclearance über dem Diaflux im Vergleich zur Kreatininclearance. 71
4.3.2.2 Ammoniakclearance über dem Aktivkohleadsorber im Vergleich zur Kreatininclearance 72
4.3.2.3 Auswertung der Clearancedarstellungen von Ammoniak und Kreatinin über den einzelnen Dialysatoren und Adsorbern im Zweikompartimentmodell..... 72
4.4 Fehlerbetrachtung 73
4.5 Fazit 74

5 Zusammenfassung 75

6 Literaturverzeichnis 78

7 Anhang 88

7.1 Abkürzungsverzeichnis 88
7.2 Messwertetabellen 89
7.3 Thesen 104
7.4 Eidesstattliche Erklärung 107
7.5 Lebenslauf 108
7.6 Danksagung 109

1 Einleitung

1.1 Der Organismus im Leberversagen

Die Leber ist das zentrale Stoffwechselorgan im menschlichen Körper. Eine große Bedeutung kommt der Leber als Entgiftungsorgan zu. Körpereigene und körperfremde Stoffe, die nicht verwertet werden können und bei Anhäufung toxische Wirkungen auf den Organismus haben, werden über Biotransformationsreaktionen in polare, wasserlösliche Substanzen umgewandelt. Diese können dann über die Niere bzw. über die Gallenwege leichter ausgeschieden werden. Die Leber ist das entscheidende Organ für die Elimination proteingebundener Stoffe [40, 83].

Das Leberversagen ist durch eine schwere Leberfunktionsstörung charakterisiert. Diese Störung dehnt sich auf alle Bereiche der Syntheseleistung, der Regulationsmechanismen und der Entgiftung aus.

Die klinisch wichtigen Syntheseprodukte der Leber sind das Trägerprotein Albumin (siehe Abschnitt 1.3) und Blutgerinnungsfaktoren. Im Leberversagen ist deren Syntheseleistung reduziert. Entwickelt sich ein Mangel an Blutgerinnungsfaktoren, insbesondere der Faktoren II, V, VII, IX und X, angeführt von einer Verlängerung der Prothrombinzeit [25, 119], kann dieser Zustand eine lebensbedrohliche Blutgerinnungsstörung nach sich ziehen [92]. Die Exkretionsleistung der Leber ist ebenfalls vermindert. Dabei kommt es besonders im akuten Leberversagen zum Anstieg von konjugiertem Bilirubin im Serum [124].

Durch die metabolische Dysfunktion der Leber sind verschiedene Stoffwechselwege in ihrem Ablauf beeinträchtigt. Im Vordergrund stehen Kohlenhydrat-, Eiweiß- und Aminosäurenstoffwechsel sowie der Fettstoffwechsel des Organismus. Es treten gehäuft Hypoglykämien auf [95, 104, 138, 162], Proteine werden verstärkt abgebaut [94, 29], die katabole Stoffwechsellage führt zu einem Anstieg von Aminosäuren, Ammoniak und freien Fettsäuren im Serum [127].

Des Weiteren sind Störungen des Wasser-, Elektrolyt- und Säure-Base-Haushaltes im Leberversagen zu beobachten [133, 144]. Hierbei spielt auch die Ausbildung eines hepatorenalen Syndroms als eine Form des Nierenversagens eine entscheidende Rolle.

Neben dem vaskulären und renalen System ist ferner das Immunsystem betroffen. Es findet sich hierbei eine reduzierte zelluläre Immunabwehr mit Down-Regulation der HLA-DR Expression auf Monozyten und verringerter Produktion des Tumor-Nekrose-Faktors-alpha (TNF-α). Endotoxine tragen, möglicherweise vermittelt durch Interleukin 10 (IL10), zur Down-Regulation der HLA-DR Expression bei. Diese reduzierte Immunabwehr wirkt wahrscheinlich mit bei der erhöhten Infektionsbereitschaft der Patienten im Leberversagen [90, 154].

Eine große Bedeutung im Krankheitsverlauf des Leberversagens hat die eingeschränkte Detoxifikationsleistung. Die Leber metabolisiert die verschiedensten endogenen Substanzen. Eine der wichtigsten von ihnen ist Ammoniak. Es nimmt eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung der hepatischen Enzephalopathie ein [152] (siehe Abschnitt 1.2.1).

Die Anreicherung von wasserlöslichen und albumingebundenen Substanzen im Leberversagen hat für den Organismus schwerwiegende Folgen, die ohne therapeutische Intervention auf Dauer nicht mit dem Leben vereinbar sind.

1.2 Potentielle wasserlösliche und albumingebundene Toxine im Leberversagen

1.2.1 Ammoniak

Das wasserlösliche Ammoniak ist ein Schlüsseltoxin bei der Entwicklung der hepatischen Enzephalopathie im Leberversagen [3, 164]. Wenn die Leber nicht mehr in der Lage ist über den Harnstoffzyklus das anfallende Ammoniak in den Stoffwechsel einzubauen, kommt es im Körper zur Hyperammoniämie. Diesen Zustand versucht der Organismus über verschiedene Metabolisierungswege einzudämmen:

- In der Skelettmuskulatur wird die Synthese von Glutamin aus Glutamat und Ammoniak durch die ATP-abhängige Glutaminsynthetase gesteigert. Dies geschieht durch die erhöhte Expression von Glutaminsynthetase-Protein und eine signifikant gesteigerte Enzymaktivität [20].
- Des Weiteren wandelt sich die Niere in ein Organ um, das in der Nettobilanz Ammoniak aus dem Organismus entfernt und nicht wie unter physiologischen Bedingungen dem Körper zuführt. Dabei verändert sich das Verhältnis von Ammoniakausscheidung in den Urin und Ammoniakaufnahme in das Blut zugunsten der Ausscheidung [35].
- Das Gehirn ist im Leberversagen ebenfalls am Ammoniakstoffwechsel beteiligt. Die Aufnahme von Ammoniak in das Gehirn soll durch die Diffusion der nicht protonierten Form (NH_3) beschränkt sein (Diffusionshypothese). Als eine weitere Möglichkeit der Aufnahme wäre ein proteinvermittelter Transport von Ammoniumionen (NH_4^+) über die Blut-Hirn-Schranke denkbar. Viele renale Ionentransporter für die Reabsorption von NH_4^+ finden sich auch in zerebralen Kapillarmembranen. Sie könnten die Aufnahme von NH_4^+ vermitteln [117]. Im Gehirn sind die Astrozyten der entscheidende Faktor für die Detoxifikation von Ammoniak bei der Umwandlung von Glutamat zu Glutamin. Im Zusammenhang mit zunehmenden Ammoniakspiegeln steigt auch die Glutaminmenge in den Astrozyten an. Daraus

resultiert eine osmotische Imbalance mit Zellschwellung und letztendlich mit der Entwicklung eines Hirnödems [160]. Bei diesen Vorgängen mit Bildung eines Hirnödems und intrakraniellem Druckanstieg spielen Faktoren, wie Inflammation, Abfallprodukte der nekrotischen Leberzellen und die Bildung synergistischer Toxine, eine entscheidende Rolle [37, 152]. Des Weiteren kommt es durch steigende Ammoniakkonzentrationen zur Expression von Schlüsselproteinen in den Astrozyten, insbesondere Glutamat- und Glycintransporter sowie periphere Benzodiazepinrezeptoren werden exprimiert und N-Methyl-D-Aspartat- (NMDA-) Rezeptoren aktiviert. Somit steigt die extrazelluläre Konzentration von exzitatorischen und inhibitorischen Transmitterstoffen an [43]. Damit ist ein multifaktorieller Ansatz bei der Entwicklung der hepatischen Enzephalopathie aufgezeigt. Sie umfasst ein breites Spektrum neuropsychiatrischer Auffälligkeiten bei Patienten mit Leberfunktionsstörungen.

Es wird auch angenommen, dass steigende Ammoniakkonzentrationen die Expression des Glucosetransporters GLUT1 an der Blut-Hirn-Schranke hemmen. Damit steht dem Gehirn weniger Glucose für den Energiestoffwechsel zur Verfügung. Dieser Zustand könnte zur Entwicklung neurologischer Komplikationen im Leberversagen beitragen [11]. Zusätzlich erfolgt durch Ammoniak eine Hemmung der α-Ketoglutaratdehydrogenase und möglicherweise auch der Pyruvatdehydrogenase. Dadurch wird die Detoxifikation von Ammoniak durch die Bildung von Glutamin aus α-Ketoglutarat gesteigert und die Rate der NADH- und ATP-Produktion in den Mitochondrien der Astrozyten reduziert. Im Zytosol würde nachfolgend Laktat entstehen. Diese Hypothese schafft somit eine Brücke zwischen Hyperammoniämie, Ammoniakdetoxifikation durch Glutaminproduktion und zerebraler Laktatbildung [116]. Neuesten Erkenntnissen zufolge führten erhöhte Ammoniakspiegel in einem in-vitro Modell der Blut-Hirn-Schranke aus kapillären Endothelzellen von Mäusegehirnen zu einem signifikanten Anstieg der mRNA des Taurin- und Kreatintransporters. Daraus folgte eine gesteigerte Aufnahme von Taurin und Kreatin in die Zellen. Diese beiden Substanzen sind wichtig für die Osmoregulation und Energiepufferung des Gehirns. Des Weiteren erfolgte eine Reduktion der Bildung von Claudin-12-mRNA. Dieses führt möglicherweise zur Veränderung des interzellulären Zusammenhalts, insbesondere der Tight Junctions. Folglich beeinflusst Ammoniak die Genexpression von kapillären Endothelzellen im Gehirn und die Funktion von Transportersystemen [10].

1.2.2 Gallensäure

Die aus dem Cholesterinabbau stammende Gallensäure unterliegt dem enterohepatischen Kreislauf mit intestinaler Aufnahme und Elimination in der Leber [101]. Dabei werden 70-90% der Gallensäure aus dem Pfortaderblut von der gesunden Leber herausgefiltert. Somit beläuft sich die Gallensäurekonzentration im

systemischen Kreislauf auf 10 µmol/l [5, 67]. Gallensäure liegt im Serum in einem Großteil an Albumin gebunden vor. Der freie Anteil an Gallensäure beträgt daher lediglich 1 µmol/l [68]. Die Affinität der Gallensäure zu den Plasmaproteinen ist von der Polarität abhängig. Mit steigender Polarität der einzelnen Gallensäure (Lithocholsäure → Desoxycholsäure → Cholsäure) sinkt die Affinität zum Protein [19] und die Fähigkeit, andere Metabolite aus der Albuminbindung kompetitiv zu verdrängen [13]. Es wird angenommen, dass es bei der Interaktion zwischen Gallensalzen und Albumin zu Veränderungen in der Sekundärstruktur des Proteins und zu positiv kooperativen Effekten bei der Gallensalzbindung kommt [34]. Im Leberversagen kann die Gallensäurekonzentration im Serum auf das 100fache des Normwertes ansteigen [106]. Wenn unter diesen Umständen die Bindungskapazität des Albumins für Gallensäure ausgeschöpft ist, dann steigt die Affinität der Lipoproteine zur Bindung von Gallensäure an. Da Lipoproteine an die meisten Zellen im Körper gerichtet sind, spielen sie möglicherweise in diesem Zusammenhang eine große Rolle im Transport toxischer Gallensäure zu den Zellen in der Peripherie [19]. Für die Aufnahme von Gallensalzen in die Leberzellen über die sinusoidale Membran und letztendlich die Abgabe über die kanalikuläre Membran existieren verschiedene Ansätze, die einerseits die Wichtigkeit der Albuminbindung und mutmaßlichen Gallensalz-Rezeptorproteine hervorheben und andererseits den elektrochemischen Gradienten, der durch die Na^+K^+-ATPase geschaffen wird, miteinbeziehen [142].

Erhöhte Gallensäurekonzentrationen sind über verschiedene Wege für die Ausbildung der Symptome des Leberversagens mitverantwortlich. Diese Effekte wurden bislang zumeist in in-vitro Versuchen dargelegt:

- Vor allem lipophile Gallensäuren, wie z.B. Desoxycholsäure, Chenodesoxycholsäure und Lithocholsäure, lagern sich in mitochondriale Membranen ein und führen zur Verminderung des Phospholipidanteils. Des Weiteren kommt es zur Hemmung der Atmungskette durch Inhibition des Elektronentransportes [77].
- Gallensäure steigert die Fluidität und Polarität von Biomembranen [89].
- Die zytotoxische Wirkung der Gallensäure trägt zusammen mit Ammoniak und Endotoxinen zur Entwicklung des Hirnödems im Leberversagen bei. Dabei spielen möglicherweise Veränderungen in der Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke und im vesikulären Transport eine Rolle [149].
- Gallensäure inhibiert die Na^+K^+-ATPase in Rattengehirnen. Auch dieser Punkt könnte auf den Menschen bezogen ein wichtiger Faktor bei der Entwicklung der hepatischen Enzephalopathie sein [136].
- Gallensäure ist mitverantwortlich für die Entwicklung der intrahepatischen Cholestase [45].
- Gallensäure nimmt negativen Einfluss auf die Proliferation von Monozyten und Lymphozyten [88] sowie auf die Zytokinproduktion und Interferonwirkung [17].

Neueste Untersuchungsergebnisse geben einen Einblick in die Mechanismen der Gallensalz-induzierten hepatozellulären Apoptose. Hierbei wird ein Modell diskutiert, bei dem Gallensalze eine NADPH-Oxidase-abhängige Bildung reaktiver Sauerstoffspezies über bestimmte Signalwege aktivieren. Diese Sauerstoffspezies tragen zur CD95-Aktivierung bei und führen zur hepatozellulären Zellschrumpfung. Die Zellschrumpfung induziert ihrerseits wiederum die reaktiven Sauerstoffspezies. Dieser Regelkreis mündet letztendlich in einer Apoptose [129].

1.2.3 Bilirubin

Bilirubin entsteht beim Abbau von Hämoglobin [159]. Es findet sich in vier Fraktionen im Serum wieder:

- Unkonjugiertes Bilirubin ("indirektes Bilirubin"),
- (mono- bzw. di-) konjugiertes Bilirubin und
- albumingebundenes delta-Bilirubin [69, 100, 115].

Konjugiertes Bilirubin und delta-Bilirubin werden zum "direkten Bilirubin" zusammengefasst [143]. In der Leber erfolgt die Biotransformation von unkonjugiertem Bilirubin zu hydrophilem Bilirubinmono- und -diglucuronid durch die UDP-Glycuronyltransferase [32]. Das konjugierte Bilirubin wird anschließend mit der Galle ausgeschieden.

Unkonjugiertes Bilirubin liegt im Serum zum größten Teil an Albumin gebunden vor. Es besitzt eine Assoziationskonstante von $K_A = 9{,}5 \times 10^7\ mol^{-1}$ für die primäre Bindungsregion [14]. Folgende toxische Wirkungen von unkonjugiertem Bilirubin auf Zellen wurden in Studien nachgewiesen:

- Beeinträchtigung der Erythrozytenmembranen und Hämolyse [12, 74].
- Hemmung der neuronalen Aktivität [61] und Auslösung zytotoxischer, neurotoxischer und enzephalopatischer Effekte [21]. Hierbei senkt Bilirubin über Veränderungen der Ionendurchlässigkeit das Membranpotential entlang der synaptosomalen Plasmamembran [96]. Bilirubin hemmt die Phosphorylierung von Proteinen, wie z.B. des mit den synaptischen Vesikeln assoziierten Proteins Synapsin I [60]. Des Weiteren wirkt Bilirubin neurotoxisch durch Steigerungen der neuronalen Membranpermeabilität [66] und Beeinträchtigung der membrangebundenen Neurotransmitteraufnahme und neuronalen Antwort auf depolarisierende Stimuli [109]. Außerdem wird angenommen, dass Bilirubin durch die Schädigung der Membranstruktur kapillärer Endothelzellen die Aufnahme von 2-Desoxyglucose in das Gehirn hemmt [73].
- Behinderung des Knochen- und Knorpelstoffwechsels durch Hemmung der Osteoblasten- und Chondrozytenproliferation. Diese Erkenntnis könnte im Zusammenhang mit der Osteoporoseentwicklung bei chronischem Leberversagen stehen [71, 153].

- Negative Auswirkungen auf die Fibroblastenproliferation als mögliche Ursache für Wundheilungsstörungen bei chronisch Leberkranken [145].
- Einfluss auf das Immunsystem mit Hemmung der lymphoproliferativen Antwort, der Chemotaxis und der Phagozytoseaktivität der Granulozyten [134].

Bilirubin besitzt trotz zahlreicher negativer Eigenschaften einen antioxidativen Effekt und dient als Radikalfänger. Damit schützt es insbesondere das Albuminmolekül vor Sauerstoffradikalen [107].

Die Sekretion des konjugierten Bilirubins in die Galle erfolgt sehr viel schneller als seine Konjugation während der Biotransformation. Dadurch ist konjugiertes Bilirubin im gesunden Organismus kaum nachweisbar. Erst wenn die Leber über die Hälfte ihrer Exkretionsleistung verliert, kommt es zu einem Anstieg des konjugierten Bilirubins im Serum [33]. Bei der Konjugationsreaktion in der Leber erfolgt die Bildung einer kovalenten Bindung. Bei diesem Prozess wird Energie gewonnen (benötigte Energie für die Konjugationsreaktion = - 22 kCal/mol) [159]. Auf der einen Seite könnte diese Energiebereitstellung eine Erklärung für die Annahme sein, dass Bilirubin einen antiapoptotischen Effekt erzielt, und damit eine Hyperbilirubinämie im Leberversagen protektiv wirkt [54]. Auf der anderen Seite könnte der immer weitere Anstieg der Energiefreisetzung eine Leberschädigung provozieren [159]. Des Weiteren erzielen erhöhte Werte konjugierten Bilirubins folgende experimentell ermittelte Wirkungen:

- Hemmung komplementabhängiger Reaktionen [105],
- negativer Einfluss auf die Nierenfunktion [53] und
- Verkürzung der Erythrozytenüberlebenszeit [125].

Delta-Bilirubin ist kovalent an Albumin gebunden. Es besitzt keine toxische Wirkung und wird nicht über Urin oder Galle ausgeschieden [76]. Delta Bilirubin entsteht durch nicht-enzymatische Reaktion von konjugiertem Bilirubin mit Albumin und stellt einen messbaren Parameter der Cholestase dar [64]. Die wichtigste Quelle für die Bildung von delta Bilirubin ist Bilirubindiglucuronid, gefolgt von Bilirubinmonoglucuronid und unkonjugiertem Bilirubin [1]. Durch die Bindung an das Albuminmolekül hat delta Bilirubin eine Halbwertszeit von ca. drei Wochen. Dadurch normalisieren sich die Bilirubinwerte nach überstandener Cholestase mit biliärer Obstruktion erst nach mehreren Wochen [156].

1.2.4 Kreatinin

Kreatinin entsteht im Muskelstoffwechsel aus Kreatin und stellt das Endglied des endogenen Energietransfers ausgehend vom ATP im Skelett- und Herzmuskel dar [158]. Es ist wasserlöslich [130] und wird in der Niere mit einer relativ konstanten Eliminationsrate glomerulär filtriert sowie bei hohen Plasmakonzentrationen auch aktiv tubulär sezerniert. Im Steady State bei gleicher Kreatininproduktion und -elimi-

nation stellen Plasmakreatininwerte die umgekehrte Variable zur Glomerulären Filtrationsrate (GFR) dar. Solange es zu einem Anstieg der tubulären Exkretionsrate in der Niere kommt, führt eine sinkende glomeruläre Filtration nur zu einem geringen Anstieg der Kreatininwerte. Somit spiegeln die Kreatininwerte nicht direkt die Schwere der renalen Funktionseinschränkungen wider. Eine genauere Einschätzung der Nierenfunktion gelingt durch die renale Kreatininclearance. Die Kreatininclearance kann indirekt über die Cockcroft-Gault-Formel oder auch über die genauere MDRD-Formel (Modification of Diet in Renal Disease) bestimmt werden [70]. Hierbei fließen Faktoren, wie z.B. Serumkreatininwerte, Alter, Geschlecht und Rasse in die Formel ein [91]. Fehlberechnungen mit falsch hohen Werten finden sich bei einer erniedrigten Muskelmasse, einer reduzierten Stoffwechselleistung mit geringerer Umwandlung von Kreatin zu Kreatinin und beim Auftreten von Ascites [114]. Besonders bei Patienten im Leberversagen ist eine exakte Bestimmung der GFR für die Prognose, die Einschätzung des Fortschreitens einer chronischen Nierenerkrankung, die angepasste Medikamentendosierung sowie für die Erkennung von Transplantationskandidaten für eine kombinierte Leber-Nieren-Transplantation von großer Bedeutung [126]. 40-100% der Kreatininclearancebestimmungen im Leberversagen werden zu hoch ermittelt [85]. Etwa 2/3 der Leberkranken haben abnorme Kreatininclearancewerte. Sie haben in diesem Zusammenhang eine erhöhte Mortalität im Vergleich zu Leberkranken mit normalen Clearancewerten [4].

Zu einer drastischen Senkung der GFR kommt es bei der Ausbildung des hepatorenalen Syndroms, das sich im fortgeschrittenen Stadium der Leberzirrhose entwickeln kann. Hierbei erfolgt die Senkung der GFR durch die kompensatorische Aktivierung des renalen vasokonstriktorischen Systems nach systemischer Vasodilatation (besonders im Splanchnikusgebiet). Patienten mit hepatorenalem Syndrom haben eine sehr schlechte Prognose [98].

1.2.5 Harnstoff

Harnstoff entsteht im gleichnamigen Zyklus als Abbauprodukt des Protein- und Aminosäurestoffwechsels in der Leber und wird anschließend zu ca. 80 % im Urin ausgeschieden [30]. Die Hauptrolle des Harnstoffzyklus liegt in der Beseitigung von potentiell toxisch wirkendem Ammoniak. Die Größe des Harnstoffpools im Körper ist abhängig von der Differenz zwischen hepatischer Syntheserate und renaler Exkretion sowie bakterieller Hydrolyse im Darmlumen und Recycling des Stickstoffanteils mit anschließender Wiederaufnahme in Form von Aminosäuren und Proteinen aus dem Darm [97].

Beim Abbau von Aminosäuren entsteht CO_2 (Kohlendioxid), das über die Lungen abgeatmet wird, sowie NH_4^+ (Ammoniumionen) und HCO_3^- (Bikarbonationen). Diese Konstellation würde zu einem Anstieg des pH-Wertes führen. Die Protonen können

nicht direkt vom NH_4^+ zum HCO_3^- übertragen werden. In der Leber erfolgt deshalb die Synthese von elektroneutralem Harnstoff aus Ammonium- und Bikarbonationen [27]. Somit ist die Harnstoffsynthese in jedem Fall an der Regulation des Säure-Base-Haushaltes beteiligt. Es stellt sich nur die Frage, ob der Harnstoffzyklus lediglich passiv fungiert oder aktiv in die Feinabstimmung des Säure-Base-Haushaltes eingreift. Hierzu finden sich viele unterschiedliche Publikationen. Zusammenfassend lässt sich darstellen:

- Die Harnstoffsynthese ist abhängig vom pH-Wert. Bei einer Azidose nimmt die Syntheserate stärker ab als unter alkalischen Bedingungen. Dies hat bedeutende physiologische Konsequenzen, da die Abnahme der Harnstoffsynthese unter Azidose einen Anstieg der toxisch wirkenden NH_4^+-Konzentration nach sich zieht. Ausgleichend erfolgt eine vermehrte Ausscheidung von NH_4^+ über die Niere [72]. Des Weiteren ist anzunehmen, dass durch die niedrige Harnstoffsynthese auch mehr Bikarbonat zur Pufferung der Azidose zur Verfügung steht. Außerdem erlangt die Steigerung der Glutaminsynthese und damit die Ammoniakentfernung in den perivenösen Anteilen der Leber bei einer metabolischen Azidose eine zunehmende Bedeutung [55, 56].
- Im Leberversagen findet sich sowohl eine reduzierte periportal lokalisierte Harnstoffsynthese als auch eine verringerte Kapazität der perivenösen Glutaminsynthese. Somit werden die Entfernung und damit die Detoxifikation von Ammoniak in der Leber deutlich reduziert [111]. Es entwickelt sich häufig eine metabolische Alkalose. Die insuffiziente Leber ist nicht in der Lage, die hohen Bikarbonatkonzentrationen durch Protonen zu neutralisieren. Es wurde aufgezeigt, dass es mit sinkender Harnstoff-Syntheseleistung der Leber zu einer Erhöhung der Bikarbonationen im Plasma kommt. In diesem Zusammenhang steht auch die Aussage, dass steigende renale Ausscheidungsraten für NH_4^+ positiv mit dem pH-Anstieg und der Bikarbonatkonzentration korrelieren. Diese Korrelation ist unter physiologischen Verhältnissen umgekehrt [57, 58].
- Entgegengesetzt dieser Meinungen ergibt sich aus Studien, dass die Beeinträchtigung der Harnstoffsyntheserate im Leberversagen sich nicht in den Harnstoffkonzentrationen des Serums widerspiegelt. Des Weiteren erfolgt durch den Anstieg des Ammoniakspiegels, zurückzuführen auf die reduzierte Harnstoffsynthese, keine merkliche Störung des Säure-Base-Gleichgewichtes [131].

Insgesamt betrachtet ist der Stickstoffhaushalt des Körpers eng mit dem Säure-Base-Haushalt vernetzt. Für die Kontrolle des Säure-Base-Haushaltes ist ein komplexes Zusammenspiel von Lunge, Leber, Nieren, Muskelgewebe und anderen Organen notwendig.

1.2.6 Bromosulfophthalein (BSP) als Markermolekül

BSP ist ein organisches Anion, das als Markersubstanz zur Einschätzung der Leberfunktion, insbesondere der sinusoidalen und kanalikulären Membran-Transport-Systeme, eingesetzt wird [135]. BSP besitzt eine hohe Affinität zum Albuminmolekül mit einer Assoziationskonstanten K für die primäre Bindungsregion von 1,7 x 10^7 M^{-1} [8]. Die Entfernung von BSP aus dem Kreislauf in die Galle schließt die Dissoziation vom Plasmaprotein in den Sinusoiden, die Translokation entlang der basolateralen Membran, die intrazelluläre Konjugation mit Glutathion sowie die Bindung an zytosolische Proteine und die anschließende Ausschleusung entlang der kanalikulären Membran ein [24, 28]. Die Aufnahme von BSP in die Leberzelle erfolgt über einen Carrier-vermittelten Transport über zwei verschiedene Transportsysteme, Bilitranslocase (BTL) und BSP/Bilirubin-Bindungsprotein (BBBP), die parallel arbeiten [150]. Zwar ist die anschließende Konjugation von BSP und Glutathion mittels der Glutathion-S-Transferase innerhalb der Leberzelle ein entscheidender Schritt für die Exkretionsrate von BSP in die Galle, aber diese Konjugationsreaktion ist nicht zwingend für die BSP-Ausscheidung notwendig [157]. Die Ausscheidung von konjugiertem BSP (BSP-GSH) verläuft schneller als die Exkretion von unkonjugiertem BSP [161]. Durch verschiedene Toxine und Medikamente, wie z.B. Cyclosporin A, Clofibrate, Indomethacin und Cadmium, kommt es zu pharmakokinetischen Veränderungen bei der Metabolisierung von BSP [16, 46, 48, 139]. Hierbei erfolgt über Schädigung der Hepatozyten, Hemmung der Transportsysteme und der Glutathion-S-Transferase eine Reduktion der BSP-Exkretion.

Alle die genannten proteinaffinen Toxine werden, größtenteils an das Albuminmolekül gebunden, durch den menschlichen Organismus transportiert.

1.3 Das Albuminmolekül als Trägerprotein

Albumin wird ausschließlich in der Leber synthetisiert [18] und bildet 54-65% des Gesamteiweißes im Plasma [26]. Es ist ein wichtiges globuläres Protein zur Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks und dient als multifunktionales Transportprotein für endogene und exogen zugeführte Substanzen [84]. Das Molekulargewicht liegt bei ca. 66 000 Da. Das Albuminmolekül besteht aus einer Kette aus 585 Aminosäuren, welche über Disulfidbrücken in verschiedene Subdomänen unterteilt ist. Somit setzt sich Albumin aus 3 homologen Domänen zusammen, die spezifische strukturelle und funktionelle Eigenschaften besitzen. Diese 3 Domänen sind jeweils in Subdomäne A und B unterteilt [122]. Die

unterschiedlichen Bindungssubstanzen werden an den 6 verschiedenen, lokal getrennten Bindungsstellen gebunden, wobei einige dieser Liganden kompetitiv an demselben Ort binden, andere mehrere Stellen des Moleküls besetzen [108]. In Abhängigkeit vom pH-Wert [18] und vom umgebenden Lösungsmittel verändert das Albuminmolekül sowohl seine sekundäre als auch seine tertiäre Struktur, wodurch sich die Bindungsparameter einiger Liganden ändern.
In der Tertiärstruktur werden die nonpolaren Ligandenreste eher an den hydrophoben Teil im Proteininneren gebunden, die polaren Reste eher an der Moleküloberfläche. Die wichtigsten Bindungsstellen sind die Warfarinbindungsstelle (Sudlow Site I) und die Benzodiazepinbindungsstelle (Sudlow Site II). Die beiden Bindungsstellen sind in der Tertiärstruktur des Moleküls in den Subdomänen IIA und IIIA lokalisiert [122]. An die Bindungsstelle I binden Warfarin [123] und BSP [8] sowie eine Vielzahl von Medikamenten. Benzodiazepine, Tryptophan und Oktansäure sind Liganden der Bindungsstelle II [78]. Für langkettige Fettsäuren und Bilirubin sind die primären Bindungsregionen offenbar separat lokalisiert.
Die Bindung von aromatischen Anionen und Fettsäuren an das Albuminmolekül erscheint als eine Kombination aus hydrophoben und ionischen Wechselwirkungen [84]. Für die Interaktion des Albuminmoleküls mit den verschiedenen Zellen und Geweben zur Aufnahme von Fettsäuren wurde für Herzmuskel-, Leber- und Fettzellen ein Rezeptor nachgewiesen [51, 52]. Andere Forschungsergebnisse liefern Hinweise auf “Rezeptor-ähnliche“ Aktivitäten durch Konformationsänderungen im Albuminmolekül mit Steigerung der Affinität zwischen Albumin und z.B. der Leberzelle und eine daraus folgende reversible Adsorption an Zelloberflächen [128].
Die mögliche toxische Wirkung von Substanzen im Organismus wird entscheidend durch ihren freien Anteil charakterisiert [155]. Durch Bindung an das Albuminmolekül wird dieser freie Anteil deutlich reduziert und die toxische Wirkung minimiert. Im Leberversagen ist die Albuminsynthese eingeschränkt und die Toxinbelastung des Organismus durch die reduzierte Entgiftungsfunktion der Leber erhöht. Es stehen weniger Albuminbindungsstellen für albuminaffine Substanzen zur Verfügung und aufgrund des chemischen Gleichgewichts steigt der ungebundene, toxisch wirkende Anteil der Substanzen im Plasma an [132].

Die Transportmechanismen sowie die Verteilung der Toxine im menschlichen Körper und deren endogene Nachbildungsraten sind entscheidend für das Verständnis der pathophysiologischen Zusammenhänge im Organismus. Auch in Bezug auf die Entwicklung neuer, realitätsbezogener in-vitro Modelle sollte eine Betrachtung der Verteilungsräume erfolgen.

1.4 Verteilungsräume im menschlichen Körper und Rebound-Phänomen

Die transportkinetischen Vorgänge im menschlichen Körper lassen sich durch physikalische Modelle veranschaulichen. Im Kompartimentmodell bildet ein Kompartiment einen räumlich nicht abgrenzbaren, virtuellen, dreidimensionalen Bereich im Körper. Innerhalb des Kompartiments wird die Verteilung des Stoffes als homogen angenommen. Das Kompartiment ist definiert durch das Volumen und die Konzentration. Der Organismus besteht aus sehr vielen Kompartimenten. Zur Vereinfachung der Darstellung werden meistens folgende Kompartimentmodelle beschrieben:

1. **Einkompartimentmodell:**
   Im Einkompartimentmodell entspricht das Volumen V des Kompartiments dem Gesamtkörperwasser. Als Beispiel dient Harnstoff: Unter der Annahme Harnstoff wäre gleichmäßig im gesamten Körperwasser verteilt, kann die Harnstoffkinetik im Einkompartimentmodell dargestellt werden (Abb. 1). Hierbei wird Harnstoff mit der Clearance K, der Summe aus der Clearance K_D des Dialysators und der residuellen renalen Clearance R ausgeschieden und über den Stoffwechsel mit der Generationsrate G nachgeliefert [47].

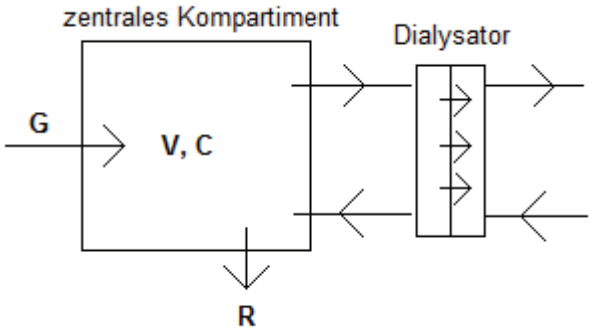

Abb. 1: Einkompartimentmodell. G = Generationsrate; V = Volumen; C = Konzentration; R = residuelle renale Clearance.

Dabei kann die mathematische Formulierung des Einkompartimentmodells aus einer einfachen Differentialgleichung gewonnen werden:

$$\frac{dCe}{dt} = -\frac{Kd}{V} Ce$$

Hierbei stellen *Ce* die Toxinkonzentration; *t* die Zeit; *Kd* die Clearance des Dialysators und *V* das Volumen des Kompartiments dar [163].
Das Einkompartimentmodell zeigt klare Grenzen auf. So können z.B. bei sehr schneller Elimination von Harnstoff Flüssigkeitsverschiebungen zwischen den

einzelnen Kompartimenten ausgelöst werden, die mit dem Einkompartimentmodell nicht beschrieben werden können. Auch der schnelle Anstieg der Harnstoffkonzentration nach Ende der Dialyse, der auf eine ungleiche Verteilung von Harnstoff am Dialyseende hindeutet (Rebound-Phänomen), kann mit diesem einfachen Modell nicht nachvollzogen werden [47]. Somit ist das Einkompartimentmodell nur bedingt auf die physiologischen Gegebenheiten übertragbar.

2. Zweikompartimentmodell:

Der menschliche Körper kann in 2 Kompartimente untergliedert werden, den extrazellulären Raum, bestehend aus dem vaskulären und interstitiellen Raum, und den intrazellulären Raum (Abb. 2).

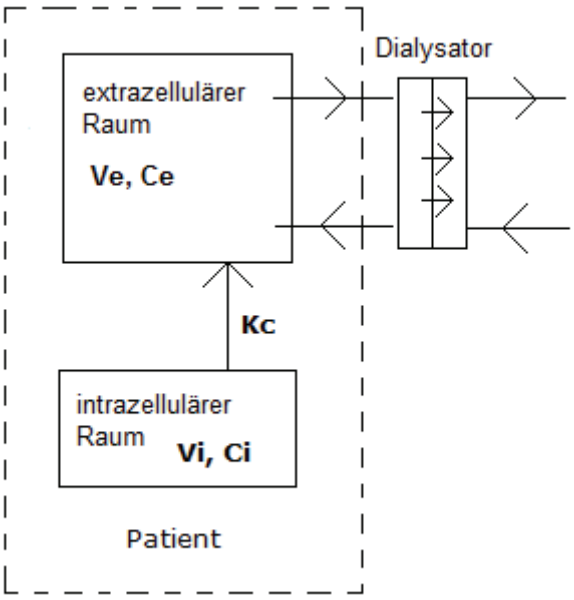

Abb. 2: Zweikompartimentmodell. Ve = extrazelluläres Volumen; Ce = extrazelluläre Konzentration; Vi = intrazelluläres Volumen; Ci = intrazelluläre Konzentration; Kc = Koeffizient für den interkompartimentären Stofftransfer.

Beim Dialysevorgang findet zunächst nur ein Stoffaustausch zwischen vaskulärem Raum und Dialysierflüssigkeit statt. Zwischen vaskulärem und interstitiellem Raum befindet sich als Barriere eine endotheliale Membran. Die Größe der Barrierefunktion ist dabei stoffspezifisch. Ähnlich verhält es sich mit der Stoffverteilung zwischen intrazellulärem und extrazellulärem Raum. Der Verteilungsprozess führt zu einem Verteilungsmuster. Dieses ist abhängig von dem Verteilungskoeffizienten der Substanz und dem Fettgehalt der Organe, der Ionisationskonstante und dem pH-Wert der Körperflüssigkeit, der Proteinbindung der Substanz und der Speicherkapazität sowie von der Existenz impermeabler Membranen. Die dialysepflichtigen Stoffe, wie z.B. Natrium, Kalium, Phosphat, Harnstoff und Kreatinin, liegen ungleich verteilt vor. Somit hängt die Eliminationsleistung dieser

Substanzen während der Dialyse nicht allein von der Dialysemembran ab, sondern auch von der Stoffverteilung auf die einzelnen Kompartimente. Des Weiteren spielt auch die Geschwindigkeit eine große Rolle, mit der die Substanz vom intrazellulären in den interstitiellen und von dort aus in den vaskulären Raum nachströmt. Zusammenfassend lässt sich die Aussage tätigen, dass der effektive Fluss und damit letztlich auch die Menge der zu eliminierenden Substanz abhängig ist von deren Generationsrate (endogene Toxinproduktion), deren Verteilung in den einzelnen Kompartimenten sowie deren Transport durch die biologischen und künstlichen Membranen (mit aktueller Clearance des Blutfilters) und letztendlich auch vom nachgeschalteten Blutreinigungsverfahren [47].
Im Zweikompartimentmodell ist die Abnahme der Toxinkonzentration im extrazellulären Raum (Blutseite) schneller als intrazellulär, weil die Blutseite direkt mit der Dialysemembran in Kontakt steht. Dieser Umstand zieht einen Stofftransfer entlang des Konzentrationsgradienten aus dem intrazellulären Raum in den Blutfluss nach sich. Diese durch die Dialyse hervorgerufene interkompartimentäre Dysbalance ist entscheidend für den schnellen Anstieg der Toxinkonzentration im Plasma nach Beendigung der Dialyse (Rebound-Phänomen) als Ausdruck für die Wiedererlangung eines Gleichgewichts zwischen den Kompartimenten [118].
Die Toxinkonzentrationen für das Zweikompartimentmodell lassen sich in 2 Differentialgleichungen mathematisch beschreiben:

$$\frac{dCe}{dt} = -\frac{Kc\,(Ci - Cd)}{Ve} - \frac{KdCe}{Ve}$$

$$\frac{dCi}{dt} = -\frac{Kc\,(Ce - Ci)}{Vi}$$

Hierbei stellen *Ce* die Toxinkonzentration im Blut, *Ci* die Toxinkonzentration im intrazellu-lären Raum, *Ve* das extrazelluläre Volumen, *Vi* das intrazelluläre Volumen, *Kd* die Clearance des Dialysators und *Kc* den Koeffizienten für den interkomparti-mentären Stofftransfer dar [163].
Ein Zweikompartimentmodell sollte zur besseren Beurteilung der pharmakokinetischen Eigenschaften der Toxine insbesondere bei der Untersuchung der endogenen Toxinproduktion im Leberversagen und des Rebound-Phänomens herangezogen werden.

1.5 Therapieoptionen im Leberversagen

1.5.1 Überblick

Beim Leberversagen, insbesondere beim fulminanten Leberversagen mit fortgeschrittener Enzephalopathie, fanden sich in der Vergangenheit Letalitätsraten bis zu 80%. Diese konnten zwar durch intensivmedizinische Maßnahmen und Notfall-Transplantationen reduziert werden, aber trotz aller Bemühungen sterben immer noch viele Patienten vor der Lebertransplantation oder müssen mit irreversiblen neurologischen Schäden leben [79]. Die Lebertransplantation stellt die einzige Therapie dar, die langfristig einen Überlebensvorteil gegenüber den anderen Therapieverfahren sichert. Extrakorporale Leberunterstützungsverfahren fungieren als “Brücke“ bis zur Leberregeneration oder Transplantation bei medikamentös nicht therapierbarer Leberinsuffizienz [65].

1.5.2 Extrakorporale Leberunterstützungsverfahren

Zu den ersten nicht-biologischen Entgiftungsverfahren gehörte die Hämodialyse. Sie diente als Dialyseverfahren zur Entfernung kleiner wasserlöslicher Moleküle, wie z.B. Ammoniak oder aromatischer Aminosäuren. Bei Patienten im Leberversagen konnte durch dieses Verfahren eine zeitweise Besserung der neurologischen Symptomatik erzielt werden, jedoch keine Reduktion der Mortalitätsraten [112, 113]. Höhermolekulare und albumingebundene Substanzen konnten auf dem Weg der Hämodialyse nicht entfernt werden. Somit wurden Verfahren wie Hämoperfusion und Plasmaaustausch entwickelt, die die proteinaffinen Stoffe aus dem Blutkreislauf entfernen. Die Hämoperfusion über Aktivkohle bzw. Austauscherharze brachte auch keine Verbesserung der Überlebensraten für Patienten im fulminanten Leberversagen [110]. Auch die unselektive Entfernung von Stoffen aus dem Patientenblut, wie z.B. der Verlust von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten, ist von Nachteil [80]. Beim Plasmaaustausch von Patienten- gegen Spenderplasma wurden positive Effekte auf Enzephalopathie und Blutkreislauf nachgewiesen [79]. Allerdings findet auch hier ein nicht selektiver Austausch von Plasma statt, bei dem erhöhte Konzentrationen Leber protektiv wirkender Mediatoren und Faktoren aus dem Patientenkreislauf entfernt werden. Hierzu zählen z.B. Wachstumsfaktoren wie HGF (Hepatocyte Growth Factor) und TGFα (Transforming Growth Factor alpha) [39, 42].

Zu den Albumindialysesystemen gehören Single Pass Albumin Dialysis (SPAD), Fractionated plasma separation and adsorption (FPSA-Prometheus) und das Molecular Adsorbents Recirculating System (MARS). Bei diesen Verfahren erfolgt die

Entfernung von Toxinen aus dem Patientenkreislauf durch Bindung an Albuminmoleküle als Kombination aus Dialyse- und Adsorptionsbehandlung [79].

Das MARS-Verfahren stellt ein modifiziertes Dialysesystem mit einer Kombination aus konventioneller Dialyse zur Entfernung wasserlöslicher Substanzen und Einschaltung eines albuminhaltigen Mittelkreislaufs zur selektiven Entfernung albumingebundener Toxine über Adsorber dar. Das Albumindialysat übernimmt über eine spezielle Membran die albumingebundenen Toxine der blutseitigen Trägerproteine und zirkuliert anschließend in einem Kreislauf über einen Aktivkohleadsorber und einen Anionenaustauscher. Hierbei werden die Albuminmoleküle von den albumingebundenen Toxinen befreit und zur Wiederverwertung mit freien Bindungsstellen bereitgestellt [2] (Abb. 3). In vielen retrospektiven Analysen und prospektiven Studien wurde eine Verbesserung des Enzephalopathiegrades, der Hämodynamik, der Nierenfunktion und der Cholestase mit der Anwendung des MARS-Verfahrens gezeigt [75]. Eine Verbesserung der Überlebensrate für Patienten mit akut auf chronischem Leberversagen konnte in 2 randomisierten Kontrollstudien nachgewiesen werden [63, 99]. Bislang konnte ein positiver Einfluss auf die Überlebensrate beim akuten fulminanten Leberversagen noch nicht aufgezeigt werden. Hierzu fehlen noch Ergebnisse laufender Studien [23, 65].

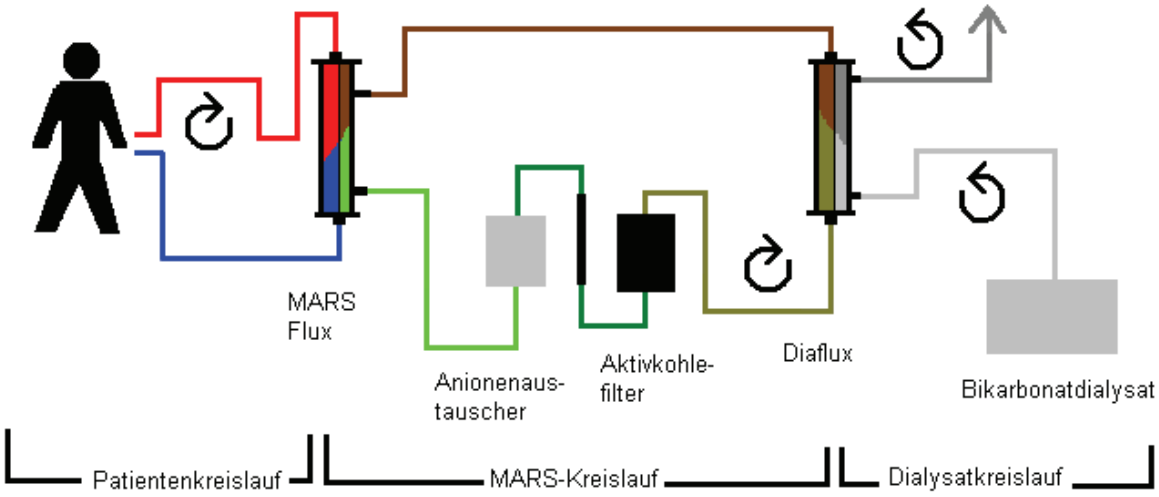

Abb. 3: Schematische Darstellung des Molecular Adsorbents Recirculating System (MARS).

1.6 Die Notwendigkeit der Weiterentwicklung von Leberunterstützungsverfahren

Zurzeit ist ein Anstieg der Überlebensraten bei Patienten im Leberversagen durch den Einsatz eines Leberunterstützungsverfahrens noch umstritten. Der noch nicht klar bewiesene klinische Effekt auf das Überleben ist unter anderem Folge eines noch zu optimierenden Effektivitäts-Risiko-Verhältnisses. Somit ist die stetige Weiterentwicklung von Leberunterstützungssystemen dringend notwendig [22, 50, 62,

82]. Zum Voranschreiten dieser Entwicklung mit letztendlich verbessertem Outcome der Patienten dienen zuverlässige Modelle, die eine realitätsnahe Betrachtungsweise zulassen.

Eine wesentliche Frage bei der Verfahrensoptimierung ist, ob sich bei der Anwendung von Langzeittherapien gegenüber der intermittierenden Behandlung des Patienten Vorteile ergeben. Da die menschliche Leber ihre Detoxifikationsleistung dem Körper rund um die Uhr zur Verfügung stellt, sind Langzeittherapien theoretisch physiologisch angepasster und effektiver. Sie bergen aber auch Risiken, wie z.B. hämodynamische Probleme mit Erhöhung des peripheren Widerstandes durch Entfernung vasodilatierender Substanzen und eine erhöhte Gefahr für auftretende Blutungen, die bei der Anwendung von Leberunterstützungsverfahren sowieso schon nicht zu vernachlässigen sind [7, 44]. Da kontinuierliche Langzeittherapien mit Akutdialyseplattformen durchgeführt werden (z.B. Prisma von Gambro oder BM25 von Baxter), sind sie auf niedrige Dialysatflüsse begrenzt. Im Gegensatz hierzu wird bei den intermittierenden Behandlungen mit hohen Dialysatflüssen gearbeitet. Somit existieren auch zwei Modellansätze mit verschiedenen Vergleichsmöglichkeiten. Das bislang verwendete Einkompartimentmodell liefert die Darstellung der intermittierenden Therapie mit hoher Flussrate. Für die Langzeitrecherche über 24 h ist die Entwicklung eines Zweikompartimentmodells mit niedriger Dialysatflussrate geplant.

1.7 Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines Zweikompartimentmodells zur realitätsnahen in-vitro Untersuchung und Beurteilung der Effektivität extrakorporaler Leberunterstützungsverfahren unter gleichzeitiger Beachtung einer besseren Kosteneffizienz im Vergleich zum alten Einkompartimentmodell.

Die Konstruktion des Zweikompartimentmodells soll das natürliche Phänomen des Rebounds, also das Nachströmen von endogen produzierten Substanzen aus dem Gewebe in den gereinigten Blutkreislauf bei Patienten im Leberversagen, nachempfindbar machen.

Es dient als Grundlage für die zukünftige Entwicklung neuer Membransysteme, Adsorber und Albuminlösungen und trägt damit zur besseren klinischen Entscheidungsfindung bei.

Durch das neue Modell soll die Effektivität des Leberunterstützungsverfahrens und seiner Einzelkomponenten anhand von Clearanceraten und Konzentrationsverläufen der betrachteten wasserlöslichen und albumingebundenen Substanzen im Patienten- und Albuminkreislauf über eine Dauer von 24 h dargestellt werden. Somit lassen sich Aussagen über Langzeituntersuchungen für die kontinuierliche Anwendung bei niedrigen Flussraten tätigen.

Folgende Fragen sollen geklärt werden:

1. Welchen Einfluss hat die kontinuierliche Zuführung von Modellsubstanzen auf die Messbarkeit verlässlicher Clearanceraten an den Einzelkomponenten im System im Vergleich zum alten Einkompartimentmodell ohne kontinuierliche Nachdosierung?
2. Wie verhalten sich die Clearanceraten für wasserlösliche Substanzen über eine Zeit von 24 h und an welchen Einzelkomponenten im System erfolgt die Eliminierung der Substanzen? Hierbei sollen besonders die gegenüber dem Einkompartimentmodell zusätzlich verwendeten Stoffe Ammoniak und Harnstoff mituntersucht werden.
3. Sind Kapazitätsgrenzen für die einzelnen Adsorber und Permeabilitätsgrenzen für die Dialysatormembran im Albuminkreislauf vorhanden? Wenn ja, wann sind diese Grenzen erreicht?

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsplanung

Es wurde ein Zweikompartimentmodell mit einer kontinuierlichen Zuführung von wasserlöslichen und albumingebundenen Substanzen in den Patientenkreislauf entwickelt. Diese Art der Zuführung entspricht der Nachbildung von Stoffen im menschlichen Körper und stellt somit das “Rebound-Phänomen“ bei der endogenen Toxinproduktion im Leberversagen dar.

Das Zweikompartimentmodell kommt innerhalb eines in-vitro Aufbaus zur Anwendung. Hierfür wurde das MARS-Verfahren als Repräsentant für ein extrakorporales Leberunterstützungsverfahren gewählt.

Folgende Versuchsreihen wurden geplant:

Als Vergleichsgrundlage für die Eignung des neuen Zweikompartimentmodells wurden Versuche zum alten Einkompartimentmodell mit intermittierender Dialyse (6 h) aus dem Center for Extracorporeal Organ Support (CEOS) herangezogen. Die Experimente dieser Versuchsreihen bestanden aus dem 3 l fassenden, mit Testsubstanzen angereicherten Patientenkreislauf, dem MARS-Mittelkreislauf und dem Dialysatkreislauf. Die Kreisläufe waren über Membranen miteinander verbunden (Tabelle 1).

Versuche	Versuchsdauer [h]	Flussrate [ml/min] Patientenkreislauf	Flussrate [ml/min] MARS-Kreislauf	Flussrate [ml/min] Dialysatkreislauf
1.1, 1.2, 1.3	6	250	250	500
Probenentnahmezeiten der Versuche 1.1, 1.2, 1.3 in min bei: 0, 10, 20, 30, 45, 60 (1h), 120 (2h), 180 (3h), 240 (4h), 300 (5h), 360 (6h)				

Tabelle 1: Übersicht der Einzelversuche zum Einkompartimentmodell.

Im Zweikompartimentmodell wurde ein Patientenkreislauf (= Kompartiment 1) mit einem “intravasalen“ Volumen von 1 l Plasma zur Anwendung gebracht. Dieses erste Kompartiment entsprach hierbei dem Blutkreislauf eines Patienten im Leberversagen und wurde mit Modelltoxinen in definierten Ausgangskonzentrationen versehen. Folgende Markersubstanzen wurden verwendet: Ammoniak sowie Kreatinin und Harnstoff als wasserlösliche Substanzen und Bilirubin sowie Bromosulfophthalein (BSP) und Gallensäure als stärker albumingebundene Substanzen. Zusätzlich wurden kontinuierlich während der Experimente die Modelltoxine aus einem zweiten Kompartiment über einen Infusomaten dem Patientenkreislauf zugeführt. Die Nachbildungsraten der einzelnen Toxine wurden durch Literaturangaben und

Recherchen zu Entfernungsraten früherer MARS-Experimente ermittelt. Die Menge der kontinuierlich nachdosierten Toxine wurde anhand der natürlichen, stündlichen, endogenen Neubildungsrate kalkuliert und betrug für Ammoniak 121,5 mg/h [31]; Kreatinin 225 mg/h [147]; Harnstoff 7221,6 mg/h [146]; Gallensäure 45 mg/h [36]; Bilirubin 4,5 mg/h und Bromosulfophthalein (BSP) 225 mg/h.
Das zweite Kompartiment des Modells soll den extravasalen Raum widerspiegeln, aus dem unter physiologischen und vor allem unter pathologischen Bedingungen ständig Toxine in das frisch entgiftete Blut nachströmen. Diese Versuchsreihe wurde in 24 h laufenden Experimenten mit Einbeziehung von MARS- und Dialysatkreislauf durchgeführt (Tabelle 2).

Versuche	Versuchs-dauer [h]	Flussrate [ml/min] Patientenkreislauf	Flussrate [ml/h] Infusomat	Flussrate [ml/min] MARS-Kreislauf	Flussrate [ml/min] Dialysatkreislauf
2.1, 2.2, 2.3	24	250	90	250	50
Probenentnahmezeiten der Versuche 2.1, 2.2, 2.3 in min (h) bei: 0, 10, 20, 30, 45, 60 (1h), 90, 120 (2h), 150, 180 (3h), 240 (4h), 300 (5h), 360 (6h), 480 (8h), 600 (10h), 720 (12h), 900 (15h), 1080 (18h), 1260 (21h),1440 (24h)					

Tabelle 2: Übersicht der Einzelversuche zum Zweikompartimentmodell mit Patienten-, MARS-, und Dialysatkreislauf über 24 h (=Standardversuchsreihe).

Als Kontrollexperiment zum Zweikompartimentmodell erfolgte in einer weiteren Versuchsreihe die kontinuierliche Zuführung der Modelltoxine über den Infusomaten in den Patientenkreislauf ohne die Nachschaltung von MARS- und Dialysatkreislauf. Hierbei sollte eine kontinuierliche Erhöhung der Toxine im Patientenkreislauf ohne entsprechende Leberersatztherapie aufgezeigt werden. Die Dauer der Experimente wurde auf 6 h festgelegt (Tabelle 3).

Versuche	Versuchs-dauer [h]	Flussrate [ml/min] Patientenkreislauf	Flussrate [ml/h] Infusomat
3.1, 3.2, 3.3	6	250	90
Probenentnahmezeiten der Versuche 3.1, 3.2, 3.3 in min bei: 0, 10, 20, 30, 45, 60 (1h), 90, 120 (2h), 150, 180 (3h), 210, 240 (4h), 270, 300 (5h), 330, 360 (6h)			

Tabelle 3: Übersicht der Einzelversuche zum Zweikompartimentmodell mit Patientenkreislauf (ohne MARS- und Dialysatkreislauf) über 6 h (=Leerversuchsreihe).

Zusammenfassend wurde anhand der Messungen die Eignung beider Verfahren, Einkompartimentmodell und Zweikompartimentmodell, zur Charakterisierung der Effektivität eines Systems in einem Versuchszeitraum von 6 h verglichen.

2.2 Herstellung der Substanzgemische

Für den Patientenkreislauf der Versuchsreihe zum Einkompartimentmodell (Versuche 1.1, 1.2, 1.3) wurde ein Plasmapool hergestellt, der mit definierten Ausgangskonzentrationen von Modellgiften angereichert war. Folgende Substanzen wurden für 1 l der Lösung verwendet: 100 mg Kreatinin (Sigma), 100 mg unkonjugiertes Bilirubin (Sigma), 400 mg Chenodesoxycholsäure (Sigma) und 200 mg Bromosulfophthalein BSP (Sigma).

Diese Substanzen wurden mit einer Präzisionswaage abgemessen und mit jeweils 20 ml 0,1 molarer Natronlauge zum Lösen alkalisiert und anschließend in einem Erlenmeyerkolben mit 90 ml Human Serum Albumin (20%ig, salzarm, Behring) verdünnt. Danach erfolgte die Titrierung mit Essigsäure auf einen physiologischen pH-Wert von 7,4.

Diesem Stoffgemisch wurden dann nochmals 200 ml Human Serum Albumin (20%ig, salzarm, Behring) zugefügt und mit Aqua destillata auf 1000 ml aufgefüllt.

Für den Patientenkreislauf der Standard- und Leerversuchsreihen zum Zweikompartimentmodell (Versuche 2.1, 2.2, 2.3 und 3.1, 3.2, 3.3) wurde ein mit Toxinen angereicherter Plasmapool hergestellt. Dieser orientierte sich an der Zusammensetzung des Blutes bei Patienten im Leberversagen. Hierfür wurden folgende Substanzen verwendet: 53 mg Ammoniumchlorid (VEB Jenapharm), 400 mg Chenodesoxycholsäure (Sigma), 100 mg unkonjugiertes Bilirubin (Sigma), 100 mg Kreatinin (Sigma), 1800 mg Harnstoff (Sigma) und 200 mg Bromosulfophthalein BSP (Sigma).

Diese Substanzen wurden mit einer Präzisionswaage abgemessen und mit jeweils 20 ml 0,1 molarer Natronlauge zum Lösen alkalisiert und anschließend in einem Erlenmeyerkolben mit 90 ml Human Serum Albumin (20%ig, salzarm, Behring) verdünnt. Danach erfolgte die Titrierung mit Essigsäure auf einen physiologischen pH-Wert von 7,4.

Diesem Stoffgemisch wurden dann nochmals 200 ml Human Serum Albumin (20%ig, salzarm, Behring) zugefügt und mit Aqua destillata auf 1000 ml aufgefüllt.

Für alle Versuchsreihen zum Zweikompartimentmodell war eine Infusomatenlösung notwendig, die dem Patientenkreislauf kontinuierlich ein toxisches Substanzgemisch zuführte. Folgende Stoffe wurden für 200 ml verwendet: 270,27 mg Ammoniumchlorid (VEB Jenapharm), 100 mg Chenodesoxycholsäure (Sigma), 10 mg unkonjugiertes Bilirubin (Sigma), 500 mg Kreatinin (Sigma), 16,047 g Harnstoff (Sigma) und 100 mg

Bromosulfophthalein BSP (Sigma). Bei der Entscheidung für diese Stoffmengen gab die Literatur bezüglich normaler “Turnover“-Raten bzw. die Ausscheidung über die Albumindialyse den Ausschlag.

Die Substanzen wurden mit einer Präzisionswaage abgemessen, mit 150 ml 0,1 molarer Natronlauge zum Lösen alkalisiert und mit 50 ml Human Serum Albumin (20%ig, salzarm, Behring) verdünnt. Danach erfolgte die Titrierung mit Essigsäure auf einen physiologischen pH-Wert von 7,4, sodass 200 ml Infusomatenlösung mit einer Albuminkonzentration von 5% vorlagen. Da der Infusomat mit einer Flussrate von 90 ml/h die Modellgifte in den Patientenkreislauf befördert, musste dementsprechend für eine Experimentendauer von 24 h bzw. 6 h ausreichend Infusomatenlösung herge-stellt werden.

Für die Befüllung des MARS-Kreislaufs in den Versuchsreihen zum Einkompartiment-modell (Versuche 1.1, 1.2, 1.3) und Zweikompartimentmodell über 24 h (Versuche 2.1, 2.2, 2.3) waren 600 ml Human Serum Albumin (20%ig, salzarm, von Behring) notwendig.

Für den Dialysatkreislauf der Versuchsreihen zum Ein- (Versuche 1.1, 1.2, 1.3) und Zweikompartimentmodell über 24 h (Versuche 2.1, 2.2, 2.3) wurde Bikarbonatdialysat (K^+= 4,0 mmol/l; CA^{2+}= 1,75 mmol/l) verwendet. Dieses wurde für die Zweikompar-timentmodellversuche mit der Dialysemaschine Fresenius 2008 E hergestellt.

2.3 Versuchsaufbau

Zur Entwicklung des Zweikompartimentmodells wurde ein in-vitro Aufbau unter Verwendung des MARS-Verfahrens realisiert. Der Versuchsaufbau bestand bei den Versuchsreihen zum Einkompartimentmodell und Zweikompartimentmodell 24 h aus insgesamt drei Kreisläufen: dem Patientenkreislauf, dem MARS-Kreislauf und dem Dialysatkreislauf. Bei der Leerversuchsreihe des Zweikompartimentmodells wurde auf den MARS- und Dialysatkreislauf verzichtet.

2.3.1 Versuchsaufbau der Versuche zum Einkompartimentmodell

Im Mittelpunkt des gesamten in-vitro Aufbaus des alten Einkompartimentmodells steht der MARS-Kreislauf. Verwendet wurde hierfür der MARS-Monitor 1 (Teraklin AG). In diesem Kreislauf flossen mit einer Flussrate von 250 ml/min in Silikonschläuchen 600 ml Human Serum Albumin (20%ig, salzarm, von Behring). Das Albumin wurde im MARS-System durch einen Aktivkohlefilter diaMARS AC250 (Teraklin AG) und einen Anionenaustauscher diaMARS IE250 (Teraklin AG) von albuminbindenden Substanzen befreit.

Zwischen dem MARS-Kreislauf und dem Patientenkreislauf wurde der Dialysator MARS-Flux Blood 2.1 (Teraklin AG) geschaltet. Die Flüsse an der trennenden Membran flossen im Gegenstromprinzip.

Im geschlossenen, rezirkulierenden Patientenkreislauf flossen, über eine Rollerpumpe (Gambro AB) angetrieben, 3 l mit Toxinen angereichertes Plasma über Silikonschläuche zur Membran und wieder in das Behältnis. Die Rollerpumpe lieferte eine konstante Flussrate von 250 ml/min. Als Markersubstanzen dienten vornehmlich Kreatinin als eher wasserlösliche Komponente und Gallensäure, unkonjugiertes Bilirubin sowie Bromosulfophthalein (BSP) als Substanzen mit Affinität zum Albuminmolekül.

Auf der anderen Seite des MARS-Kreislaufs war über den Dialysator Diaflux 1.8 (Teraklin) der Dialysatkreislauf für die Entfernung wasserlöslicher Substanzen angeschlossen. Hier floss ebenfalls im Gegenstromprinzip Bikarbonatdialysat in Silikonschläuchen. Das Dialysat floss über die Membran und wurde nach dem Probenabnahmepunkt verworfen. Der Dialysatkreislauf wurde mittels einer Pumpe mit einer Flussrate von 500 ml/min angetrieben (Abb. 4).

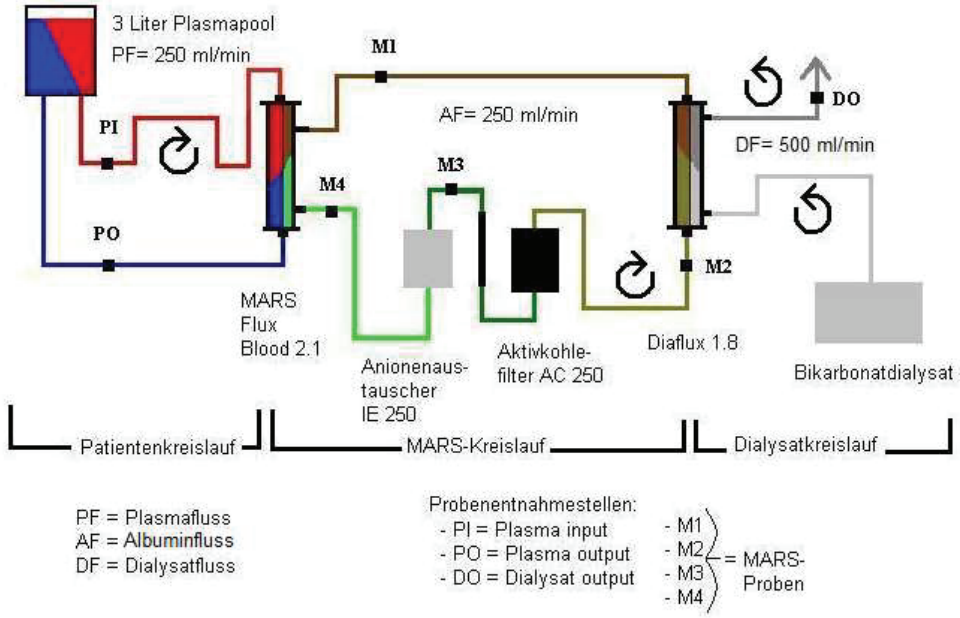

Abb. 4: Schematischer Aufbau des in-vitro MARS-Verfahrens; Versuchsaufbau des Einkompartimentmodells.

2.3.2 Versuchsaufbau der Versuche zum Zweikompartimentmodell (24 h)

Für die Entwicklung der Standardversuchsreihe des Zweikompartimentmodells wurde ebenfalls ein in-vitro Modell des MARS-Verfahrens verwendet. Der Versuchsaufbau entsprach zunächst der Versuchsreihe zum Einkompartimentmodell. Es fanden sich aber zwei wesentliche Unterschiede. Zum einen wurde lediglich ein 1 l fassender Plasmapool für die Versuchsreihen benötigt und zum anderen wurde zusätzlich

kontinuierlich in den venösen Schenkel des Patientenkreislaufs eine mit Toxinen angereicherte Infusion eingeleitet. Diese Infusomatenlösung wurde dem Patientenkreislauf mit einer Flussrate von 90 ml/h durch den Infusomaten Fresenius MC zugeführt. Dies entsprach annähernd der endogenen Produktionsrate von Toxinen im menschlichen Körper beim Leberversagen. Es erfolgte eine Durchmischung von Plasmapool und infundierten Toxinen im Behältnis (Abb. 5).

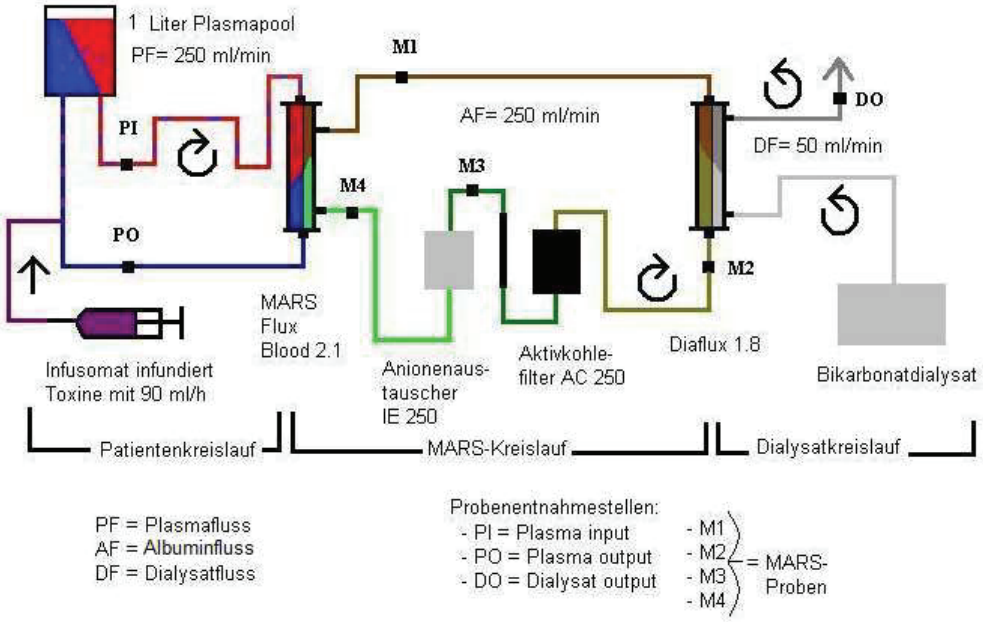

Abb. 5: Schematischer Aufbau des in-vitro MARS-Verfahrens; Versuchsaufbau des Zweikompartimentmodells.

2.3.3 Versuchsaufbau der Leerversuche zum Zweikompartimentmodell (6 h)

Es wurde eine Kontrollversuchsreihe durchgeführt, um den kontinuierlichen Zustrom von Modelltoxinen über den Infusomaten in Bezug auf steigende Toxinkonzentrationen im Patientenkreislauf ohne Nachschaltung einer extrakorporalen Detoxifikation im Zweikompartimentmodell zu demonstrieren. Hierzu wurde ausschließlich der Patientenkreislauf aufgebaut. Dieser setzte sich wieder aus dem 1 l fassenden Plasmapool und dem Dialysator MARS Flux Blood 2.1 (Teraklin), die über Silikonschläuche miteinander verbunden waren, zusammen. Der Kreislauf wurde über eine Rollerpumpe (Gambro AB) mit einer Flussrate von 250 ml/min angetrieben. Hinzu kam die kontinuierliche Infusion eines Toxingemisches in den venösen Schenkel des Patientenkreislaufs über einen Infusomaten (Fresenius MC). Die Flussrate des Infusomaten betrug 90 ml/h (Abb. 6).

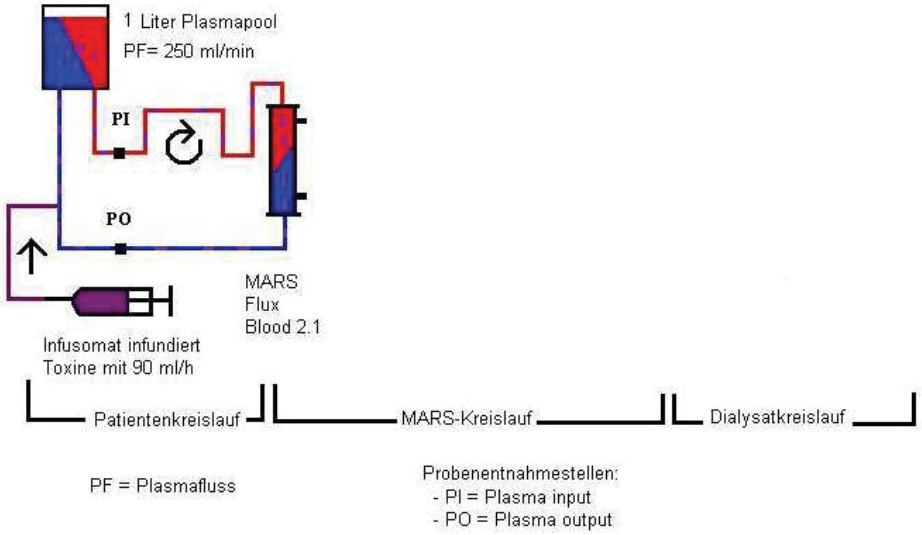

Abb. 6: Versuchsaufbau der Leerversuchsreihe zur Kontrolle des Zweikompartimentmodells.

2.4 Versuchsdurchführung

Für die Versuchsreihen zum Einkompartimentmodell und Zweikompartimentmodell über 24 h wurden folgende Vorbereitungen getroffen:

Vor dem Start der einzelnen Experimente wurden der Patientenkreislauf, der MARS-Mittelkreislauf und der Dialysatkreislauf mit Natriumchloridlösung (NaCl 0,9 %ig) gespült. Hierbei wurden die derzeit am Spülvorgang nicht beteiligten Kreisläufe abgeklemmt. Durch das Befüllen der Kreisläufe mit Natriumchloridlösung konnte eine weitestgehende Luftfreiheit des Systems erreicht werden. Gleichzeitig erfolgte mittels Ausliterung eine Kontrolle der verwendeten Rollerpumpen bezüglich konstanter Flussraten von 250 ml/min im Patienten- und MARS-Kreislauf und 500 ml/min bzw. 50 ml/min im Dialysatkreislauf. Bei den durchgeführten Versuchsreihen wurde der jeweilige im Abschnitt 2.2 beschriebene Plasmapool in einem Behältnis verwendet. Dieses wurde nach dem Spülvorgang mittels Dialysenadeln in den Patientenkreislauf eingeschaltet.

Zusätzlich erfolgte bei den Versuchen zum Zweikompartimentmodell der Anschluss der im Abschnitt 2.2 beschriebenen Infusomatenlösung über den Infusomaten (Fresenius MC) an den venösen Schenkel des Patientenkreislaufs. Der Infusomat wurde auf eine Flussrate von 90 ml/h eingestellt.

Der MARS-Mittelkreislauf wurde mit 600 ml Human Serum Albumin (20%ig, von Behring) befüllt. Anschließend wurde der Dialysatkreislauf mit der zuvor aus der Dialysemaschine gewonnenen und in einem großen Behältnis gesammelten Bikarbonatdialysatflüssigkeit verbunden.

Vor dem jeweiligen Versuchsstart wurden die Kreisläufe durch das Entfernen der Klemmen über die Membranen miteinander verbunden. Dialysat- und MARS-

Kreislauf wurden gestartet. Mit dem Start des Patientenkreislaufs lief eine Zeit von 10 min. Das Ende des zehnminütigen Durchlaufs stellte dann den Probenentnahmezeitpunkt 0 min dar.

Bei den Versuchsreihen zum Einkompartimentmodell über 6 h wurden folgende Entnahmezeiten der Proben gewählt: 0, 10, 20, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300 und 360 min. Die Probenentnahmen zum Zweikompartimentmodell über 24 h erfolgten bei 0, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 480, 600, 720, 900, 1080, 1260 und 1440 min.

Bei der Leerversuchsreihe des Zweikompartimentmodells über 6 h wurde allein der Patientenkreislauf aufgebaut. Dieser wurde ebenfalls vor dem Start der Versuche mit Natriumchloridlösung (NaCl 0,9%ig) gespült und dabei eine konstante Flussrate von 250 ml/min ausgelitert. Danach erfolgte das Anklemmen des Patientenserums und der Infusomatenlösung an den Patientenkreislauf. Mit dem Start der Rollerpumpe wurden 10 min gestoppt und anschließend die erste Probe zum Zeitpunkt 0 min entnommen. Weitere Probeentnahmen folgten zu den Zeitpunkten 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360 min.

2.5 Biochemische Analysen

Die verwendeten Substanzen wurden photometrisch gemessen. Ammoniak reagierte hierbei in einer enzymatischen Reaktion mit α-Ketoglutarat und NADPH unter Glutamatdehydrogenase-Katalyse zu L-Glutamat und $NADP^+$ [59, 102]. Kreatinin wurde mit der Jaffé-Methode bestimmt. Hierbei bildete Kreatinin in alkalischer Lösung mit Pikrinsäure einen gelb-orange gefärbten Komplex, dessen Farbintensität, direkt proportional zur Kreatininkonzentration, photometrisch gemessen wurde [9, 151]. Die Messung des Harnstoffs erfolgte durch die vollenzymatische UV-Methode. Hierbei wurde Harnstoff durch die Urease in Ammoniumionen (NH_4^+) und Bikarbonationen (HCO_3^-) gespalten. Die Ammoniumionen reagierten dann mit α-Ketoglutarat und NADH durch die Glutamatdehydrogenase zu L-Glutamat und NAD^+ [15]. Die Gallensäurebestimmung erfolgte ebenfalls enzymatisch. Bilirubin wurde nach der Methode von Jendrassik Grof bestimmt [148]. Bilirubin bildete hierbei mit diazotierter Sulfanilsäure einen Azofarbstoff (in neutraler Lösung rot, in alkalischer Lösung blau). Dem Serum wurde Coffein, Na-Benzoat$^+$ und Na-Acetat zugesetzt. Dann verband sich das Gesamtbilirubin mit diazotierter Sulfanilsäure und durch die alkalische Fehling-2-Lösung entstand blaues Azobilirubin, welches selektiv bei 37 Grad und 576 nm bestimmt wurde. Die Bestimmung von Bromosulfophthalein erfolgte ebenfalls photometrisch nach der Methode von Seligson [137]. Albumin wurde nach der Endpunktmethode von Doumas mit Bromocresolgrün photometrisch bestimmt. Hierbei bildete sich bei einem pH-Wert von 4,2 ein Albumin-Bromocresolgrün-

Komplex. Die Farbintensität der blaugrünen Farbe war direkt proportional der Albuminkonzentration [38, 93].

2.6 Datenbearbeitung und Statistik

Für die elektronische Datenverarbeitung wurde das Programm Microsoft Excel für Windows XP verwendet. Die statistische Auswertung sowie die Darstellung der Diagramme erfolgte in Sigma Plot 8.0.
Für die gemessenen Konzentrationen der wasserlöslichen Substanzen eines Messpunktes wurden die prozentualen Werte, bezogen auf den Ausgangswert zum Zeitpunkt 0 min, ermittelt. Dadurch konnte eine bessere Vergleichbarkeit der Daten erreicht werden.
Für die statistische Auswertung wurden die üblichen Methoden zur Berechnung von Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SA) zur Anwendung gebracht.
Zur Signifikanzberechnung wurden unter der Annahme annähernd normalverteilter Grundgesamtheiten der t-Test für unverbundene (unabhängige) Stichproben und der t-Test für paarige Stichproben angewandt. Als signifikant galten Unterschiede mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 5% ($p < 0,05$).

1. Ultrafiltrationskorrektur:

Bei der Ultrafiltration werden durch die Filtermembran nicht nur ungelöste Teilchen, sondern auch gelöste Moleküle entsprechend ihrer Molekülgröße vom Lösungsmittel abgetrennt. Im Dialysator geschieht diese Entfernung von Flüssigkeit und der darin gelösten Teilchen über eine semipermeable Membran mit Hilfe eines hydrostatischen Gradienten bzw. der Transmembrandruckdifferenz. Bei diesen Vorgängen wirkt der onkotische Druck der Ultrafiltration entgegen. Ist nun der mittlere Transmembrandruck höher als der onkotische Druck, findet ein Nettoflüssigkeitsstrom aus dem Blutkompartiment statt und vice versa. Es kommt zu Flüssigkeitsverschiebungen [47].
Die verwendeten Membranen der Dialysatoren waren undurchlässig für Albumin. Durch diesen Umstand konnten Veränderungen der Albuminkonzentration, z.B. durch Verschiebungen freier Flüssigkeit zwischen den Dialysatkreisläufen über die Membranporen, die Konzentrationsverläufe von überwiegend albumingebundenen Substanzen beeinflussen. Um diesen Einfluss auszugleichen, wurde in die Prozentberechnungen der dazugehörigen albumingebundenen Substanzen (wie z.B. Gallensäuren, Bilirubin, Bromosulfophthalein) eine Albuminkorrektur mit folgender Formel eingefügt:

$$C_{Subs\tan z\ adaptiert} = \frac{C_{Albu\min\ Mittel} \times C_{Subs\tan z\ gemessen}}{C_{Albu\min\ gemessen}}$$

2. Momentanclearance:

Die Clearance eines Stoffes ist der Teilstrom des Gesamtstroms durch den Dialysator, der von der Substanz vollständig befreit wurde. Sie wird in ml/min angegeben. Die Clearancewerte zu den einzelnen Zeitpunkten über den Dialysatoren und Adsorbern wurden mit folgender Formel ermittelt:

$$Clearance\ [ml/\min] = \frac{Blutfluss\ [ml/\min] \times (Eingangskonzentration - Ausgangskonzentration)}{Eingangskonzentration}$$

Wobei die Eingangskonzentration die Konzentration vor dem Dialysator bzw. Adsorber und die Ausgangskonzentration die Konzentration hinter dem Dialysator bzw. Adsorber darstellt [47].

3. Kumulative Clearance:

Zusätzlich wurde die folgende Formel für die Berechnung der kumulativen Clearance über bestimmten Zeitabschnitten im Zweikompartimentmodell für eine realitätsnähere Betrachtungsweise und als Vergleichgrundlage für die Werte der Momentan-clearance entwickelt (siehe auch Abb. 7):

$$kumulative\ Clearance\ [ml/\min] = \left(\frac{C_{t\,x1} - C_{Ftx2}}{C_{tx1}}\right) \times \left(\frac{V}{t_{x2} - t_{x1}}\right)$$

C_{tx1}= Ausgangskonzentration zum Zeitpunkt $_{x1}$ der Standardversuchsreihe [%].

V = Volumen [ml].

t_{x1} = Zeitpunkt $_{x1}$ [min].

t_{x2} = Zeitpunkt $_{X2}$ [min].

C_{Ftx2}= Konzentration zum Zeitpunkt $_{x2}$ der Standardversuchsreihe mit Abzug der zu diesem Zeitpunkt schon zugeführten Nachdosierungsmenge [%]. Hierzu wurde folgende Formel entwickelt:

$$C_{Ftx2} = C_{tx2} - C_{Leerversuch\,tx2} + C_{Leerversuch\,tx1}$$

C_{tx2} = Konzentration zum Zeitpunkt $_{x2}$ der Standardversuchsreihe [%].

$C_{Leerversuch\ tx2}$= Konzentration zum Zeitpunkt $_{x2}$ der Leerversuchsreihe [%].

$C_{Leerversuch\ tx1}$= Konzentration zum Zeitpunkt $_{x1}$ der Leerversuchsreihe [%].

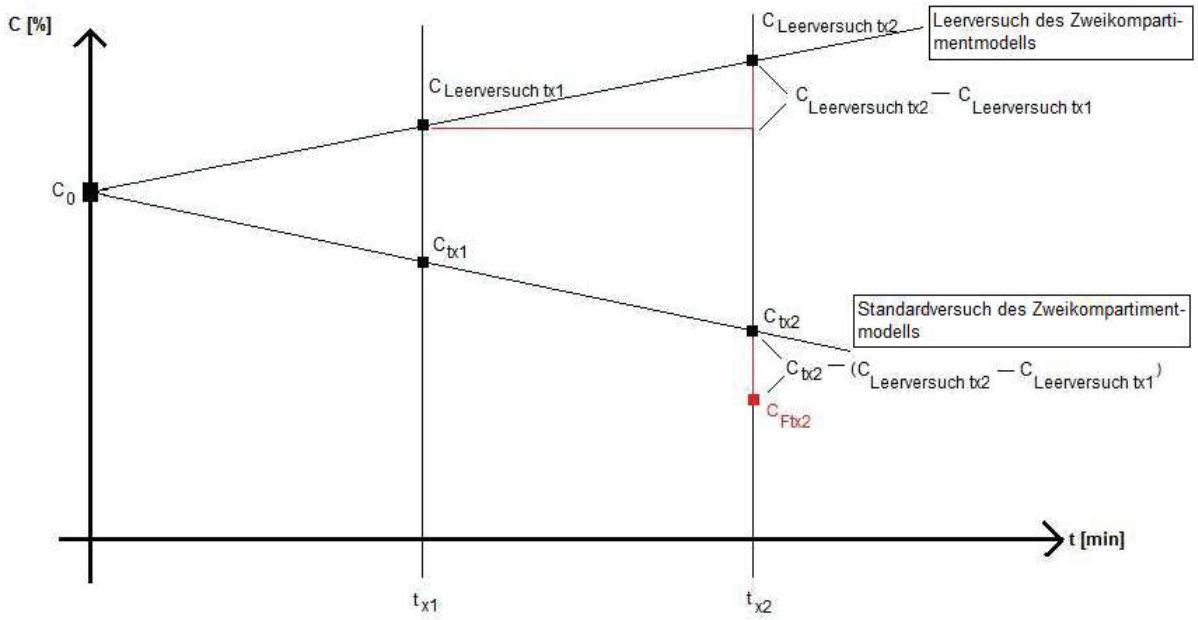

Abb. 7: Stilisierte Darstellung der Konzentrationsverläufe des Zweikompartimentmodells im Standard- und Leerversuch mit in den Formeln verwendeten Konzentrations- und Zeitpunkten zur Berechnung der kumulativen Clearance.

3 Ergebnisse

3.1 Das Zweikompartimentmodell: Standard- vs. Leerversuch

3.1.1 Kreatinin im Standard- und Leerversuch

Im Vergleich der Kreatininkonzentrationen des Plasmaeingangs, bezogen auf 100% des Ausgangswertes, zeigten sich signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den beiden Versuchsreihen. Dabei lieferte der Leerversuch einen stetig steilen Anstieg der Kreatininkonzentrationen. Im Gegensatz dazu erfolgte im Standardversuch zunächst ein Abfall der Konzentrationswerte auf 70,89% nach 1 h. Danach war ein flacher Anstieg auf Werte bis zu 95,31% nach 6 h ersichtlich (Abb. 8, Anhang Tabelle A1).

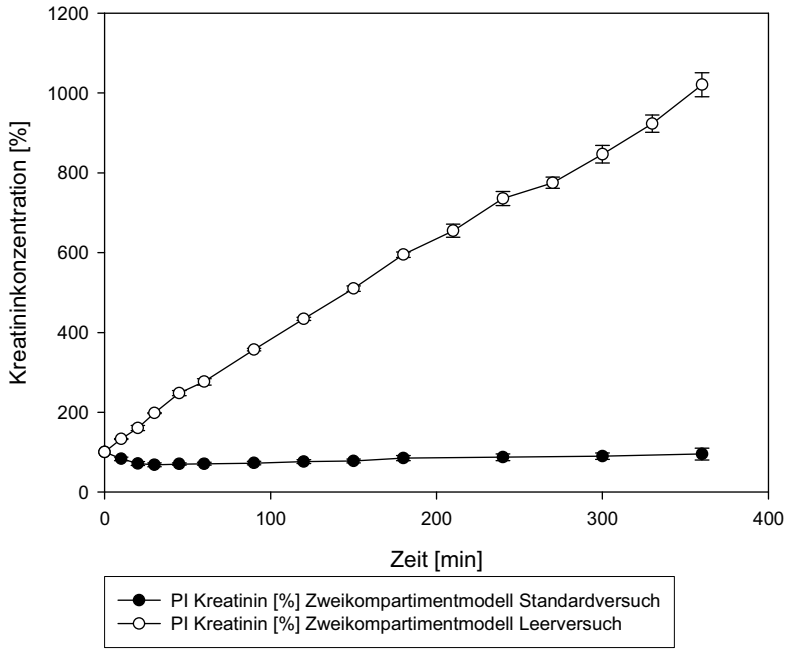

Abb. 8: Kreatininkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartimentmodells im Standard- und Leerversuch über die Zeit von 6 h. Ohne Nachschaltung des Leberunterstützungsverfahrens stiegen die Werte gegenüber dem Standardversuch signifikant immer weiter an.

Für die Standardversuchsreihe wurde die Clearance über zwei verschiedene Verfahren errechnet. Dabei fanden sich in den Zeiträumen (mit Ausnahme zwischen 30 und 60 min) signifikant kleinere Werte der kumulativen Clearance des Plasmaeingangs (PI) gegenüber der Momentanclearance über dem MARSflux (PIPO) (Tabelle 4, Abb. 9).

Zeit [min]	CL $_{kumulativ}$ über dem Plasmaeingang	± SA	CL $_{momentan}$ über dem MARSflux	± SA	Signifikanz
0-30	43,14	± 1,76	102,28	± 14,05	p < 0,05
30-60	100,36	± 5,66	98,45	± 4,32	n.s.
60-120	84,33	± 6,18	91,61	± 4,35	p < 0,05
120-360	50,75	± 3,83	82,81	± 5,57	p < 0,05

Tabelle 4: Die kumulative Clearance über dem Plasmaeingang (PI) und die Momentanclearance über dem MARSflux (PIPO) für Kreatinin in ml/min der Standardversuchsreihe zu den angegebenen Zeitabschnitten.

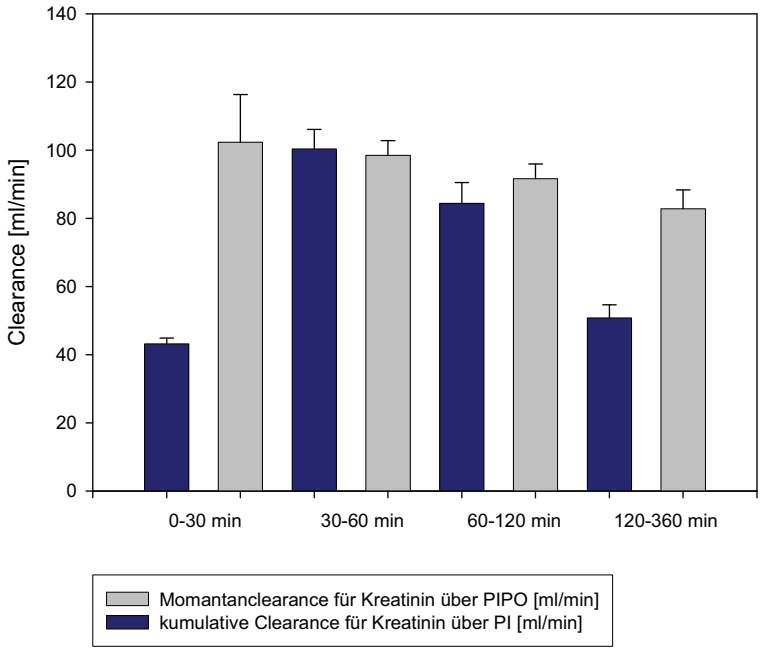

Abb. 9: Vergleich der kumulativen Clearance über dem Plasmaeingang (PI) und der Momentanclearance über dem MARSflux (PIPO) für Kreatinin. Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen. Außer in der Zeit von 30-60 min fanden sich in den gewählten Zeitabschnitten signifikant höhere Werte der Momentanclearance als bei der kumulativen Clearance.

3.1.2 Ammoniak im Standard- und Leerversuch

Die Ammoniakkonzentrationen des Plasmaeingangs, bezogen auf 100% des Ausgangswertes, im Standardversuch lagen signifikant unter denen des Leerversuchs (p < 0,05). Im Leerversuch erfolgte ein steiler Anstieg der Konzentrationswerte (944,86% nach 6 h). Im Standardversuch war der Anstieg dagegen flacher (121,77% nach 6 h) (Abb. 10, Anhang Tabelle A2).

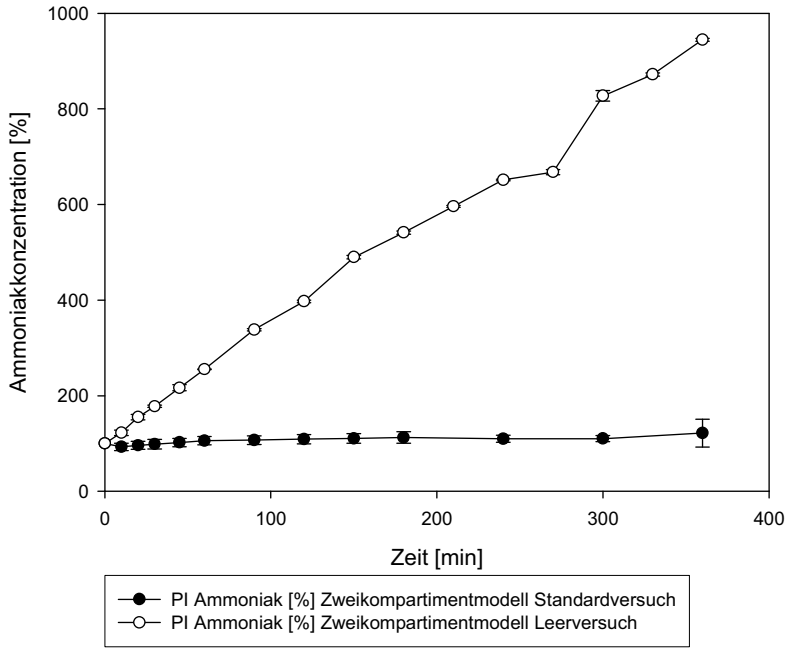

Abb. 10: Ammoniakkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartimentmodells im Standard- und Leerversuch über die Zeit von 6 h. Die Konzentrationen des Standardversuchs lagen signifikant unter denen des Leerversuchs.

Für Ammoniak wurde sowohl die kumulative Clearance als auch die Momentanclearance ermittelt. Hierbei zeigten sich in den meisten Zeitabschnitten signifikante Unterschiede ($p < 0,05$). In den ersten 30 min war die kumulative Clearance kleiner als die Momentanclearance. Während die Werte der Momentanclearance in der nachfolgenden Zeit zwischen 39,88 ml/min und 44,41 ml/min schwankten, zeigten sich zwischen 30 und 120 min bei der kumulativen Clearance signifikant höhere Werte (Tabelle 5, Abb. 11).

Zeit [min]	$CL_{kumulativ}$ über dem Plasmaeingang	± SA	$CL_{momentan}$ über dem MARSflux	± SA	Signifikanz
0-30	26,34	± 3,60	44,41	± 11,70	$p < 0,05$
30-60	67,34	± 8,43	40,33	± 7,16	$p < 0,05$
60-120	60,95	± 8,33	39,88	± 8,97	$p < 0,05$
120-360	40,96	± 4,56	41,04	± 9,21	n.s.

Tabelle 5: Kumulative Clearance und Momentanclearance für Ammoniak in ml/min der Standardversuchsreihe zu den angegebenen Zeitabschnitten.

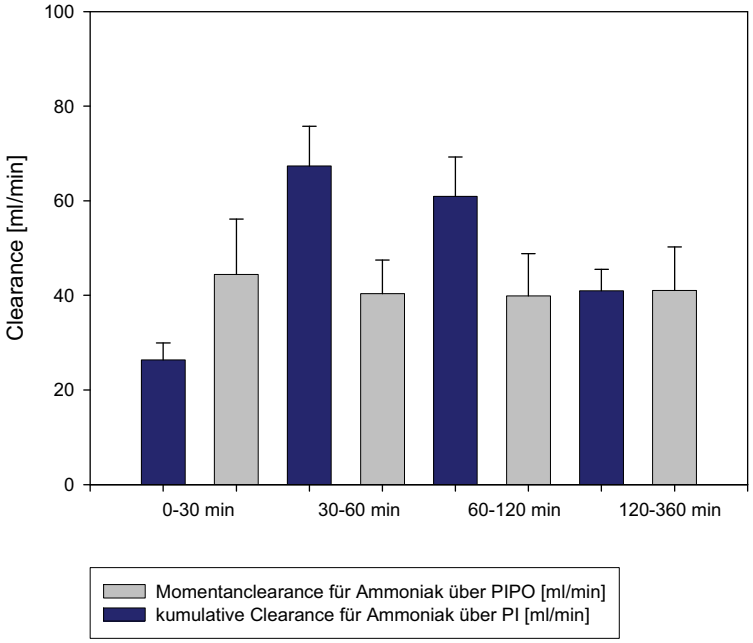

Abb. 11: Vergleich der kumulativen Clearance und der Momentanclearance für Ammoniak. Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen. In den Zeitabschnitten 30-60 min und 60-120 min waren die Werte der kumulativen Clearance signifikant höher als die der Momentanclearance.

3.1.3 Harnstoff im Standard- und Leerversuch

Die Harnstoffkonzentrationen in %, bezogen auf 100% des Ausgangswertes, der Standardversuchsreihe zeigten im Plasmaeingang signifikant kleinere Werte als die Konzentrationen der Leerversuchsreihe (Abb. 12, Anhang Tabelle A3).

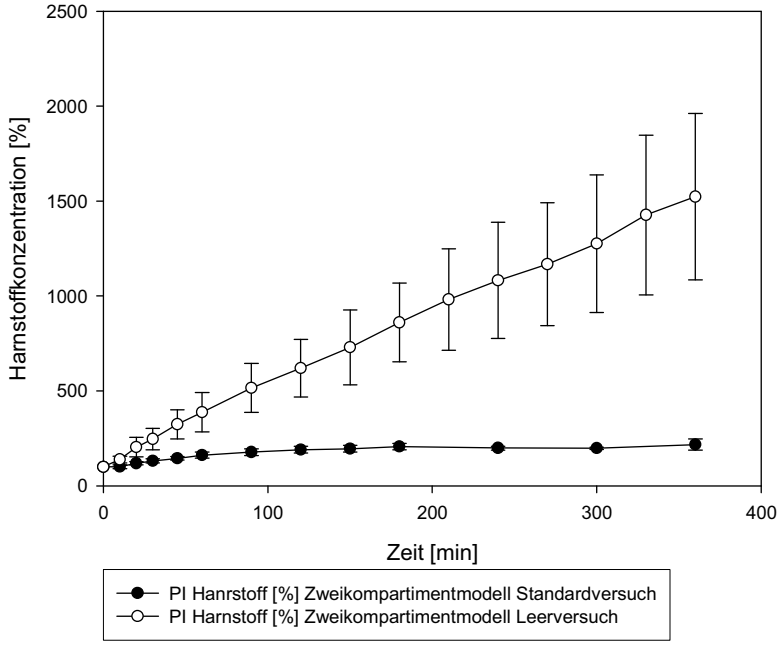

Abb. 12: Harnstoffkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartimentmodells im Standard- und Leerversuch über die Zeit von 6 h. Die Harnstoffkonzentrationen des Standardversuchs waren signifikant kleiner als die Werte des Leerversuchs. In beiden Versuchsreihen stiegen die Harnstoffkonzentrationen kontinuierlich an. Dabei verlief die Kurve des Leerversuchs steiler als die des Standardversuchs.

Die Harnstoffkonzentration der Standardversuchsreihe war nach 6 h auf 217,46% angestiegen. Die Konzentration der Leerversuchsreihe lag zu diesem Zeitpunkt bei 1523,09%.

Die kumulative Clearance des Plasmaeingangs wurde mit der Momentanclearance über dem MARSflux verglichen. In den ersten 30 min und zwischen 2 und 6 h lieferte die Momentanclearance signifikant höhere Werte als die kumulative Clearance (Tabelle 6, Abb. 13).

Zeit [min]	$CL_{kumulativ}$ über dem Plasmaeingang	± SA	$CL_{momentan}$ über dem MARSflux	± SA	Signifikanz
0-30	38,30	± 19,67	83,80	± 14,00	p < 0,05
30-60	57,85	± 26,56	60,60	± 10,69	n.s.
60-120	44,41	± 15,01	49,04	± 5,18	n.s.
120-360	28,43	± 8,35	47,44	± 6,68	p < 0,05

Tabelle 6: Kumulative Clearance und Momentanclearance für Harnstoff in ml/min der Standardversuchsreihe zu den angegebenen Zeitabschnitten.

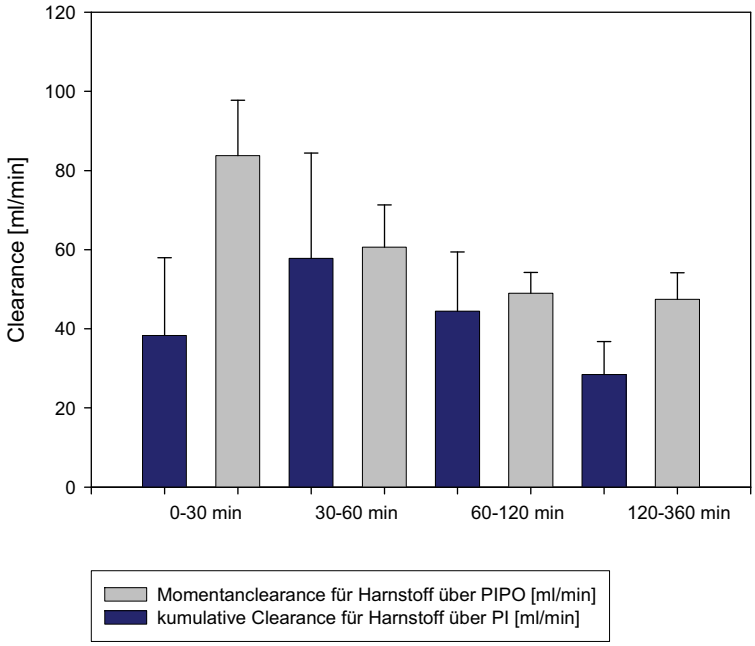

Abb. 13: Vergleich der kumulativen Clearance und der Momentanclearance für Harnstoff. Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen.

3.1.4 Gallensäure im Standard- und Leerversuch

Die Gallensäurekonzentrationen in %, bezogen auf 100% des Ausgangswertes, der Standardversuchsreihe waren im Plasmaeingang signifikant kleiner als die der Leerversuchsreihen. Mit Nachschaltung des MARS-Verfahrens fiel die Gallensäurekonzentration nach 6 h auf 23,28% ab. Ohne Verwendung eines Leberersatz-

verfahrens kam es zum Anstieg der Konzentrationen im Patientenkreislauf auf 117,74% nach 6 h (Abb. 14, Anhang Tabelle A4).

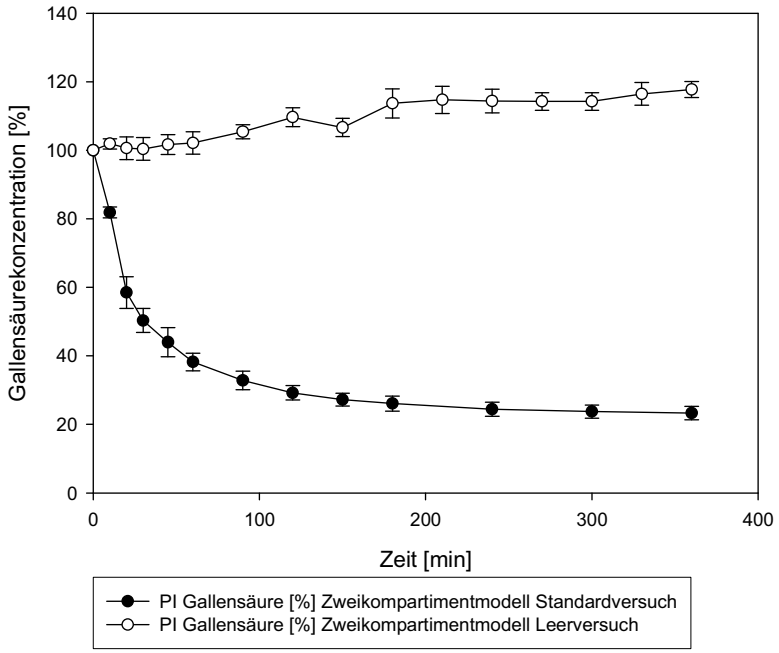

Abb. 14: Gallensäurekonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartimentmodells im Standard- und Leerversuch über die Zeit von 6 h. Die Gallensäurekonzentrationen der Leerversuchsreihe waren signifikant höher als die Werte der Standardversuchsreihe.

Die kumulative Clearance des Plasmaeingangs wurde mit der Momentanclearance über dem MARSflux verglichen. Dabei lagen die Werte der kumulativen Clearance nach den ersten 30 min signifikant höher als die Werte der Momentanclearance (Tabelle 7, Abb. 15).

Zeit [min]	$CL_{kumulativ}$ über dem Plasmaeingang	± SA	$CL_{momentan}$ über dem MARSflux	± SA	Signifikanz
0-30	16,69	± 0,93	18,06	± 2,81	n.s.
30-60	42,50	± 2,68	12,05	± 3,58	$p < 0,05$
60-120	35,21	± 2,21	9,58	± 2,59	$p < 0,05$
120-360	13,53	± 1,00	5,3	± 4,29	$p < 0,05$

Tabelle 7: Kumulative Clearance und Momentanclearance für Gallensäure der Standardversuchsreihe zu den angegebenen Zeitabschnitten. Nach 30 min waren signifikante Unterschiede zwischen den beiden unterschiedlichen Clearancearten sichtbar.

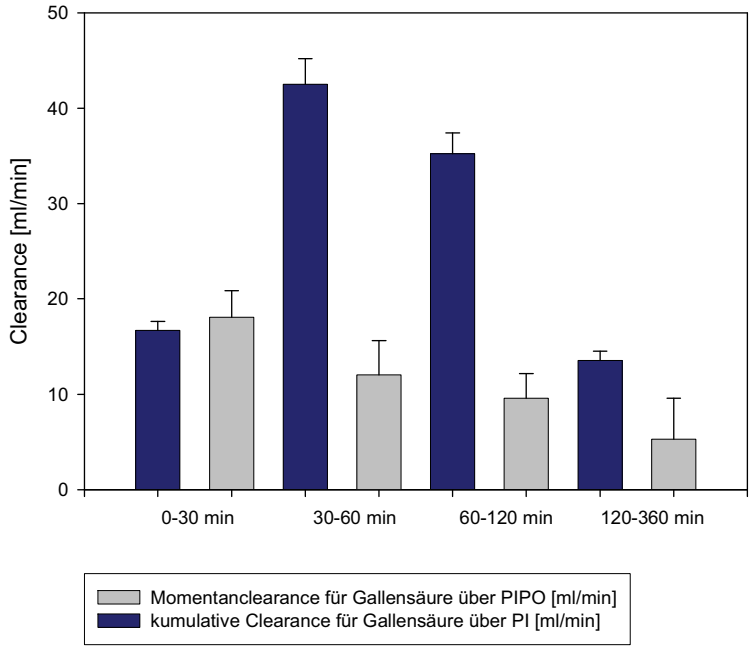

Abb. 15: Vergleich der kumulativen Clearance und der Momentanclearance für Gallensäure. Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen.

3.1.5 Bilirubin im Standard- und Leerversuch

Die Konzentrationen in %, bezogen auf 100% des Ausgangswertes, von unkonjugiertem Bilirubin lagen im Standardversuch signifikant unter denen des Leerversuchs. Über die Zeit erfolgte eine Abnahme der Bilirubinkonzentrationen in der Standardversuchsreihe auf 64,22% nach 6 h (Abb. 16, Anhang Tabelle A5).

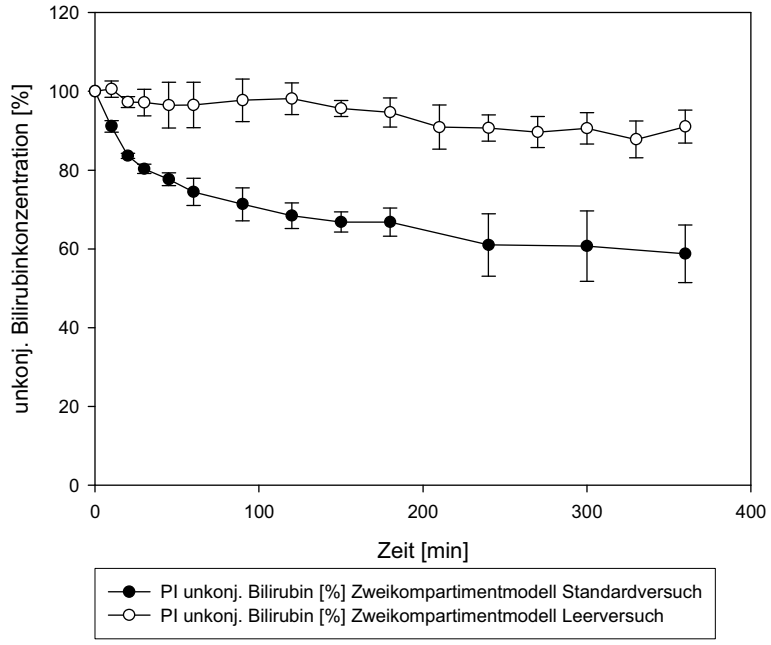

Abb. 16: Unkonjugierte Bilirubinkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartimentmodells im Standard- und Leerversuch über die Zeit von 6 h.

Die kumulative Clearance über dem Plasmaeingang wurde mit der Momentanclearance über dem MARSflux verglichen. Dabei lag die kumulative Clearance in den Zeitabschnitten zwischen 30 und 120 min signifikant über der Momentanclearance (Tabelle 8, Abb. 17).

Zeit [min]	$CL_{kumulativ}$ über dem Plasmaeingang	± SA	$CL_{momentan}$ über dem MARSflux	± SA	Signifikanz
0-30	5,62	± 1,22	7,79	± 5,11	n.s.
30-60	9,13	± 3,43	-0,25	± 4,40	$p < 0,05$
60-120	6,70	± 1,86	-1,78	± 2,85	$p < 0,05$
120-360	1,98	± 0,53	-3,53	± 5,26	n.s.

Tabelle 8: Kumulative Clearance und Momentanclearance für unkonjugiertes Bilirubin der Standardversuchsreihe zu den angegebenen Zeitabschnitten.

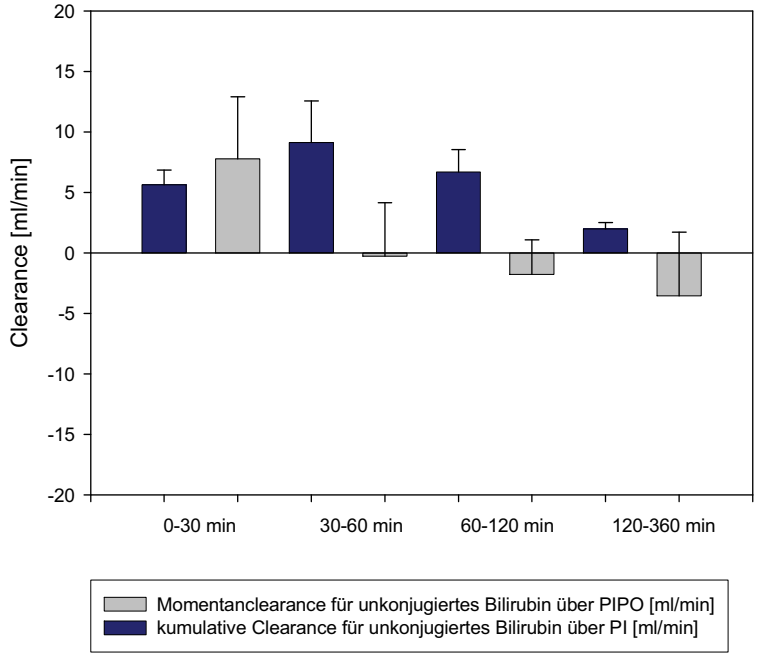

Abb. 17: Vergleich der kumulativen Clearance und der Momentanclearance für unkonjugiertes Bilirubin. Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen.

3.1.6 Bromosulfophthalein (BSP) im Standard- und Leerversuch

Die BSP-Konzentrationen in %, bezogen auf 100% des Ausgangswertes, im Standardversuch waren signifikant kleiner als die Konzentrationen im Leerversuch. Während die BSP-Konzentrationen im Plasmaeingang im Leerversuch auf 128,14% nach 6 h anstiegen, kam es im Standardversuch zu einem Konzentrationsabfall auf 50,14% nach 6 h (Abb. 18, Anhang Tabelle A6).

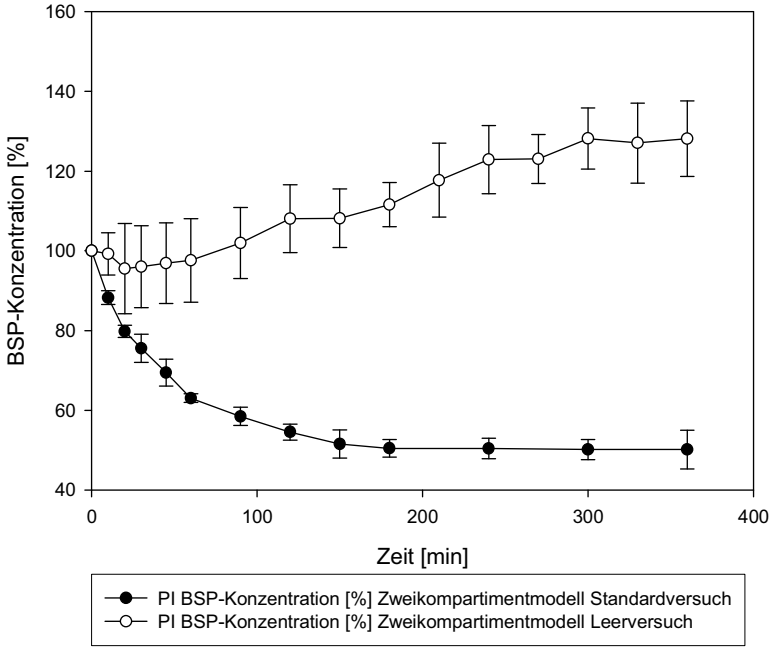

Abb. 18: BSP-Konzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartimentmodells im Standard- und Leerversuch über die Zeit von 6 h. Während die Konzentrationswerte der Leerversuche über den Zeitraum anstiegen, kam es mit Nachschaltung des MARS-Verfahrens zum Abfall der Konzentrationen.

Der Vergleich der kumulativen Clearance über dem Plasmaeingang und der Momentanclearance über dem MARSflux zeigte keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 9, Abb. 19).

Zeit [min]	$CL_{kumulativ}$ über dem Plasmaeingang	± SA	$CL_{momentan}$ über dem MARSflux	± SA	Signifikanz
0-30	6,82	± 2,32	10,96	± 3,38	n.s.
30-60	15,13	± 3,47	8,69	± 4,73	n.s.
60-120	14,14	± 1,61	13,80	± 14,28	n.s.
120-360	5,95	± 0,47	5,38	± 14,38	n.s.

Tabelle 9: Kumulative Clearance und Momentanclearance für BSP der Standardversuchsreihe zu den angegebenen Zeitabschnitten.

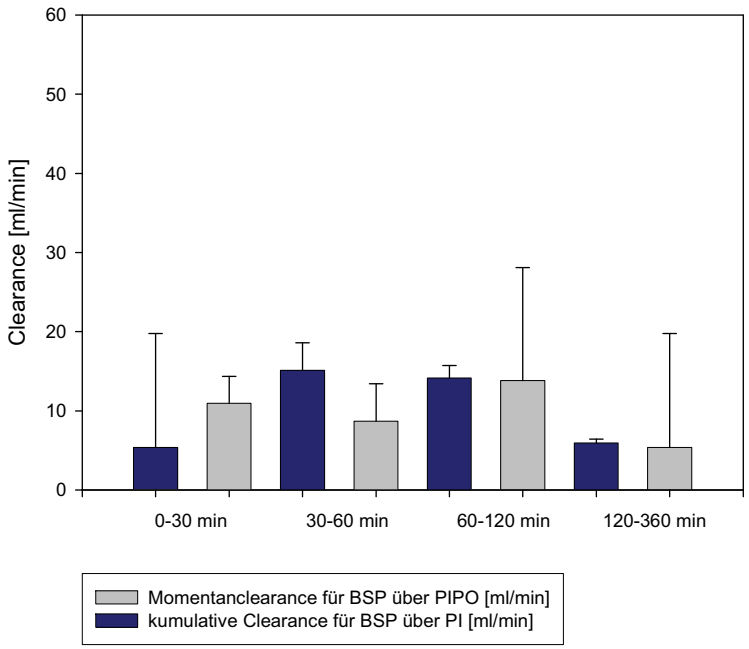

Abb. 19: Vergleich der kumulativen Clearance und der Momentanclearance für BSP. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

3.2 Gegenüberstellung von Ein- und Zweikompartimentmodell

3.2.1 Kreatinin im Ein- und Zweikompartimentmodell

3.2.1.1 Vergleich der Kreatininclearance über dem MARSflux (PIPO) im Ein- und Zweikompartimentmodell

Es bestanden im gesamten Verlauf signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Kreatininkonzentrationen des Ein- und Zweikompartimentmodells beim Plasmaeingang (PI) (Abb. 20, Anhang Tabelle A7). Die Kreatininkonzentrationen im Einkompartimentmodell erreichten nach ca. 2 h den Nullpunkt. Somit war ab diesem Zeitpunkt eine Berechnung der Clearanceraten des Einkompartimentmodells nicht mehr möglich (Abb. 22). Im Zweikompartimentmodell zeigten sich, nach anfänglichem Abfall der Kreatininkonzentrationen im Plasmaeingang, schon nach ca. 30 min ansteigende Konzentrationswerte. Nach 6 h wurde im 24-h-Verlauf eine “Steady State“-Tendenz ersichtlich (Abb. 21). Die Werte pendelten zwischen 86,10% und 98,55%. Die Clearanceraten für Kreatinin fielen im neuen Modell von 107 ml/min bei 0 min auf 77 ml/min nach 6 h und 75 ml/min nach 24 h (Abb. 23).

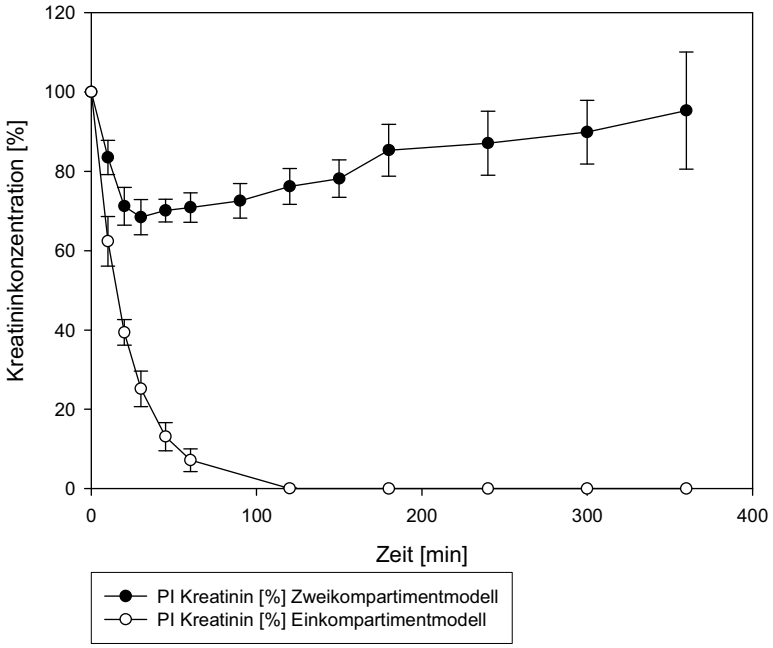

Abb. 20: Kreatininkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h. Im Einkompartimentmodell waren die Konzentrationswerte schon nach 2 h auf 0% gefallen.

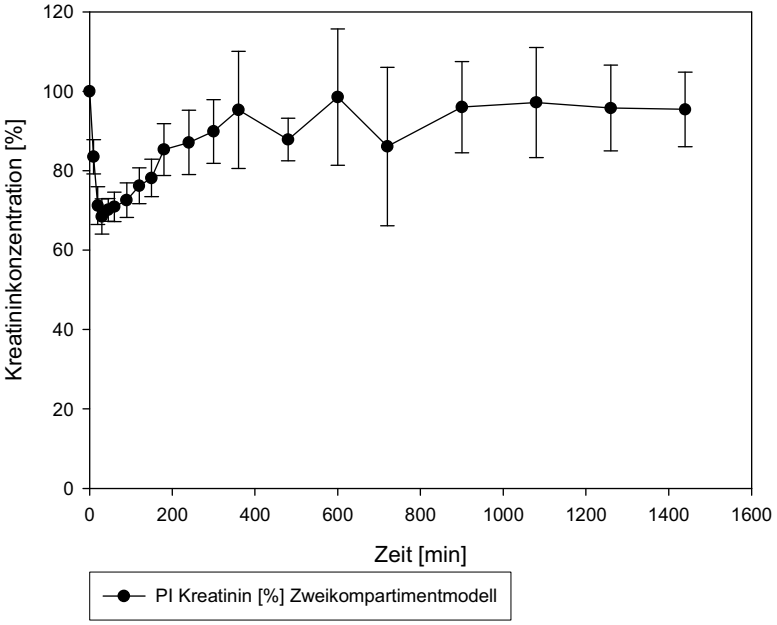

Abb. 21: Kreatininkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h (Zahlenwerte zum Diagramm siehe Anhang Tabelle A9).

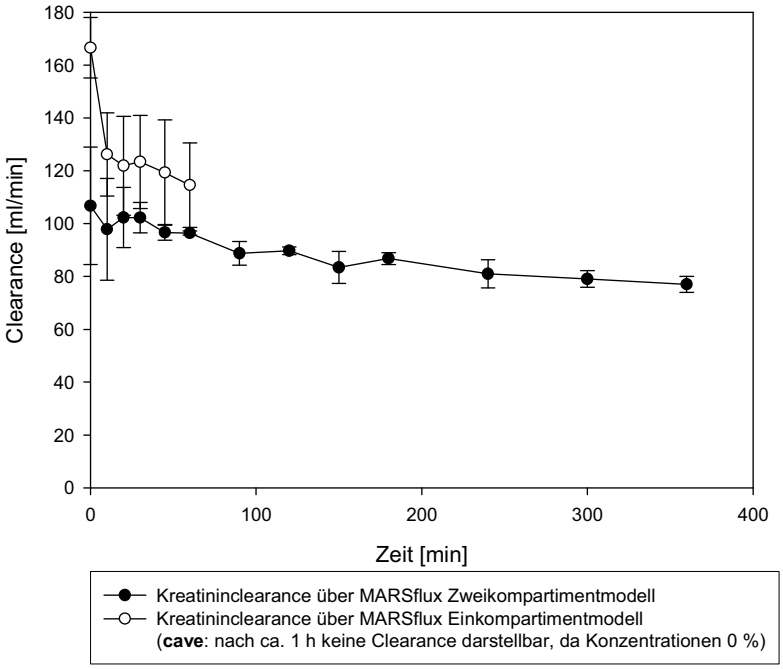

Abb. 22: Kreatininclearance über dem MARSflux im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h. Unterschiede in den Clearancedarstellungen (gepaarter t-Test $p < 0,05$) während der 1. Stunde ergaben sich aus unterschiedlichen Dialysatflussraten. Nach ca. 1 h konnten mit dem Einkompartimentmodell keine Clearancewerte mehr errechnet werden, da die Konzentrationen 0% betrugen (Zahlenwerte zum Diagramm siehe Anhang Tabelle A8).

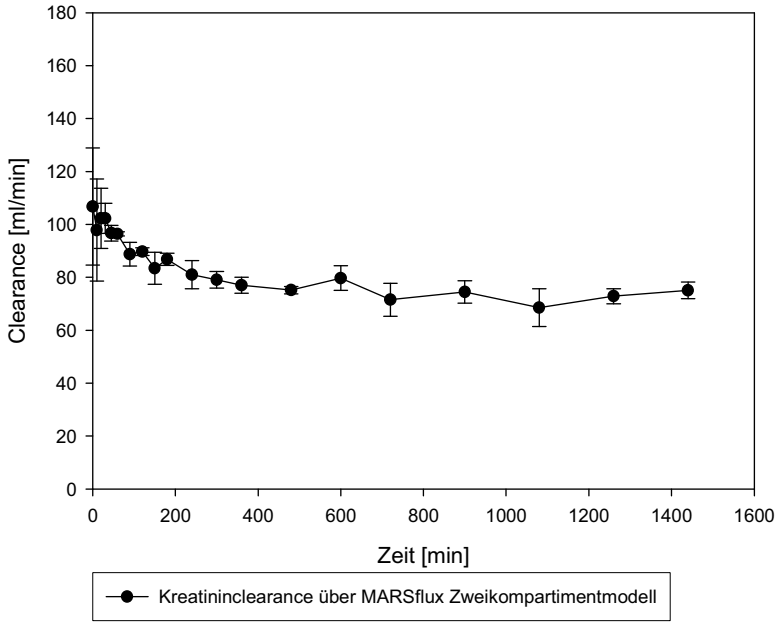

Abb. 23: Kreatininclearance über dem MARSflux im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h (Zahlenwerte zum Diagramm siehe Anhang Tabelle A9).

3.2.1.2 Vergleich der Kreatininclearance über dem Diaflux (M1M2) im Ein- und Zweikompartimentmodell

Die Konzentrationswerte im Ein- und Zweikompartimentmodell vor dem Diaflux (M1) zeigten signifikante Unterschiede. Im Einkompartimentmodell kam es zu einem Abfall der Kreatininkonzentrationen gegen 0% nach 2 h. Hierzu entgegengesetzt erfolgte im Zweikompartimentmodell, nach anfänglichem Abfall der Werte, ein Anstieg der Konzentrationen über die Zeit von 6 h (Abb. 24, Anhang Tabelle A10). Erst zum Ende der 24-h-Versuchsreihen ist ein Erreichen eines gleichbleibenden Konzentrationslevels ersichtlich (Abb. 25). Die Werte lagen ab der 15. Stunde zwischen 137,46% und 147,52%.

Die Kreatininclearance über dem Diaflux im Einkompartimentmodell war aufgrund der vollständigen Entfernung des einmal zugeführten Kreatinins aus dem System lediglich innerhalb der 1. Stunde berechenbar (Abb. 26, Anhang Tabelle A11). Im Zweikompartimentmodell schwankten die Clearancewerte um 50 ml/min. Auch im Verlauf über 24 h zeigten sich stabile Clearancewerte zwischen 43,11 ml/min und 51,89 ml/min (Abb. 27).

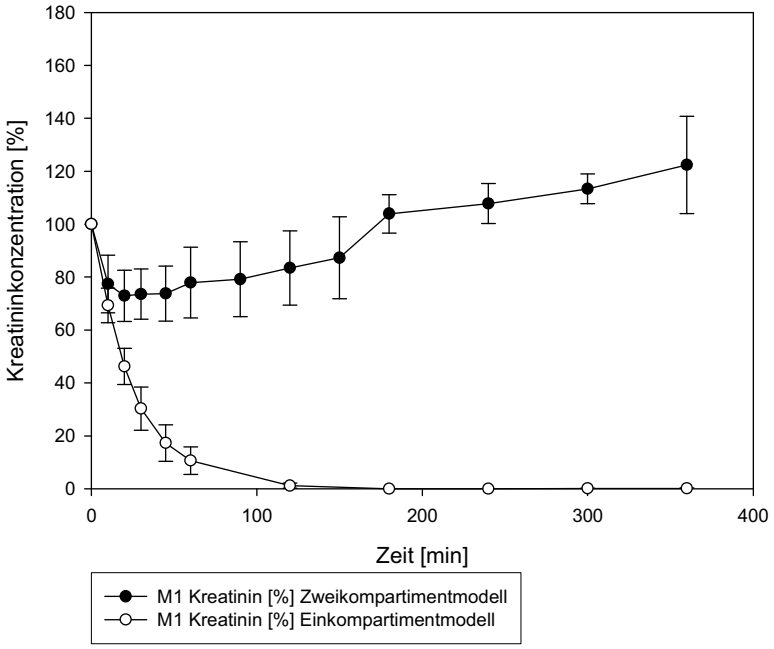

Abb. 24: Kreatininkonzentrationen [%] vor dem Diaflux (M1) im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h. Die Kreatininkonzentrationen des Einkompartimentmodells gingen innerhalb von 2 h gegen 0 %.

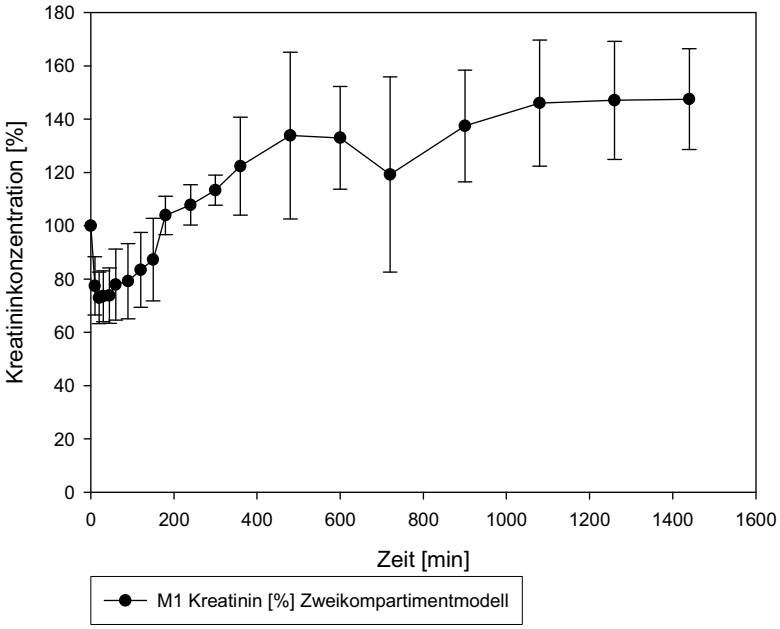

Abb. 25: Kreatininkonzentrationen [%] vor dem Diaflux (M1) im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h (Zahlenwerte zum Diagramm siehe Anhang Tabelle A12).

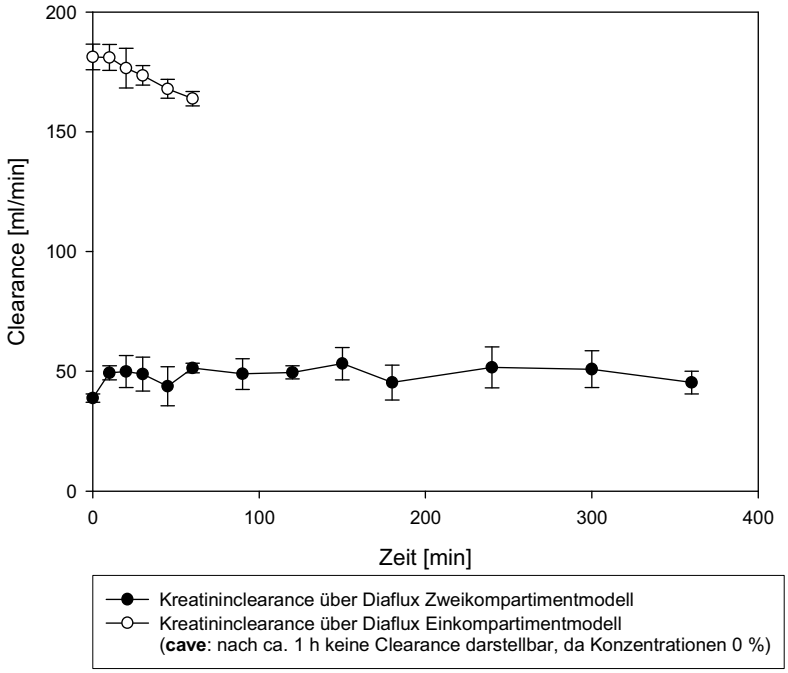

Abb. 26: Kreatininclearance über dem Diaflux im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h. Unterschiede in den Clearancedarstellungen (gepaarter t-Test $p < 0,05$) während der 1. Stunde ergaben sich aus unterschiedlichen Dialysatflussraten. Nach ca. 1 h konnten mit dem Einkompartimentmodell keine Clearanceberechnungen vollzogen werden, da die Konzentrationen 0 % betrugen.

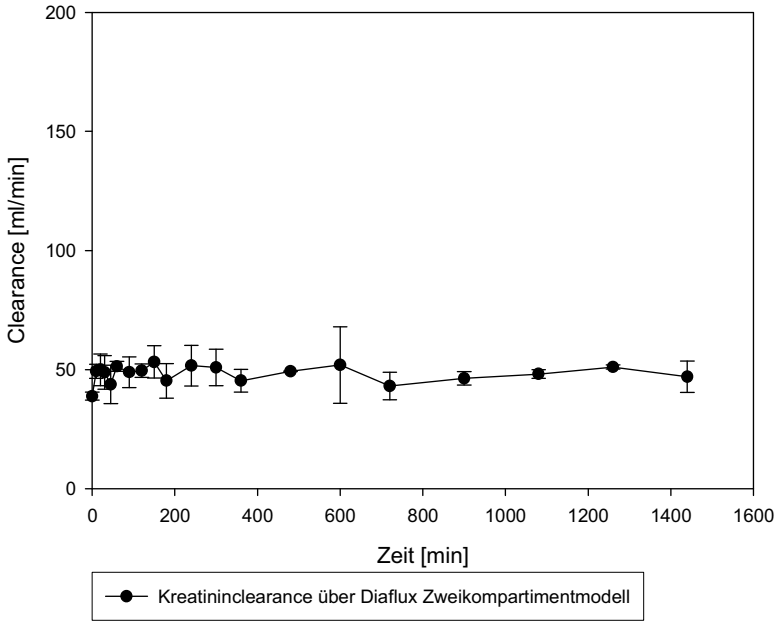

Abb. 27: Kreatininclearance über dem Diaflux im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h (Zahlenwerte zum Diagramm siehe Anhang Tabelle A12).

3.2.1.3 Vergleich der Kreatininclearance über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) im Ein- und Zweikompartimentmodell

Kreatinin wurde auch über den Aktivkohleadsorber im MARS-System eliminiert. Im Gegensatz zum Einkompartimentmodell, bei dem die Konzentration nach ca. 2 h gegen 0% fiel, kam es beim Zweikompartimentmodell, nach anfänglichem Abfall der Werte, nach 45 min zu einem kontinuierlichen Anstieg der Konzentrationen auf 115,11% nach 6 h (Abb. 28, Anhang Tabelle A13). Im 24-h-Verlauf lagen die Werte vor dem Aktivkohleadsorber ab der 18. Stunde zwischen 134,02% und 138,49% (Abb. 29).

Es fanden sich signifikante Unterschiede in den Clearanceraten zwischen Ein- und Zweikompartimentmodell. Nach ca. 1 h waren im alten Einkompartimentmodell keine Clearanceberechnungen mehr möglich, da die Konzentrationen des Kreatinins gegen 0% gingen. Das Zweikompartimentmodell erlaubte eine längerfristige Beobachtung der Kreatininclearance über dem Aktivkohleadsorber (Abb. 30, Anhang Tabelle A14). Hierbei wurde eine Abnahme der Clearancewerte über die Zeit von 24 h von 116,26 ml/min bei 0 min auf 39,14 ml/min nach 6 h und 30,36 ml/min nach 24 h beobachtet (Abb. 31).

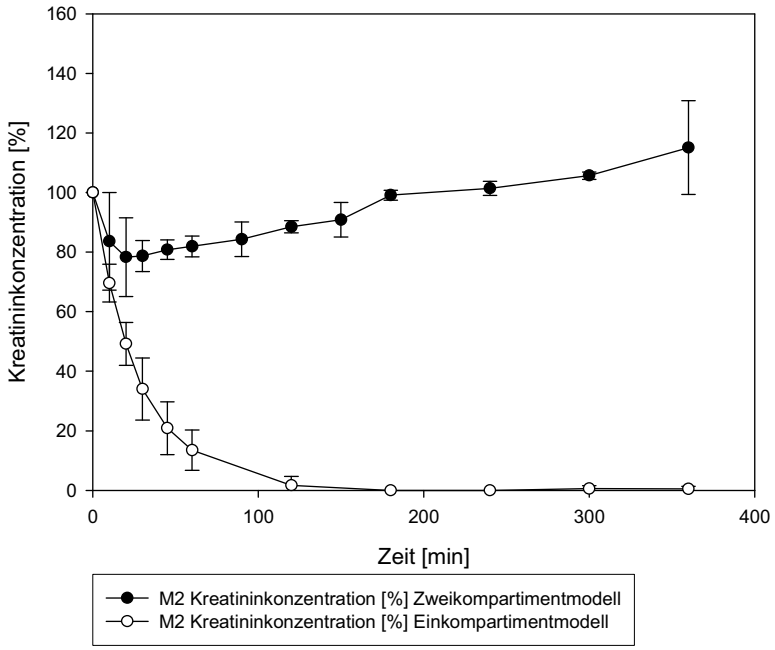

Abb. 28: Kreatininkonzentrationen [%] vor dem Aktivkohleadsorber (M2) im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h.

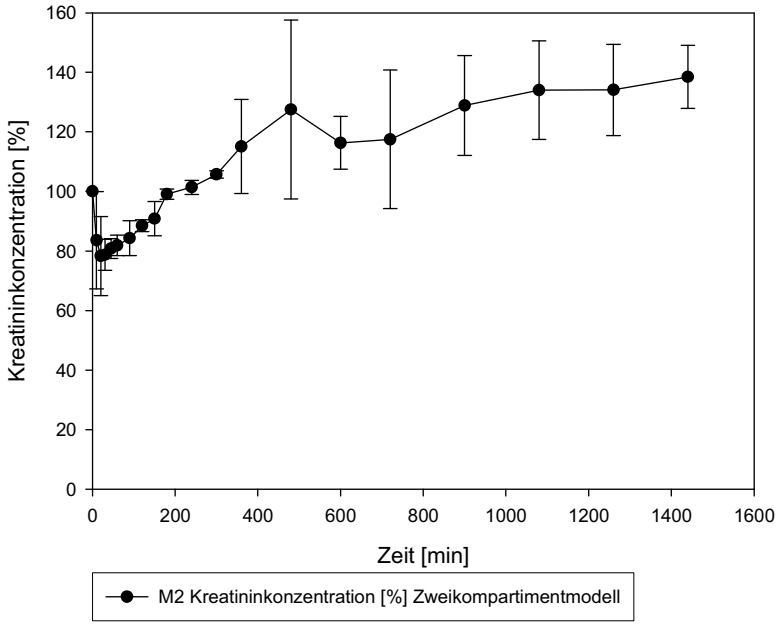

Abb. 29: Kreatininkonzentrationen [%] vor dem Aktivkohleadsorber (M2) im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h (Zahlenwerte zum Diagramm siehe Anhang Tabelle A15).

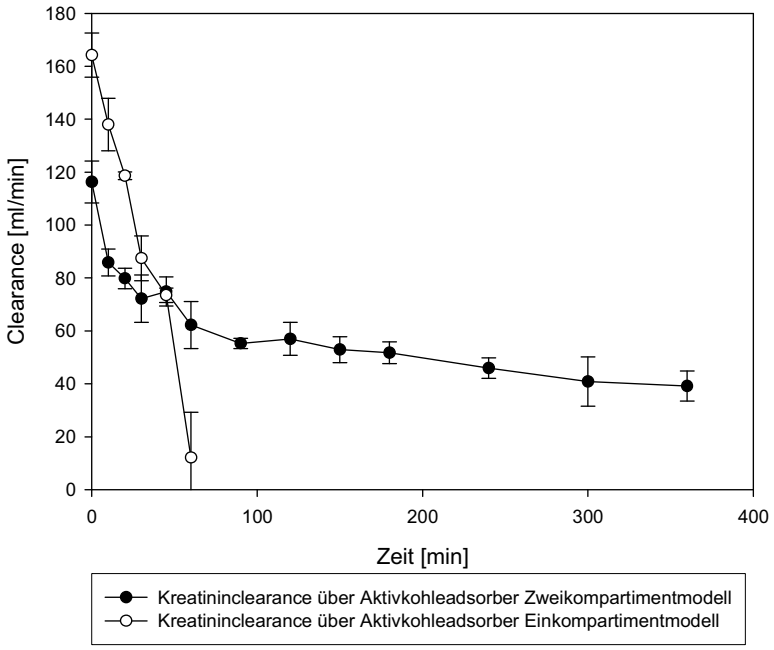

Abb. 30: Kreatininclearance über dem Aktivkohleadsorber im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h. Unterschiede in den Clearancedarstellungen während der 1. Stunde ergaben sich aus unterschiedlichen Dialysatflussraten. Nach ca. 1 h konnten mit dem Einkompartimentmodell keine Clearanceberechnungen vollzogen werden, da die Konzentrationen 0 % betrugen.

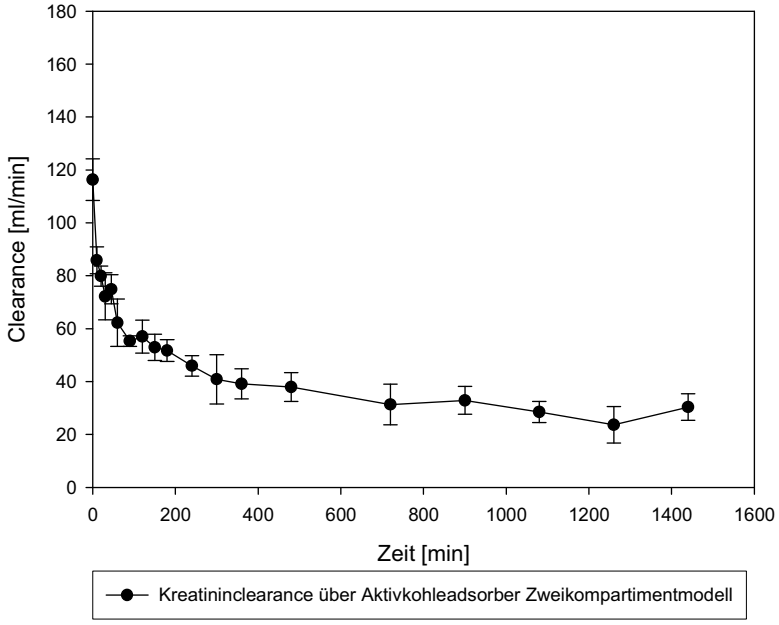

Abb. 31: Kreatininclearance über dem Aktivkohleadsorber im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h (Zahlenwerte zum Diagramm siehe Anhang Tabelle A15).

3.2.2 Bromosulfophthalein (BSP) im Ein- und Zweikompartimentmodell

3.2.2.1 Vergleich der BSP-Clearance über dem MARSflux (PIPO) im Ein- und Zweikompartimentmodell

Im Vergleich der BSP-Clearanceberechnungen über dem MARSflux fanden sich beim t-Test für unabhängige Stichproben keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Ein- und Zweikompartimentmodell. Beim gepaarten t-Test war der p-Wert < 0,05. Somit lagen tendenziell die Clearancewerte für BSP des Zweikompartimentmodells unter denen des Einkompartimentmodells (Abb. 32, Anhang Tabelle A16). Im 24-h-Verlauf war ein Abfall der Clearanceraten im Zweikompartimentmodell von 12,38 ml/min bei 0 min auf 3,06 ml/min nach 24 h zu verzeichnen (Abb. 33, Anhang Tabelle A17).

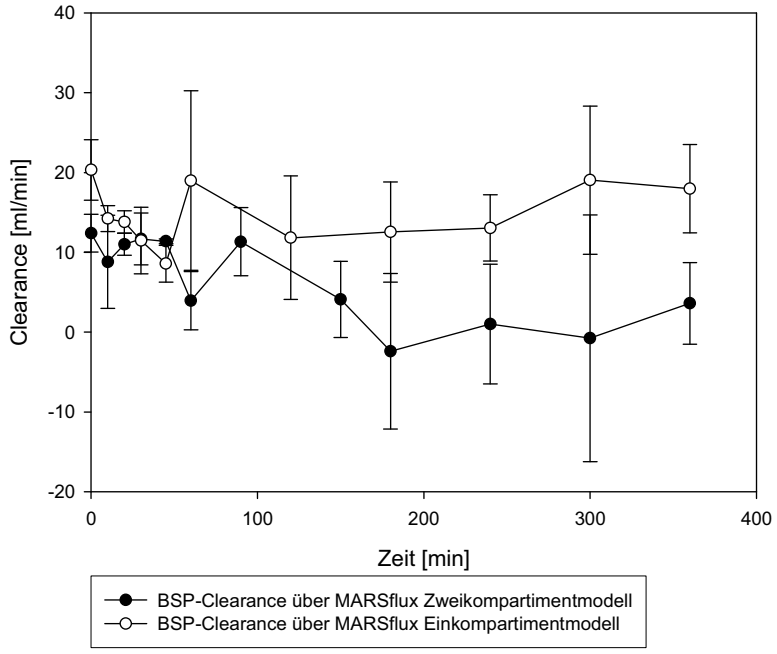

Abb. 32: BSP-Clearance über dem MARSflux (PIPO) im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h.

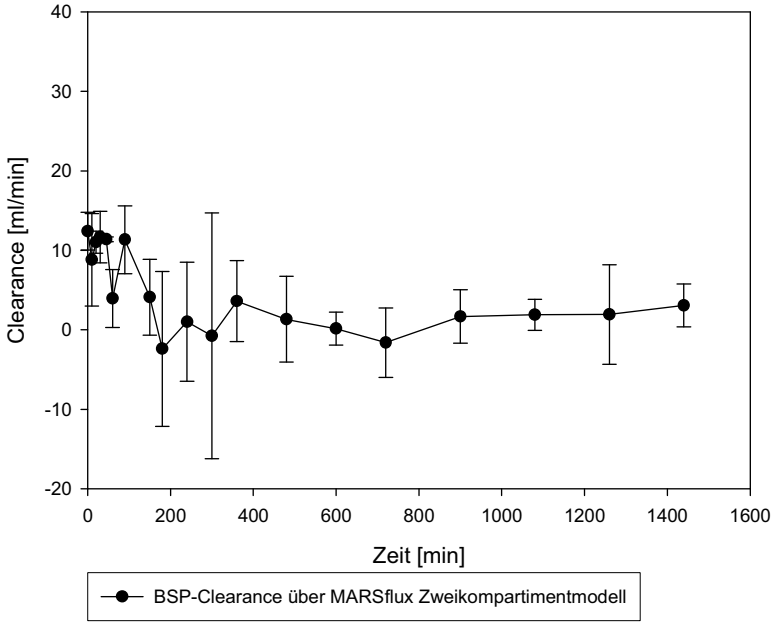

Abb. 33: BSP-Clearance über dem MARSflux im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h.

3.2.2.2 Vergleich der BSP-Clearance über dem Anionenaustauscher (M3 M4) im Ein- und Zweikompartimentmodell

Lediglich in den ersten 20 min ergaben sich aufgrund unterschiedlicher Dialysatflussraten signifikante Unterschiede der Clearancewerte für BSP über dem Anionenaustauscher im Ein- und Zweikompartimentmodell (Abb. 34, Anhang Tabelle A18). Im Zeitverlauf von 24 h erfolgte im Zweikompartimentmodell insbesondere in den letzten 12 h ein Anstieg der Clearancewerte von 107,07 ml/min bei 12 h auf 164,56 ml/min bei 24 h (Abb. 35, Anhang Tabelle A17)

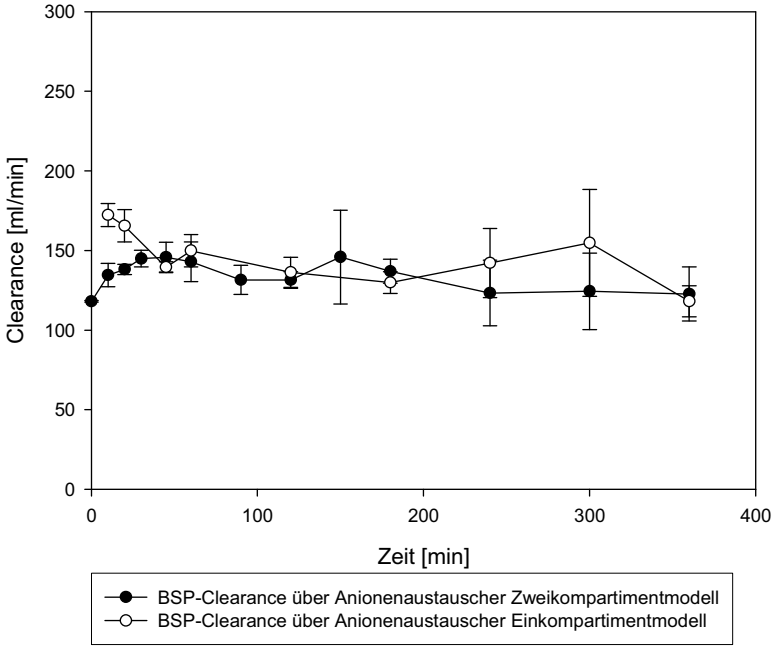

Abb. 34: Clearance über dem Anionenaustauscher (M3M4) im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h.

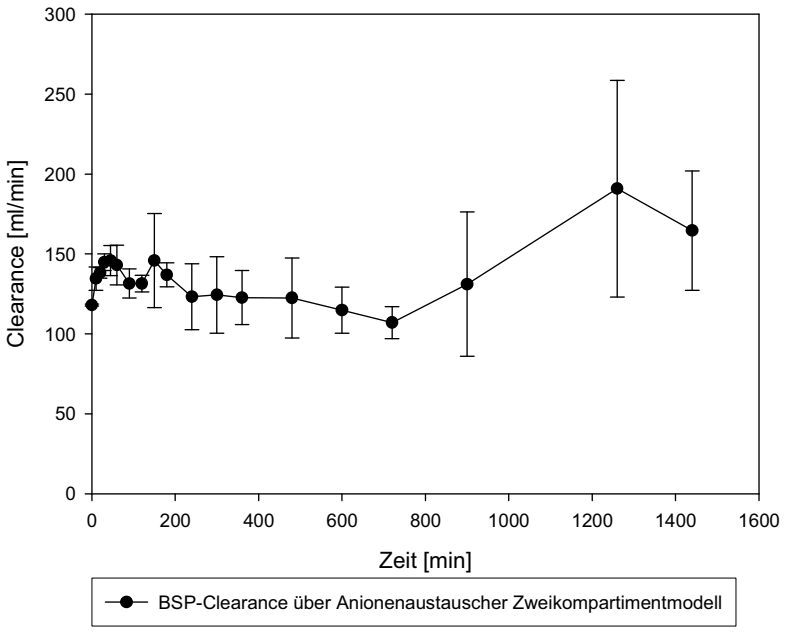

Abb. 35: BSP-Clearance über dem Anionenaustauscher im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h.

3.2.3 Gallensäure im Ein- und Zweikompartimentmodell

3.2.3.1 Vergleich der Gallensäureclearance über dem MARSflux (PIPO) im Ein- und Zweikompartimentmodell

Die Clearanceraten für Gallensäure nahmen im Einkompartimentmodell als auch im Zweikompartimentmodell über dem MARSflux mit der Zeit ab. Hierbei fand sich aufgrund unterschiedlicher Dialysatflussraten im Zeitraum zwischen 10 und 30 min ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im t-Test für unabhängige Stichproben zwischen den Clearancewerten der unterschiedlichen Modelle. Der gepaarte t-Test ergab einen p-Wert < 0,05. Insgesamt betrachtet zeigte sich die Tendenz, dass die Clearancewerte des Zweikompartimentmodells bis ca. 300 Minuten kleiner waren als die Clearancewerte des alten Einkompartimentmodells (Abb. 36, Anhang Tabelle A19).

Durch die kontinuierliche Zuführung von Gallensäuren über einen Infusomaten erlaubte das Zweikompartimentmodell eine längerfristige Beobachtung und Beurteilung der Clearanceverlaufsraten. Somit war eine Abnahme der Gallensäure-clearance über eine Zeit von 24 h ersichtlich. Hierbei näherten sich die Clearancewerte im Verlauf der Experimente dem Nullpunkt (Abb. 37, Anhang Tabelle A20).

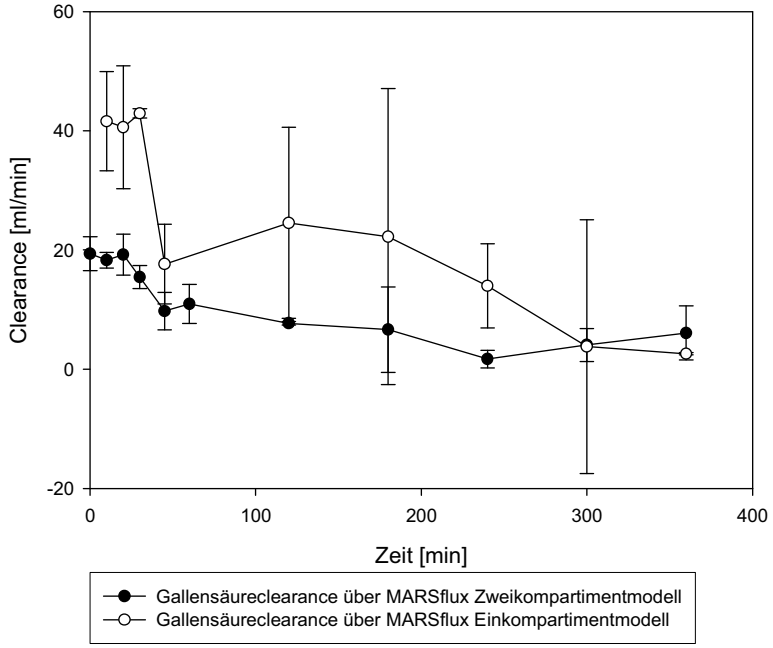

Abb. 36: Gallensäureclearance über dem MARSflux (PIPO) im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h.

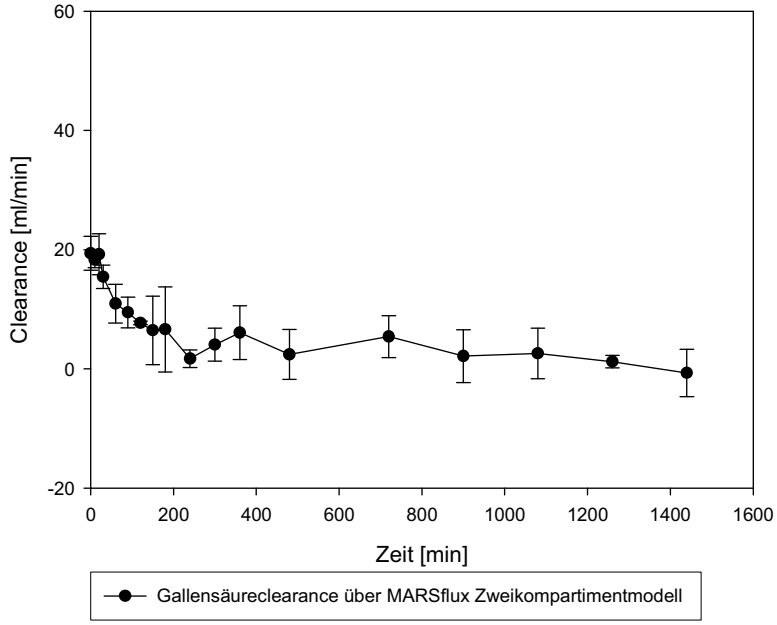

Abb. 37: Gallensäureclearance über dem MARSflux im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h.

3.2.3.2 Vergleich der Gallensäureclearance über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) im Ein- und Zweikompartimentmodell

Gallensäure wurde im MARS-System über den Aktivkohleadsorber entfernt. Für die dortigen Clearanceraten im Ein- und Zweikompartimentmodell ließen sich folgende Aussagen tätigen:

- Die Gallensäureclearance nahm trotz experimentell bedingter Schwankungen sowohl im Ein- als auch im Zweikompartimentmodell über eine Zeit von 6 h ab.
- Die Clearanceraten für Gallensäure des Zweikompartimentmodells lagen unter denen des Einkompartimentmodells. Hierfür fanden sich besonders im Zeitraum zwischen 1 und 5 h signifikante Unterschiede. Der gepaarte t-Test lieferte einen p-Wert > 0,05. Trotzdem ist die Tendenz für höhere Werte im alten Modell ersichtlich.
- Im Einkompartimentmodell erfolgte zunächst eine Zunahme der Clearanceraten über die Zeit. Nachdem ein Maximum von 19,88 ml/min erreicht wurde, fiel die Clearance auf 7,40 ml/min nach 6 h ab.
- Im Zweikompartimentmodell wurde eher eine kontinuierlich abfallende Tendenz der Clearance in den ersten 6 h gegen den Nullpunkt beobachtet (Abb. 38, Anhang Tabelle A21).

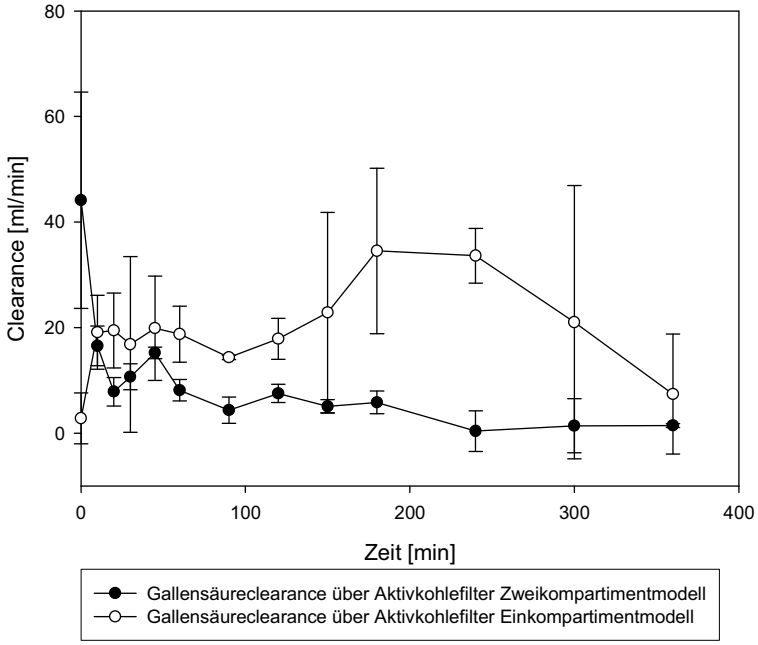

Abb. 38: Gallensäureclearance über dem Aktivkohleadsorber im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h.

In den 24-h-Versuchsreihen zum Zweikompartimentmodell stellten sich, nach anfänglicher Abnahme der Werte, um 0,39 ml/min bis 8,57 ml/min schwankende Clearancewerte ein (Abb. 39, Anhang Tabelle A20).

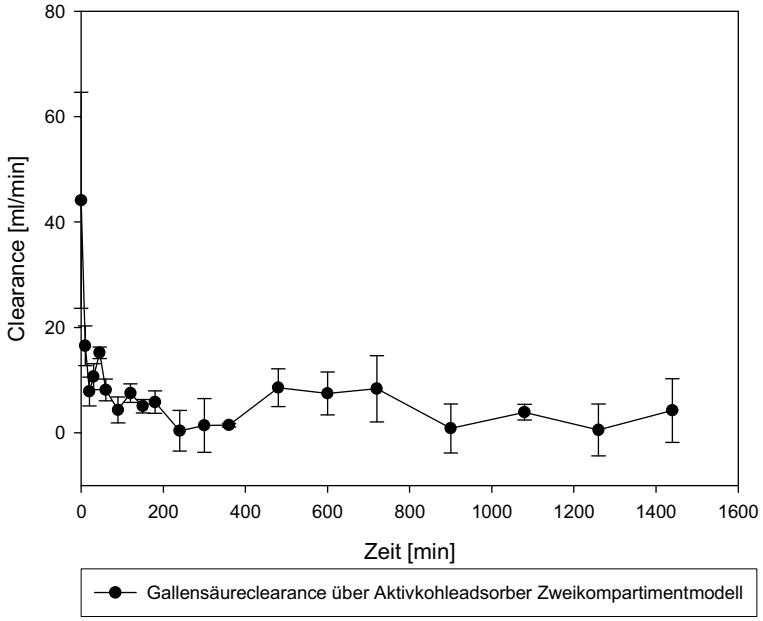

Abb. 39: Gallensäureclearance über dem Aktivkohleadsorber im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h.

3.2.4 Bilirubin im Ein- und Zweikompartimentmodell

3.2.4.1 Vergleich der Bilirubinclearance über dem MARSflux (PIPO) im Ein- und Zweikompartimentmodell

Die Clearancewerte für unkonjugiertes Bilirubin im Ein- und Zweikompartimentmodell lieferten über dem MARSflux keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$) (Abb. 40, Anhang Tabelle A22).

Im Verlauf über 24 h schwankten die Clearancewerte für unkonjugiertes Bilirubin im Zweikompartimentmodell nach anfänglichem Abfall von 11,05 ml/min bei 0 min auf 2,43 ml/min nach 30 min um den Nullpunkt (Abb. 41).

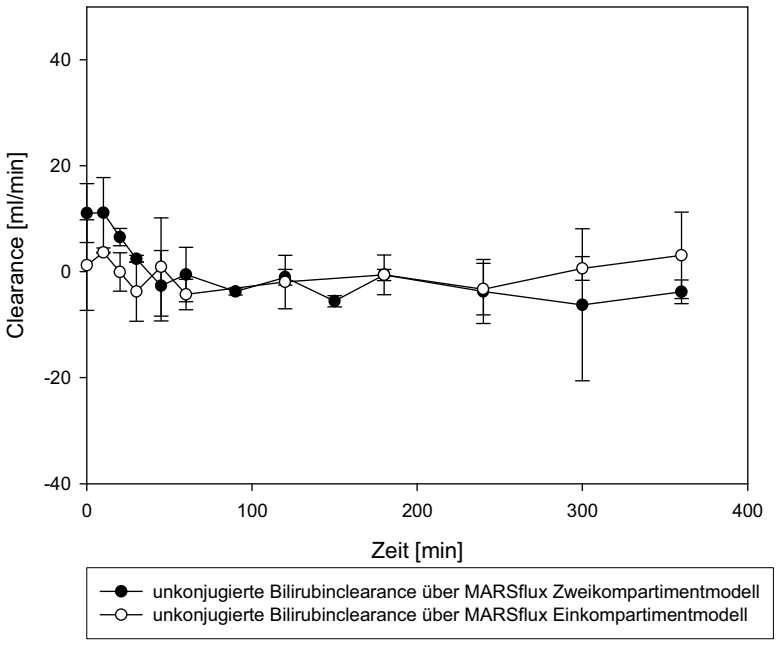

Abb. 40: Unkonj. Bilirubinclearance über dem MARSflux im Ein- und Zweikompartimentmodell über die Zeit von 6 h. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede.

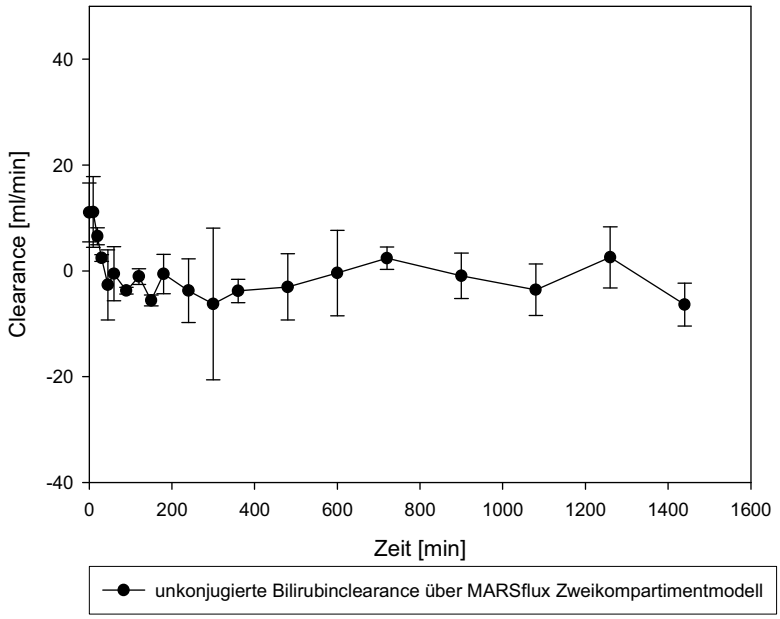

Abb. 41: Unkonjugierte Bilirubinclearance über dem MARSflux im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h (Zahlenwerte zum Diagramm siehe Anhang Tabelle A23).

3.2.4.2 Bilirubinclearance über dem Anionenaustauscher (M3M4) im Zweikompartimentmodell über 24 h

Die Clearance des unkonjugierten Bilirubins im 24-h-Verlauf des Zweikompartimentmodells fällt in den ersten 2 h steil ab (von 200,89 ml/min auf 26,32 ml/min), (Abb. 42).

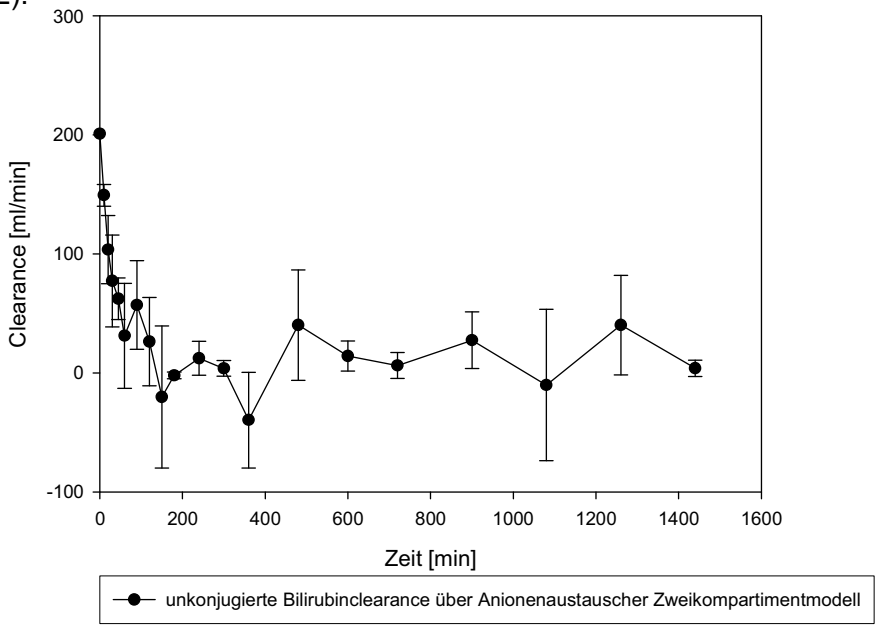

Abb. 42: Unkonjugierte Bilirubinclearance über dem Anionenaustauscher im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h (Zahlenwerte zum Diagramm siehe Anhang Tabelle A23).

Um den Abfall der Bilirubinclearance zu erklären, ist eine Betrachtung der Konzentrationsveränderungen notwendig. Im Konzentrationsverlauf des unkonjugier-

ten Bilirubins zwischen dem MARSflux und dem Anionenaustauscher (Abnahmepunkt M2) ist zunächst ein Anstieg der Bilirubinkonzentration auf 121,41% innerhalb der ersten Minuten ersichtlich. Es folgen anschließend ein Konzentrationsabfall bis auf 46,25% bei 10 h und dann wieder ein Anstieg der Konzentration auf 74,03% nach 24 h (Abb. 43).

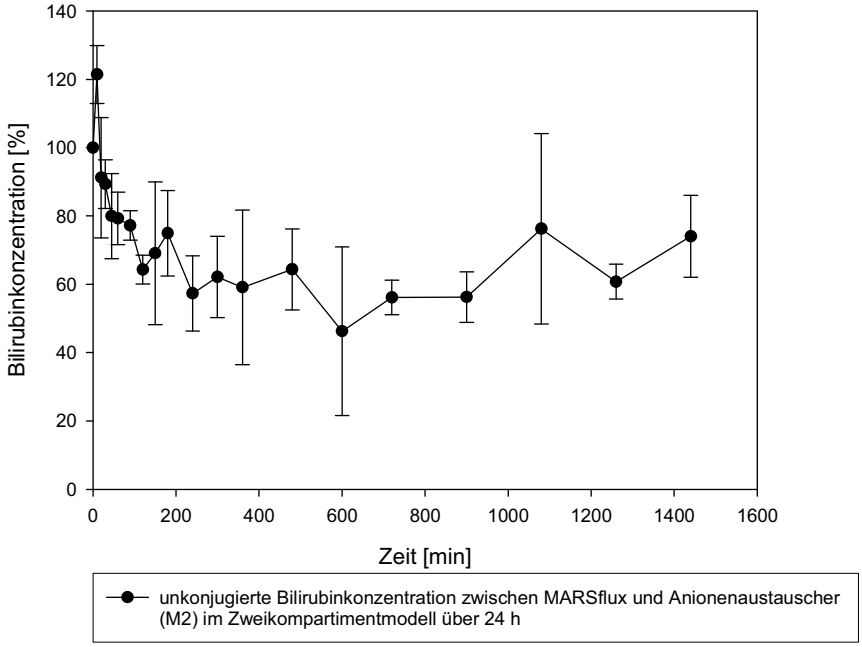

Abb. 43: Konzentrationsverlauf des unkonjugierten Bilirubins zwischen dem MARSflux und dem Anionenaustauscher (Abnahmepunkt M2) im Zweikompartimentmodell über eine Zeit von 24 h.

3.3 Neu verwendete wasserlösliche Substanzen im Zweikompartimentmodell

3.3.1 Harnstoff im Zweikompartimentmodell

3.3.1.1 Harnstoffclearance über dem Diaflux (M1M2) im Vergleich zur Kreatininclearance im Zweikompartimentmodell

Im alten Einkompartimentmodell wurde allein Kreatinin als wasserlösliche Substanz in den Versuchsreihen verwendet. Beim Zweikompartimentmodell wurde auch Harnstoff als zweite wichtige wasserlösliche Substanz eingesetzt. Die Clearancewerte für Harnstoff und Kreatinin über dem Diaflux im MARS-Mittelkreislauf unterschieden sich über die Zeit von 24 h nicht signifikant voneinander. Für Kreatinin schwankten die Werte über 24 h zwischen 38,81 ml/min und 51,89 ml/min. Die Harnstoffclearance lag zwischen 44,67 ml/min und 59,98 ml/min über 24 h (Abb. 44, Anhang Tabelle A24).

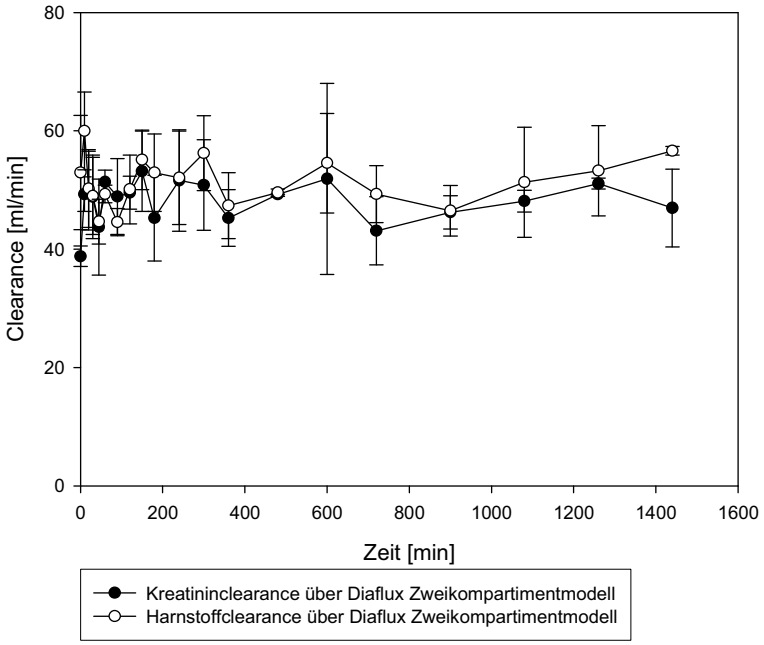

Abb. 44: Kreatinin- und Harnstoffclearance über dem Diaflux im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede.

3.3.1.2 Harnstoffclearance über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) im Vergleich zur Kreatininclearance im Zweikompartimentmodell

Es fanden sich über die gesamten 24 h signifikante Unterschiede zwischen den Harnstoff- und Kreatininclearancewerten. Hieraus wurde ersichtlich, dass Kreatinin nicht nur über den Dialysator, sondern auch über den Aktivkohleadsorber im MARS-System entfernt wurde. Harnstoff hingegen wurde fast ausschließlich über den Dialysator entfernt. Die Clearanceraten für Harnstoff über dem Aktivkohlefilter gingen innerhalb von 2 h gegen 0 ml/min. Beim Kreatinin kam es zum Abfall der Clearancewerte von 116,54 ml/min bei 0 min auf 30,36 ml/min nach 24 h (Abb. 45, Anhang Tabelle A25).

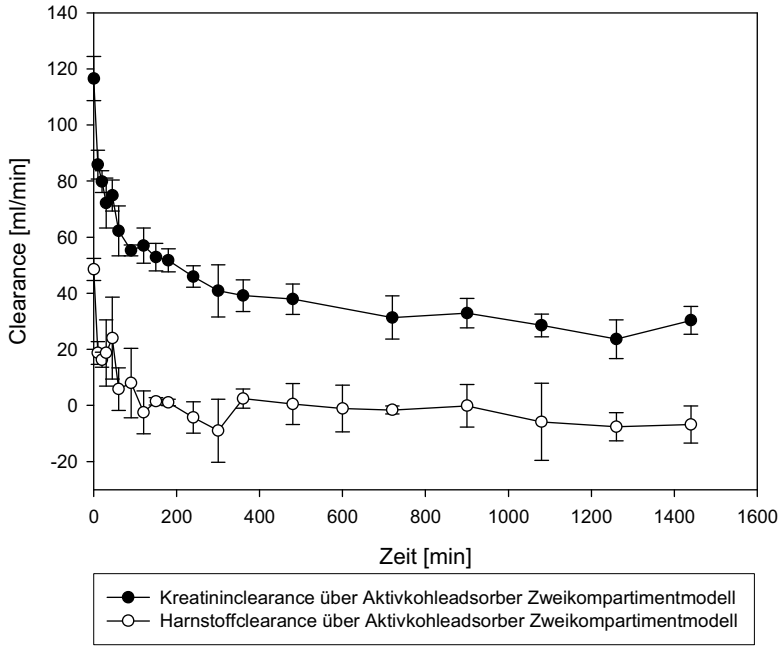

Abb. 45: Kreatinin- und Harnstoffclearance über dem Aktivkohleadsorber im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h. Die Kreatininclearance lag signifikant höher als die Harnstoffclearance.

3.3.1.3 Clearancedarstellungen von Harnstoff und Kreatinin über den einzelnen Dialysatoren und Adsorbern im Zweikompartimentmodell

Zum Abnahmezeitpunkt 3 h wurde über dem MARSflux die größte Kreatininclearance von 86,76 ml/min gemessen. Wider Erwarten waren die Clearancewerte für Kreatinin bei 3 h über dem Aktivkohleadsorber (51,72 ml/min) größer als über dem Diaflux (45,27 ml/min). Harnstoff wurde effektiv über den MARSflux und letztlich mit einer Clearance von 52,94 ml/min über den Diaflux aus dem System entfernt. Im Gegensatz zum Kreatinin spielt der Aktivkohleadsorber bei der Harnstoffeliminierung keine Rolle. Hierbei beträgt die Harnstoffclearance bei 3 h 1,08 ml/min (Abb. 46).
Zum Abnahmezeitpunkt 24 h wurde über dem MARSflux wieder die größte Kreatininclearance von 75,04 ml/min gemessen. Über dem Diaflux betrug die Clearance für Kreatinin 46,98 ml/min. Die Clearancerate über dem Aktivkohleadsorber lag noch bei 30,36 ml/min. Harnstoff wurde mit einer Clearance von 56,63 ml/min über den Diaflux aus dem System entfernt. Über den Aktivkohleadsorber erfolgte keine Entfernung von Harnstoff (Abb. 47). Der Anionenaustauscher war zu keinem Zeitpunkt effektiv an der Entfernung beider wasserlöslicher Stoffe beteiligt.

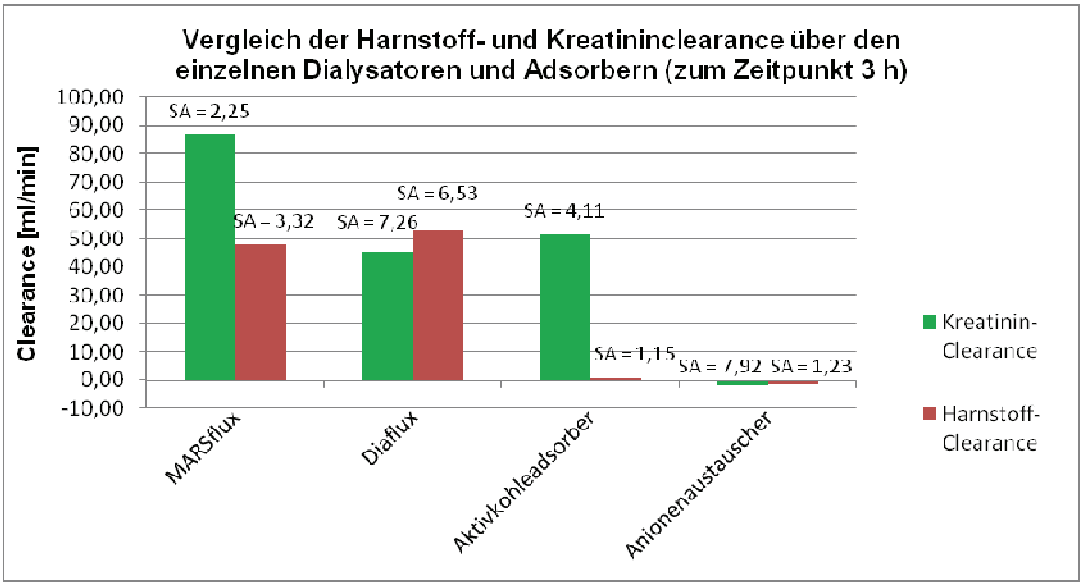

Abb. 46: Harnstoff- und Kreatininclearance zum Zeitpunkt 3 h über dem MARSflux (PIPO), dem Diaflux (M1M2), dem Aktivkohleadsorber (M2M3) und dem Anionenaustauscher (M3M4). Harnstoff wurde über den MARSflux und den Diaflux aus dem System entfernt. Kreatinin wurde zusätzlich über den Aktivkohleadsorber entfernt.

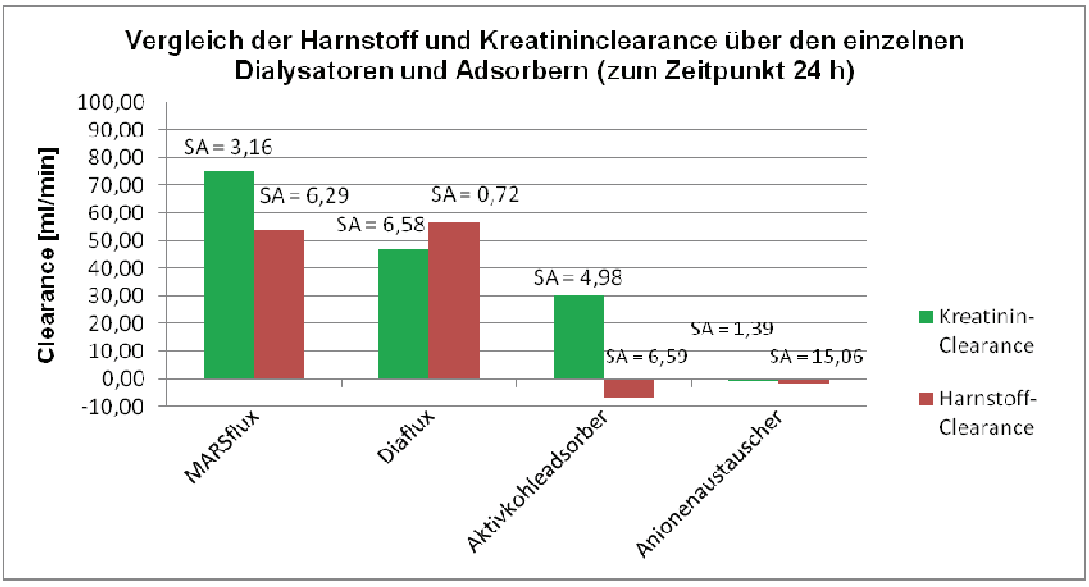

Abb. 47: Harnstoff- und Kreatininclearance zum Zeitpunkt 24 h über dem MARSflux (PIPO), dem Diaflux (M1M2), dem Aktivkohleadsorber (M2M3) und dem Anionenaustauscher (M3M4). Harnstoff wurde auch zu diesem Zeitpunkt über den MARSflux und den Diaflux aus dem System entfernt. Kreatinin wurde zusätzlich über den Aktivkohleadsorber entfernt.

3.3.2 Ammoniak im Zweikompartimentmodell

3.3.2.1 Ammoniakclearance über dem Diaflux (M1M2) im Vergleich zur Kreatininclearance im Zweikompartimentmodell

Ammoniak als wasserlösliche Substanz wurde im alten Einkompartimentmodell nicht bedacht. Im neuen Zweikompartimentmodell fanden sich in den Clearanceraten über dem Diaflux keine signifikanten Unterschiede zwischen Kreatinin und Ammoniak. Für Kreatinin schwankten die Werte über 24 h zwischen 38,81 ml/min und 51,89 ml/min. Die Ammoniakclearance lag zwischen 35,16 ml/min und 50,42 ml/min über 24 h (Abb. 48, Anhang Tabelle A26).

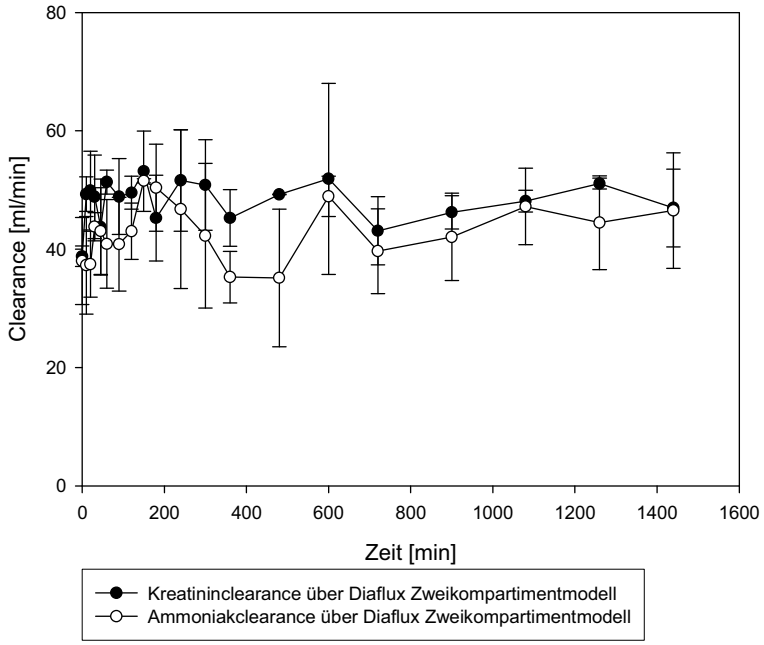

Abb. 48: Kreatinin- und Ammoniakclearance über dem Diaflux im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede.

3.3.2.2 Ammoniakclearance über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) im Vergleich zur Kreatininclearance im Zweikompartimentmodell

Es fanden sich über die gesamten 24 h signifikante Unterschiede zwischen den Ammoniak- und Kreatininclearancewerten. Dabei lag die Kreatininclearance deutlich über der Ammoniakclearance. Hieraus wurde ersichtlich, dass Kreatinin nicht nur über den Dialysator, sondern auch über den Aktivkohleadsorber im MARS-System entfernt wurde. Ammoniak hingegen wurde fast ausschließlich über den Dialysator entfernt. Die Clearanceraten für Ammoniak über dem Aktivkohlefilter schwankten im 24-h-Verlauf um den Nullpunkt. Beim Kreatinin kam es zum Abfall der Clearance-

werte von 116,54 ml/min bei 0 min auf 30,36 ml/min nach 24 h (Abb. 49, Anhang Tabelle A27).

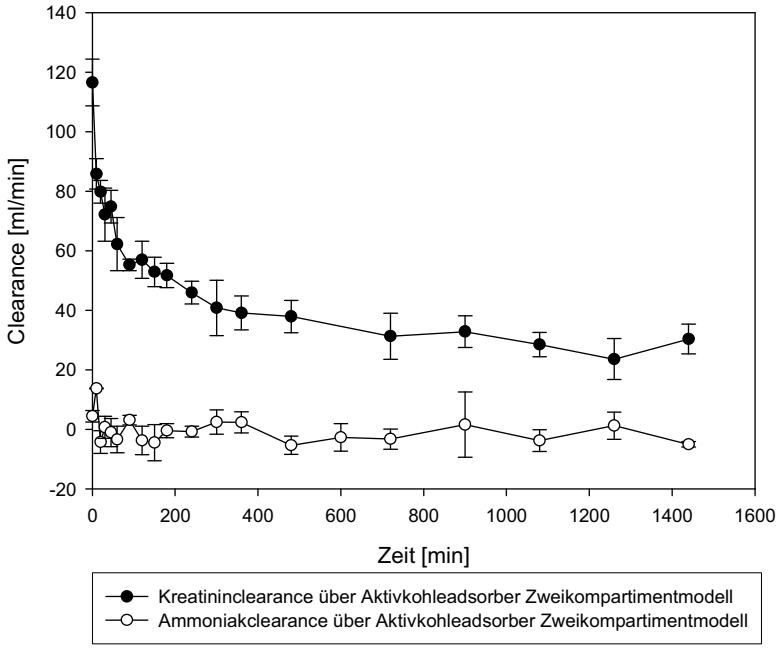

Abb. 49: Kreatinin- und Ammoniakclearance über dem Aktivkohleadsorber im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h. Die Clearancewerte für Kreatinin lagen signifikant höher als die Werte von Ammoniak.

3.3.2.3 Clearancedarstellungen von Ammoniak und Kreatinin über den einzelnen Dialysatoren und Adsorbern im Zweikompartimentmodell

Zum Abnahmezeitpunkt 3 h wurde über dem MARSflux die größte Kreatininclearance von 86,76 ml/min gemessen. Die Clearancewerte für Kreatinin bei 3 h waren über dem Aktivkohleadsorber (51,72 ml/min) größer als über dem Diaflux (45,27 ml/min). Ammoniak wurde effektiv über den MARSflux und letztlich mit einer Clearance von 50,42 ml/min über den Diaflux aus dem System entfernt. Im Gegensatz zum Kreatinin spielt der Aktivkohleadsorber bei der Ammoniakelimination keine Rolle. Hierbei beträgt die Ammoniakclearance bei 3 h -0,44 ml/min (Abb. 50).

Zum Abnahmezeitpunkt 24 h wurde über dem MARSflux wieder die größte Kreatininclearance von 75,04 ml/min gemessen. Über dem Diaflux betrug die Clearance für Kreatinin 46,98 ml/min. Die Clearancerate über dem Aktivkohleadsorber lag noch bei 30,36 ml/min. Ammoniak wurde mit einer Clearance von 46,54 ml/min über den Diaflux aus dem System entfernt. Über den Aktivkohleadsorber erfolgte keine Entfernung von Ammoniak (Abb. 51). Der Anionenaustauscher war zu keinem Zeitpunkt effektiv an der Entfernung beider wasserlöslicher Stoffe beteiligt.

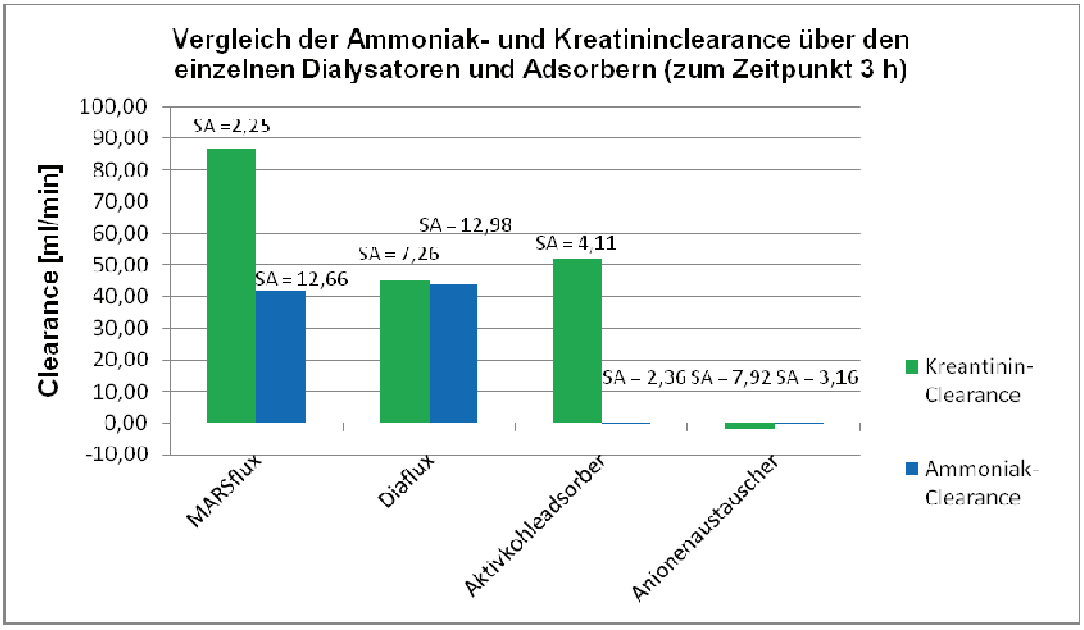

Abb. 50: Ammoniak- und Kreatininclearance zum Zeitpunkt 3 h über dem MARSflux (PIPO), dem Diaflux (M1M2), dem Aktivkohleadsorber (M2M3) und dem Anionenaustauscher (M3M4). Ammoniak wurde über den MARSflux und den Diaflux aus dem System entfernt. Kreatinin wurde zusätzlich über den Aktivkohleadsorber entfernt.

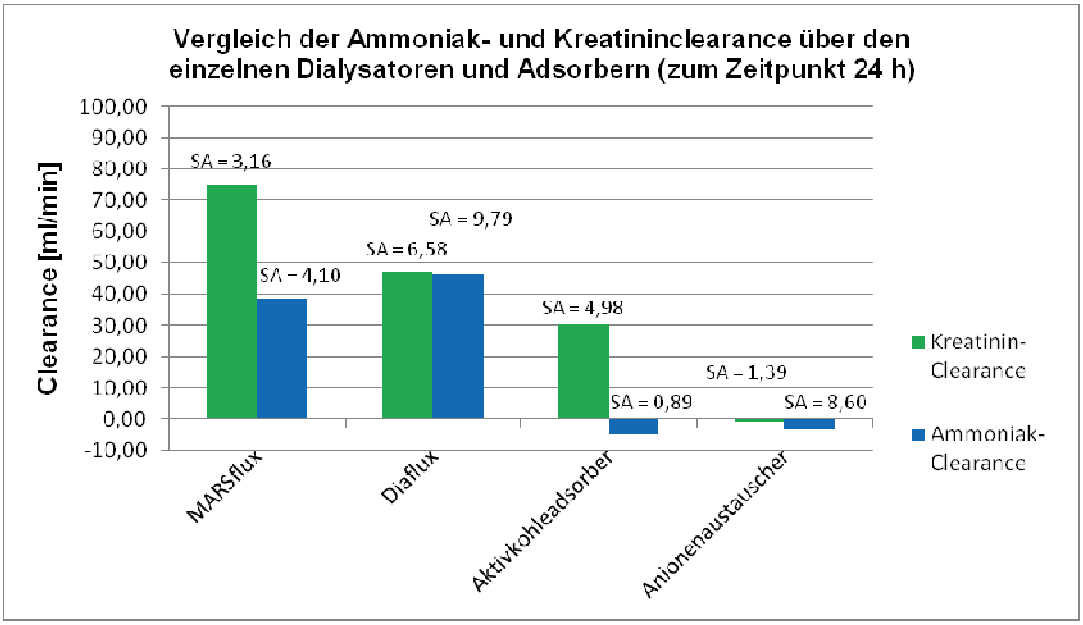

Abb. 51: Ammoniak- und Kreatininclearance zum Zeitpunkt 24 h über dem MARSflux (PIPO), dem Diaflux (M1M2), dem Aktivkohleadsorber (M2M3) und dem Anionenaustauscher (M3M4). Ammoniak wurde über den MARSflux und den Diaflux aus dem System entfernt. Kreatinin wurde zusätzlich über den Aktivkohleadsorber entfernt.

4 Diskussion

Bei Patienten im Leberversagen ist die Detoxifikationsleistung der Leber eingeschränkt. Es erfolgt eine Anreicherung von wasserlöslichen und albumingebundenen Substanzen, die endogen stetig in den Kreislauf nachgeliefert werden. Extrakorporale Leberunterstützungsverfahren, wie z.B. das Molecular Adsorbents Recirculating System (MARS), fungieren als “Brücke“ bis zur Leberregeneration oder -transplantation. Die Entwicklung eines neuen Zweikompartimentmodells für Leberersatzsysteme ist wichtig, da sowohl verlässliche präklinische Bewertungs- als auch Vergleichsmaßstäbe für die Entwicklung neuer Entgiftungssysteme für Patienten im Leberversagen dringend notwendig sind.

Für die Erforschung und Weiterentwicklung der Dialysemembranen und Adsorbersysteme spielen in-vitro Modelle eine große Rolle. Bislang kam in den meisten Versuchsreihen das Einkompartimentmodell für intermittierende Behandlungen mit hohen Flussraten zum Einsatz. Bei den herkömmlichen Einkompartimentsystemen wird meist eine kalkulierte Toxinmenge in ein begrenztes Plasma- oder Blutvolumen gegeben. Die Abnahme dieser Toxinmenge über die Zeit bzw. beim Durchlauf durch das Entgiftungssystem ermöglicht dann die Kalkulation von Entgiftungsparametern, wie z.B. der Clearance oder Dialysance. Es stellt eine einfache Möglichkeit zur Beschreibung der Hämodialyseeffektivität dar. Für eine genauere Untersuchung der transportkinetischen Vorgänge und der endogenen Generationsrate mit dem Rebound-Phänomen stößt das Einkompartimentmodell an seine Grenzen [163].

Problematisch ist hierbei auch, dass sich die verschiedenen Gifte äußerst unterschiedlich in solchen Entgiftungssystemen über die Zeit verhalten. Unkonjugiertes Bilirubin ist beispielsweise nur sehr langsam aus der Albuminbindung in einem Patientenplasmamodell zu entfernen, sodass dieser Parameter auch bei einem Einkompartimentmodell bei den heute üblichen Entgiftungssystemen über Stunden im System verbleibt [81, 120]. Somit sind für dieses Toxin durchaus Langzeituntersuchungen möglich. Hingegen sind die wasserlöslichen Toxine des Multiorganversagens, wie Kreatinin, Ammoniak oder Harnstoff, bereits innerhalb von Minuten aus dem Einkompartimentmodell herausgewaschen. Langzeituntersuchungen zu diesen Parametern waren mit diesem Modell nicht durchführbar.

Damit konnten wesentliche Fragen bislang nicht geklärt werden, wie z.B.

1. Wie verändert sich die Leistung von Adsorbern innerhalb eines Entgiftungssystems bei Langzeiteinsatz von 24 h oder länger?
2. Wie verändert sich die Leistung von Membranen innerhalb eines Entgiftungssystems bei Langzeiteinsatz von 24 h oder länger?
3. Falls ein Entgiftungssystem Zellen enthält, wie verändert sich die Zellleistung bei Langzeiteinsatz?

Bei der Beschreibung kontinuierlicher Langzeitherapien über 24 h mit niedrigen Flussraten sollten realitätsnähere Mehrkompartimentmodelle mit Nachdosierungsrate herangezogen werden.

Die transportkinetischen Vorgänge für Harnstoff, Kreatinin und Ammoniak wurden zwar vielfältig anhand von Ein- und Zweikompartimentmodellen in der Literatur beschrieben [31, 41, 49, 118, 140, 163]. Hierbei beschränkten sich die meisten in-vitro Modelle jedoch auf die Anwendung bei der reinen Hämodialyse unter Verwendung weniger Toxine im Patientenkreislauf und Versuchszeiten zwischen 4 bis 6 h bei hohen Dialysatflussraten. Vergleichende in-vitro Zweikompartimentmodelle mit einem wie in dieser Arbeit verwendeten komplexen Toxinpool und einem Versuchszeitraum von 24 h konnten trotz ausführlicher Recherche in den Literaturdatenbanken bislang in Bezug auf die Albumindialyse mit extrakorporalen Leberunterstützungssystemen nicht gefunden werden.

4.1 Auswertung des Zweikompartimentmodells: Standard- vs. Leerversuch

Bei allen verwendeten Substanzen fanden sich signifikante Unterschiede zwischen Standard- und Leerversuchsreihe. Die Leerversuche lieferten hierbei höhere Konzentrationswerte und es erfolgte zumeist ein steiler Anstieg der Konzentrationsverläufe innerhalb der 6 h. Im Gegensatz dazu fanden sich in der Standardversuchsreihe kleinere Konzentrationen, die oftmals über die Zeit noch abnahmen. Es wird deutlich, dass es ohne die Nachschaltung eines extrakorporalen Leberunterstützungsverfahrens im neu entwickelten Zweikompartimentmodell zum stetigen Anstieg der Toxinkonzentrationen im “Patientenplasma“ kommt. Dieser Konzentrationsanstieg ist erst durch die Realisierung einer stetigen Nachbildungsrate in den Patientenkreislauf gewährleistet. Auf physiologische bzw. pathophysiologische Vorgänge übertragen liefert das Zweikompartimentmodell eine realitätsnähere Darstellung der endogenen Toxinproduktion und deren ständige Ausschwemmung in den Blutkreislauf. Weiterhin wird die Effektivität des nachgeschalteten Leberunterstützungsverfahrens fassbar. Durch das MARS-Verfahren werden Konzentrationsverläufe mit nur geringem Anstieg oder teilweise sinkenden Werten erzielt. Die wasserlöslichen und albumingebundenen Toxine werden aus dem Patientenkreislauf entfernt.

Zu Beginn der Experimente (in den ersten 30 min) liegen die Werte der Momentanclearance über denen der kumulativen Clearance. Dieser Umstand ist durch den Prozess des “Membranfowlings“ zu erklären. Hierbei kommt es besonders in der ersten halben Stunde der Experimente zu Verklebungen der Dialysemembran aufgrund von Anlagerung von Albuminmolekülen und proteinaffinen Substanzen.

Somit ist die erste gemessene Momentanclearance wesentlich höher als in den restlichen 30 min, in denen durch das “Fowling“ die Clearanceleistung abnimmt. Dadurch fällt der Mittelwert für die Momentanclearances falsch hoch aus. Ein weiterer Punkt in Bezug auf falsch hohe Momentanclearancewerte liegt bei den Adsorptionsvorgängen der noch “frischen“ Membran. Die Membran nimmt anfänglich Moleküle auf und somit wird die Zudosierung falsch niedrig eingeschätzt und die Momentanclearance anschließend falsch hoch berechnet. Zusätzlich kann die Albuminkorrektur für proteinaffine Substanzen die Momentanclearance künstlich in die Höhe treiben, da zu Beginn der Experimente trotz eigentlicher Albuminundurchlässigkeit der Membran ein Durchgang von Albuminspuren aus dem MARS-Dialysat in den Blutkreislauf nicht ausgeschlossen werden kann. Die kumulative Clearance über den gesamten Zeitabschnitt repräsentiert in diesem Zusammenhang besser den klinisch bedeutsamen Wert.

Ein weiteres Problem der Momentanclearance im Versuchsverlauf ist die teilweise geringe Konzentrationsänderung zwischen Ein- und Auslauf, d.h. vor und hinter dem Dialysator bei relativ hohen Flussraten. Diese Einschränkung findet sich besonders bei schwer entfernbaren Substanzen (wie z.B. unkonjugiertes Bilirubin, Gallensäure und BSP). Hierbei ist die Momentanclearance zum Teil so gering, dass die Werte im Bereich des Messfehlers liegen.

Generell ist auch nach der Implementierung der Albuminkorrektur die Gefahr bei einem Highflux Filter hoch, dass durch Wasser- und Albuminverschiebungen (spontane Ultrafiltration) der Wert hinter der Dialysemembran (PO) falsch hoch ist und damit die Momentanclearance im weiteren Verlauf der Experimente als falsch niedrig aufgefasst wird. So können infolgedessen z.B. beim unkonjugierten Bilirubin sogar negative Clearancewerte erreicht werden.

Insgesamt betrachtet ist die kumulative Clearance wesentlich aussagekräftiger, da bei der Abnahme der Werte über einen gesamten Zeitabschnitt zuverlässigere Konzentrationsunterschiede erreicht werden.

Der Werteverlauf der kumulativen Clearance über die gesamten 6 h gleicht einer Wellenform. Über die Zeit erfolgt zunächst ein Anstieg der kumulativen Clearance (im Zeitintervall zwischen 30 und 60 min). Dieser Anstieg könnte in folgendem Zusammenhang stehen: Die Zudosierung erfordert eine mathematische Korrektur bei der Kalkulation der kumulativen Clearancewerte. Da eine Zudosierung die Konzentrationsgradienten während des MARS-Intervalls hoch hält, kann es bei der Korrektur zur Überschätzung der tatsächlichen Clearance kommen. Allerdings dürfte dieser Fehler bei den moderaten Zudosierungen vernachlässigbar sein. Er ist sicherlich bei Kreatinin und Harnstoff größer als bei unkonjugiertem Bilirubin, welches nur in geringem Umfang nachdosiert wird.

Die folgende Abnahme der kumulativen Clearance in den Zeitintervallen zwischen 1 und 2 h sowie 2 und 6 h könnte auf das Verkleben der Membran mit Verbreiterung des “Thin Layers“ im Zusammenhang stehen. In der Literatur ist mehrfach eine Beziehung zwischen Dickenzunahme des “Proteinlayers“ mit zunehmender Dialysezeit und sinkender Clearanceleistung während der Hämodialyse beschrieben [87, 103]. Die prozentuale Reduktion der Clearance nimmt mit steigender Molekülgröße zu [86]. Es erfolgt hierbei eine signifikante Reduktion aller Transportparameter der Membran bei der Bildung einer Schicht von adsorbierten Plasmaproteinen und proteinaffinen Substanzen auf der Membranoberfläche. Die transportkinetischen Vorgänge sind dadurch behindert. Gleichzeitig finden sich viele physikochemische Wechselwirkungen bei den Transportvorgängen: Bindung freier Toxine an Albumin, Bindung proteinaffiner Substanzen an die Membranoberfläche und Bindung von freiem Albumin an die Membran.

Wasserlösliche niedermolekulare Substanzen, wie z.B. Kreatinin, Ammoniak und Harnstoff, können die Membran leicht passieren und mit einer relativ hohen Clearance aus dem Patientenplasma entfernt werden. Hinzu kommt die Aufrechterhaltung eines hohen Konzentrationsgradienten durch stetige Zudosierung der Stoffe. Aber auch hier kommt es im Verlauf zur Abnahme der kumulativen Clearancewerte durch Membran-verklebungen und dadurch bedingter Durchlaufbehinderung.

Proteinaffine, höhermolekulare Substanzen wie z.B. unkonjugiertes Bilirubin werden durch das “Fowling“ stark beeinträchtigt. Sie selbst binden an den “Thin Layer“. Bilirubin geht aufgrund seiner hohen Affinität zum Albuminmolekül eine starke reversible Bindung ein und lässt sich dementsprechend schlechter vom Albuminmolekül lösen. Somit ergibt sich nur eine kleine Clearanceleistung trotz hochgehaltenem Konzentrationsgradienten. In der Abb. 52 sind die Transportvorgänge an der MARS-Membran dargestellt:

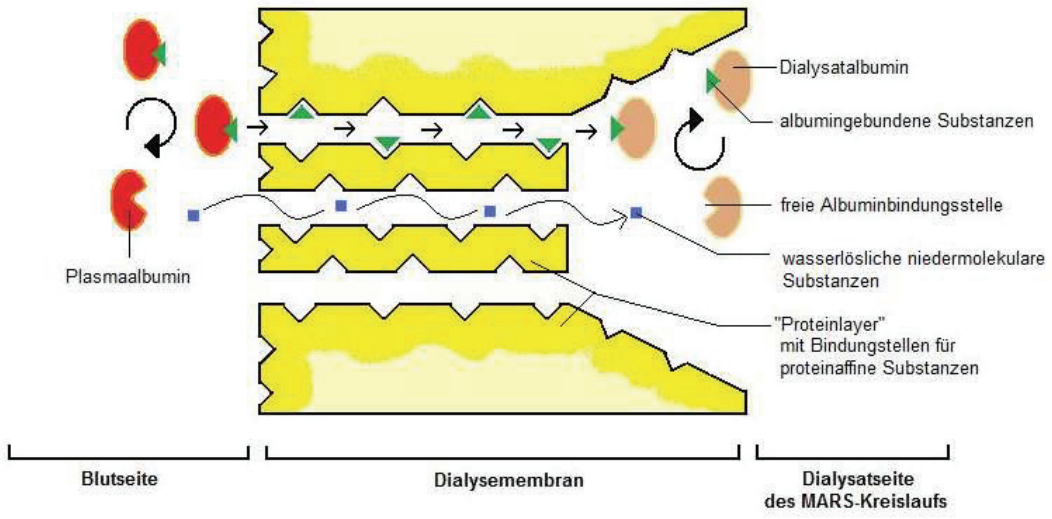

Abb. 52: Schematische Darstellung der Transportvorgänge an der MARS-Membran während der Albumindialyse.

4.2 Auswertung der Gegenüberstellung des Ein- und Zweikompartimentmodells

4.2.1 Kreatinin im Ein- und Zweikompartimentmodell

4.2.1.1 Vergleich der Kreatininclearance über dem MARSflux

Im Vergleich des neu entwickelten Zweikompartimentmodells mit dem Einkompartimentmodell lag die Kreatininclearance über dem MARSflux anfänglich im alten Modell signifikant höher. Dieser Unterschied ist vermutlich auf die beim Einkompartimentmodell verwendeten hohen Dialysatflussraten von 500 ml/min für die Darstellung intermittierender Kurzzeittherapien zurückzuführen. Diese Vermutung würde sich bei einer ebenfalls signifikant höheren Kreatininclearance im alten Modell über dem Diaflux bestätigen.

Auch im Konzentrationsverlauf für Kreatinin fanden sich signifikante Unterschiede für die beiden Modellansätze. Beim Einkompartimentmodell fiel die Konzentration innerhalb von 2 h auf 0% ab. Somit war fortan keine Berechnung der Clearanceraten über dem MARSflux möglich. Im Gegensatz zum Zweikompartimentmodell mit kontinuierlicher Erfassung der Konzentrations- und Clearanceverläufe über 24 h fehlen beim Einkompartimentmodell Informationen zur Berechnung klinisch gültiger Clearanceraten, da das einmal zugeführte Kreatinin aus dem System entfernt wird und im geschlossenen Kreislauf keine Nachdosierung erfolgt. Das Zweikompartimentmodell ermöglicht somit eine längerfristige Beobachtung der Kreatininclearance in extrakorporalen Leberunterstützungssystemen.

Die Clearanceverläufe über dem MARSflux im Zeitraum über 24 h zeigten im Zweikompartimentmodell einen steilen Abfall von 107 ml/min bei 0 min auf 77 ml/min bei 6 h. Danach war eine “Steady State“-Tendenz ersichtlich. Für diesen Clearanceabfall über dem MARSflux sind 3 Mechanismen denkbar:

- Zunächst können Membranverklebungen (“Fowling“) durch Albuminmoleküle und proteinaffine Substanzen zur Einschränkung der transportkinetischen Vorgänge für Kreatinin am MARSflux selbst für einen Clearancerückgang verantwortlich sein.
- Im weiteren Entgiftungskreislauf kann das “Membranfowling“ auch an der sekundären Diafluxmembran auftreten und rückwirkend die Clearanceleistung des MARSflux beeinträchtigen.
- Auch eine Sättigung des Aktivkohlefilters als zusätzliche Eliminierungsstelle für Kreatinin wäre durchaus vorstellbar.

4.2.1.2 Vergleich der Kreatininclearance über dem Diaflux

Auch über dem Diaflux lag die Kreatininclearance im Einkompartimentmodell anfänglich signifikant über der Clearance des Zweikompartimentmodells. Dieses Ergebnis unterstreicht die Vermutung, dass der Unterschied in den Clearanceraten durch die im Einkompartimentmodell verwendete hohe Dialysatflussrate von 500 ml/min zurückzuführen ist.

Über dem Diaflux fiel die Kreatininkonzentration wie über dem MARSflux innerhalb von 2 h auf 0%. Somit war fortan keine Berechnung der Clearance über dem Diaflux möglich. Für Langzeitbeobachtungen muss daher auf das neue Zweikompartiment-modell zurückgegriffen werden.

Im Gegensatz zum Abfall der Kreatininclearance über dem MARSflux im Verlauf von 24 h beim Zweikompartimentmodell erfolgt über dem Diaflux keine Abnahme der Clearancewerte über die Zeit. Hier finden sich über die gesamten 24 h leicht schwankende Werte zwischen 38,81 ml/min und 51,89 ml/min. Damit lässt sich der Clearanceabfall über dem MARSflux nicht durch Verklebungsprozesse der Diafluxmembran erklären. Dieser Umstand ist auch plausibel, da das “Fowling-Phänomen“ auf der Blutseite des Diaflux bei Verwendung von purer Albuminlösung im MARS-Mittelkreislauf nur unwesentlich sein dürfte.

4.2.1.3 Vergleich der Kreatininclearance über dem Aktivkohleadsorber

Wie beim MARS- und Diaflux lag auch beim Aktivkohleadsorber die Kreatinin-clearance im Einkompartimentmodell anfänglich signifikant höher als im Zwei-kompartimentmodell. Dieser Umstand ist wieder mit der hohen Dialysatflussrate und der damit effektiveren Dialyse des Kreatinins im Einkompartimentmodell erklärbar, da somit eine Beladung und letztlich Sättigung des Aktivkohleadsorbers verzögert wird und damit die Kapazität länger erhalten bleibt. Die Darstellung von Kapazitätsgrenzen der Adsorbersysteme kann jedoch im Einkompartimentmodell nicht nachvollzogen werden, da eine Berechnung der Clearanceraten aufgrund fehlender Konzentrations-angaben nach ca. 1 h nicht mehr möglich ist.

Das Zweikompartimentmodell liefert die Erkenntnis, dass Kreatinin nicht wie bisher angenommen nur über Dialysevorgänge aus dem System entfernt wird, sondern auch über den Aktivkohleadsorber. Somit ist Kreatinin für die Untersuchung der Effektivität der reinen Dialysesequenz im MARS-Kreislauf nicht geeignet.

Im 24-h-Verlauf zeigte sich beim Zweikompartimentmodell ein anfänglich steiler und zunehmend flacherer Abfall der Clearanceraten für Kreatinin von 116,26 ml/min bei 0 min auf 30,36 ml/min nach 24 h. Dieser Abfall ist ein Hinweis auf erreichte Kapazitätsgrenzen des Adsorbers durch Sättigung der Aktivkohle und trägt damit auch zur Abnahme der Kreatininclearance im Gesamtsystem, z.B. über dem

MARSflux (siehe Abschnitt 4.2.1.1), bei. Die aufgezeigten Kapazitätsgrenzen geben einen Anstoß für die Entwicklung neuer Adsorbersysteme mit verbesserter Aktivkohleleistung.

4.2.2 Bromosulfophthalein (BSP) im Ein- und Zweikompartimentmodell

4.2.2.1 Vergleich der BSP-Clearance über dem MARSflux

Für die BSP-Clearancewerte zeigten sich im t-Test für unabhängige Stichproben keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Ein- und Zweikompartimentmodell über dem MARSflux. Dennoch lieferte der paarige t-Test einen p-Wert < 0,05. Somit liegen die Clearancwerte für BSP des Einkompartimentmodells tendenziell über denen des Zweikompartimentmodells. Hierzu sind 3 Mechanismen zu überdenken:

- Die hohen Dialysatflussraten im Einkompartimentmodell können die transportkinetischen Eigenschaften der MARSflux-Membran positiv beeinflussen.
- Auch eine effektivere Entfernung von BSP im Einkompartimentmodell über den Anionenaustauscher im MARS-Mittelkreislauf wäre denkbar.
- BSP könnte an anderen Rezirkulationskomponenten im Kreislauf entfernt werden. Zu diesem Punkt lieferten Stange et al. [141] Forschungsergebnisse mit der Erkenntnis, dass BSP lediglich über den Anionenaustauscher effektiv aus dem MARS-Kreislauf entfernt wird.

4.2.2.2 Vergleich der BSP-Clearance über dem Anionenaustauscher

Über dem Anionenaustauscher fanden sich sowohl beim t-Test für unabhängige Stichproben als auch beim paarigen t-Test keine signifikanten Unterschiede zwischen den Clearanceverlaufsraten für BSP im Ein- und Zweikompartimentmodell. Daher ist der Anionenaustauscher im Hinblick auf eine effektivere Entfernung von BSP beim Einkompartimentmodell (siehe Abschnitt 4.2.2.1) nicht heranziehbar. Somit sind die Unterschiede über dem MARSflux am ehesten durch die positiven Effekte der hohen Flussrate am MARSflux selbst zu erklären. Hierbei könnte eine geringere Osmolarität im MARS-Mittelkreislauf als Folge einer effektiveren Dialyse bei hoher Flussrate (500 ml/min) ein möglicher Grund für ein vermindertes “Membranfowling“ des MARSflux mit Albuminmolekülen und proteinaffinen Substanzen von der Dialysatseite her sein. Zudem kommt es innerhalb des Albuminmoleküls zu Konformationsänderungen in Abhängigkeit von der Osmolarität bzw. Ionenstärke der Umgebungslösung [121]. Diese Änderungen in der räumlichen Anordnung des Moleküls können ebenfalls Auswirkungen auf Adsorptionsprozesse der Membran und die Membrangängigkeit haben. Die genannten Mechanismen sollten durch weiterführende Unter-

suchungen im Hinblick auf die Entwicklung neuer Membranen mit vermindertem “Fowling“ und letztlich einer effektiveren Dialyse in Abhängigkeit von der Flussrate geklärt werden.

4.2.3 Gallensäure im Ein- und Zweikompartimentmodell

4.2.3.1 Vergleich der Gallensäureclearance über dem MARSflux

Die Gallensäureclearance über dem MARSflux lag im Einkompartimentmodell über der Clearance des Zweikompartimentmodells. Besonders anfänglich fanden sich signifikante Unterschiede in den Clearanceverlaufsraten. Der t-Test für paarige Stichproben lieferte einen p-Wert < 0,05. Eine höhere Clearance im Einkompartimentmodell kann wieder auf die hohe Dialysatflussrate mit einem besseren Adsorberverhalten der Aktivkohle im MARS-Mittelkreislauf zurückzuführen sein. Dazu muss eine Betrachtung des Dialyseverhaltens am Aktivkohleadsorber erfolgen.
Die eventuell unterschiedliche Dialyseeffektivität aufgrund der verschiedenen Flussraten der beiden Modellansätze über dem Diaflux sollte keinen direkten Einfluss auf die Gallensäureclearance nehmen, da die Entfernung von Gallensäure bei der Albumindialyse mit dem MARS-System überwiegend über den Aktivkohleadsorber erfolgt [141].
In beiden Modellen war eine Abnahme der Gallensäureclearance über dem MARSflux innerhalb der Vergleichszeit von 6 h ersichtlich. Mit Hilfe des Zweikompartimentmodells war diese Clearanceabnahme über eine Zeit von 24 h zu verfolgen. Hierfür wäre, neben dem schon beschriebenen Prozess des “Membranfowlings“ direkt am MARSflux, auch die abnehmende Adsorberleistung mit Erreichen der Kapazitätsgrenze bei Sättigung der Aktivkohle zu beachten.

4.2.3.2 Vergleich der Gallensäureclearance über dem Aktivkohleadsorber

Über dem Aktivkohleadsorber bestätigen sich höhere Clearanceraten für Gallensäure im Einkompartimentmodell. Hierbei fanden sich besonders im Zeitraum zwischen 1 und 5 h signifikante Unterschiede zwischen dem Ein- und Zweikompartimentmodell. Die höhere Clearanceleistung des alten Modells kann auf die hohe Dialysatflussrate mit längerer Bewahrung der Aktivkohle vor Sättigung durch wasserlösliche Substanzen erklärt werden. Dabei wird die Kapazitätsgrenze des Adsorbers zeitlich nach hinten verschoben. Zudem erfolgt im Zweikompartimentmodell eine kontinuierliche Zudosierung der wasserlöslichen und albumingebundenen Substanzen. Somit ist der Aktivkohleadsorber von Anfang an einer stärkeren Belastung ausgesetzt. Diese vermehrte Anschwemmung von Toxinen führt zur schnelleren Sättigung und dadurch

bedingter Clearanceabnahme mit früherem Erreichen der Kapazitätsgrenze des Adsorbers.

Im Clearanceverlauf der Gallensäure über 24 h im Zweikompartimentmodell zeigte sich die angeführte Sättigung des Aktivkohleadsorbers durch einen steilen Abfall der Clearancewerte innerhalb der ersten 3 h. Danach ergaben sich im gesamten Zeitraum bis 24 h schwankende Werte von 0,39 ml/min bis 8,57 ml/min. Der Aktivkohleadsorber stößt somit bei ständiger Nachdosierung von Toxinen relativ schnell an seine Kapazitätsgrenzen. Eine effektive Entfernung von Gallensäure aus dem System ist dann nicht mehr gegeben. Diese Erkenntnis ist wichtig für die zukünftige Weiterentwicklung der Adsorbersysteme mit verbesserten Eigenschaften seitens der Aktivkohle.

4.2.4 Bilirubin im Ein- und Zweikompartimentmodell

4.2.4.1 Vergleich der Bilirubinclearance über dem MARSflux

Im Verlauf des unkonjugierten Bilirubins ist kein statistisch signifikanter Unterschied der Clearanceraten über dem MARSflux zwischen dem Ein- und Zweikompartimentmodell auszumachen. Dieser Umstand ist wahrscheinlich wesentlich dadurch begründet, dass die Clearance für unkonjugiertes Bilirubin im jetzigen MARS-Verfahren ohnehin stark durch limitierende Membraneigenschaften, wie z.B. Verklebungsprozesse durch Albuminmoleküle und proteinaffine Substanzen, eingeschränkt ist [81, 120]. Hinzu kommt die Tatsache, dass unkonjugiertes Bilirubin aufgrund seiner hohen Affinität zum Albuminmolekül eine starke reversible Bindung eingeht und somit nur schwer aus dem System zu entfernen ist.

4.2.4.2 Bilirubinclearance über dem Anionenaustauscher im Zweikompartimentmodell über 24 h

Da beim Vergleich der unterschiedlichen Modellansätze für die Bilirubinclearance über dem MARSflux keine signifikanten Unterschiede ersichtlich waren, wurde von weiteren vergleichenden Betrachtungen bezüglich der Clearanceverläufe über anderen Komponenten im MARS-Mittelkreislauf Abstand genommen.

Allerdings ist bei der Betrachtung des 24-h-Verlaufs der Bilirubinclearance über dem Anionenaustauscher deutlich ein Nachlassen der Clearanceleistung im Mittelkreislauf zu beobachten. Hierfür kommen 2 mögliche Ursachen in Frage:

- Die Kapazität des Anionenaustauschers kann mit der Zeit nachlassen. Folge ist eine verminderte Entfernung des unkonjugierten Bilirubins aus dem Gesamtsystem.

- Zudem ist auch ein mangelndes Angebot von unkonjugiertem Bilirubin für den Anionenaustauscher im Mittelkreislauf denkbar. Dieses Minderangebot kann durch eine nachlassende MARSflux-Qualität aufgrund von “Membranfowling“ entstehen. Das Bilirubin wird am Transport durch die Membran auf dem Weg vom Patienten- in den Mittelkreislauf gehindert.

Natürlich können diese beiden Ursachen auch unmittelbar ineinander greifen. Es stellt sich die Frage, ob es anhand des Kurvenverlaufs der Konzentrationen möglich ist, einen Unterschied zwischen schlechter Leistung des Anionenaustauschers und abnehmender Membranqualität zu sehen. Theoretisch müssten folgende Kurvenverläufe der Bilirubinkonzentration im Mittelkreislauf zwischen MARSflux und Anionenaustauscher vorliegen (Abb. 53):

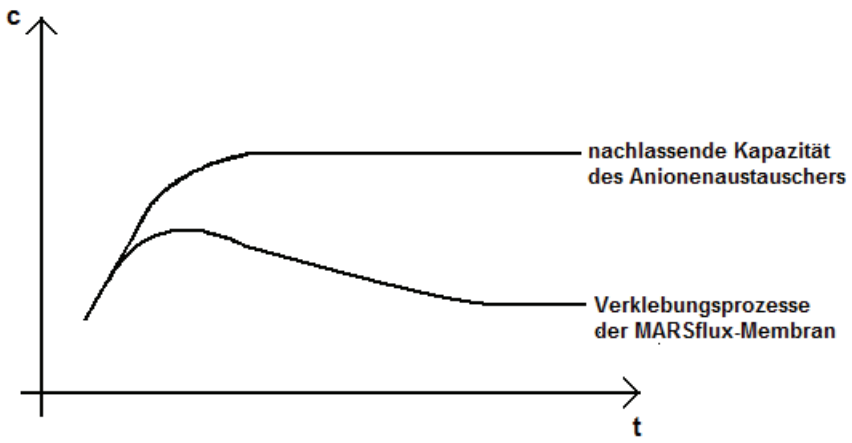

Abb. 53: Schematische Darstellung der Konzentrationsverläufe für unkonjugiertes Bilirubin im Mittelkreislauf zwischen MARSflux und Anionenaustauscher in Abhängigkeit von einer nachlassenden Kapazität des Anionenaustauschers bzw. Verklebungsprozessen an der MARSflux-Membran.

Bezogen auf den gemessenen Konzentrationsverlauf des unkonjugierten Bilirubins im MARS-Mittelkreislauf zwischen dem MARSflux und dem Anionenaustauscher (Abnahmepunkt M2) ist ein Anstieg der Bilirubinkonzentration auf 121,41% innerhalb der ersten Minuten ersichtlich. Es folgen anschließend ein Konzentrationsabfall bis auf 46,25% bei 10 h und dann wieder ein Anstieg der Konzentration auf 74,03% nach 24 h. Da Verklebungsprozesse der Membran besonders am Anfang stattfinden, kann der erste Konzentrationsanstieg auf das “Fowling“ zurückzuführen sein. Ein Anstieg der Konzentrationswerte nach 10 h lässt eher auf erreichte Kapazitätsgrenzen des Anionenaustauschers schließen.

4.3 Auswertung der neu verwendeten wasserlöslichen Substanzen im Zweikompartimentmodell

4.3.1 Harnstoff im Zweikompartimentmodell

4.3.1.1 Harnstoffclearance über dem Diaflux im Vergleich zur Kreatininclearance

Im Gegensatz zum alten Einkompartimentmodell wurde in den Versuchsreihen zum neuen Zweikompartimentmodell neben der wasserlöslichen Substanz Kreatinin auch Harnstoff im Patientenkreislauf verwendet. Die Clearance dieser beiden Substanzen über dem Diaflux im MARS-Kreislauf kann aufgrund der Wasserlöslichkeit und der kontinuierlichen Dialysatflussrate miteinander verglichen werden. Erwartungsgemäß fanden sich im Zeitraum über 24 h keine signifikanten Unterschiede in den Clearanceraten für Kreatinin und Harnstoff über dem Diaflux. Der Verlauf zeigt hierbei lediglich leichte Schwankungen der Werte zwischen 38,81 ml/min und 51,89 ml/min für Kreatinin und 44,67 ml/min und 59,98 ml/min für Harnstoff. Diese Kontinuität in der Clearancerate lässt darauf schließen, dass die transportkinetischen Vorgänge an der Diaflux-Membran im Hinblick auf die Entfernung von wasserlöslichen Substanzen über eine Zeit von 24 h nicht wesentlich beeinträchtigt werden. Somit ist der Prozess des “Membranfowlings“ am Diaflux längst nicht so ausgeprägt wie beispielsweise an der MARSflux-Membran.

Über dem Diaflux waren vergleichbare Clearanceraten für Kreatinin und Harnstoff voraussehbar. Doch wie gestalten sich die Clearanceverläufe an anderen Komponenten im Mittelkreislauf, wie z.B. über dem Aktivkohleadsorber?

4.3.1.2 Harnstoffclearance über dem Aktivkohleadsorber im Vergleich zur Kreatininclearance

Über die gesamten 24 h zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Harnstoff- und Kreatininclearancewerten. Es ist ersichtlich, dass Kreatinin nicht nur effektiv über den Diaflux aus dem MARS-System entfernt wird, sondern auch eine Eliminierung über den Aktivkohleadsorber erfolgt. Somit ist Kreatinin wie schon in Abschnitt 4.2.1.3 beschrieben für die Untersuchung der Effektivität der reinen Dialysesequenz im MARS-Kreislauf nicht geeignet.

Ein Abfall der Clearanceleistung für Kreatinin über dem Aktivkohleadsorber im 24-h-Verlauf ist hierbei vermutlich auf erreichte Kapazitätsgrenzen des Adsorbers zurückzuführen.

Harnstoff hingegen wurde fast ausschließlich über den Dialysator entfernt. Die Clearancerate für Harnstoff über dem Aktivkohleadsorber ist klinisch nicht von Bedeutung.

4.3.1.3 Auswertung der Clearancedarstellungen von Harnstoff und Kreatinin über den einzelnen Dialysatoren und Adsorbern im Zweikompartimentmodell

Zum Abnahmezeitpunkt 3 h lag die Gesamtclearance für Kreatinin über dem MARSflux deutlich über den Werten der Harnstoffclearance. Dieser Umstand ist auf die zusätzliche Eliminierung des Kreatinins über Adsorptionsvorgänge am Aktivkohlefilter zurückzuführen. Die Entfernung beider Substanzen über den Diaflux ist dabei praktisch vergleichbar. Harnstoff wurde nur effektiv durch Dialysevorgänge über den Diaflux aus dem System entfernt.

Zum Abnahmezeitpunkt 24 h war die Gesamtclearance für Kreatinin über dem MARSflux gegenüber dem 3-h-Wert gesunken. Diese Abnahme der Clearancerate über die Zeit lässt sich nicht auf eine verminderte Entfernung von Kreatinin über den Diaflux erklären, wohl aber erfolgt eine Senkung der Clearancewerte über dem Aktivkohleadsorber. Hierbei spielen Sättigungsprozesse mit dem Erreichen von Kapazitätsgrenzen des Adsorbers eine wesentliche Rolle. Somit geht die zusätzliche Entfernungskomponente für Kreatinin im MARS-System mit der Zeit verloren.

Die Clearancerate für Harnstoff bleibt im Wesentlichen im Vergleich zum Abnahmezeitpunkt 3 h beständig, d.h. die Entfernung von Harnstoff über den Diaflux im Mittelkreislauf bleibt auch über eine Zeit von 24 h konstant.

Der Anionenaustauscher war zu keinem Zeitpunkt effektiv an der Entfernung beider wasserlöslicher Stoffe beteiligt.

4.3.2 Ammoniak im Zweikompartimentmodell

4.3.2.1 Ammoniakclearance über dem Diaflux im Vergleich zur Kreatininclearance

Ammoniak spielt bei der Entwicklung der hepatischen Enzephalopathie im Leberversagen eine entscheidende Rolle [3, 164]. Diese Substanz wurde in den Versuchsreihen zum Einkompartimentmodell bislang nicht bedacht. Somit erfolgte im neuen Zweikompartimentmodell ein Vergleich der beiden wasserlöslichen Substanzen Kreatinin und Ammoniak unter kontinuierlichen Dialysatflussraten in einem Zeitraum über 24 h.

Über dem Diaflux fanden sich für die Clearanceraten von Ammoniak und Kreatinin im Zeitverlauf von 24 h keine signifikanten Unterschiede. Im gesamten Zeitrahmen verlief die Ammoniakclearance wie auch die Kreatinin- und Harnstoffclearance (siehe Abschnitt 4.3.1.1) relativ konstant. Somit erfährt auch Ammoniak über die 24 h keine Beeinträchtigung in der Entfernungsrate über den Diaflux. Daraus wird ersichtlich, dass sich die transportkinetischen Eigenschaften der Membran über die Zeit auch für Ammoniak relativ gleichbleibend darstellen.

4.3.2.2 Ammoniakclearance über dem Aktivkohleadsorber im Vergleich zur Kreatininclearance

Die Kreatininclearance über dem Aktivkohleadsorber lag während der gesamten 24 h signifikant über der Ammoniakclearance. Die Clearanceraten für Ammoniak über dem Aktivkohlefilter waren vernachlässigbar und klinisch unbedeutsam. Somit ist die Entfernung von Ammoniak mit der Eliminierung von Harnstoff aus dem MARS-Mittelkreislauf zu vergleichen. Beide Substanzen werden im Gegensatz zum auch wasserlöslichen Kreatinin nur über den Diaflux und nicht zusätzlich noch über den Aktivkohleadsorber aus dem System entfernt. Sie können somit zur Beurteilung der reinen Dialysesequenz des MARS-Verfahrens herangezogen werden.

4.3.2.3 Auswertung der Clearancedarstellungen von Ammoniak und Kreatinin über den einzelnen Dialysatoren und Adsorbern im Zweikompartimentmodell

Zum Abnahmezeitpunkt 3 h lag die Gesamtclearance für Kreatinin über dem MARS-flux deutlich über den Werten der Ammoniakclearance, da Kreatinin zusätzlich über Adsorptionsvorgänge am Aktivkohlefilter aus dem System eliminiert wird. Die Entfernung beider Substanzen über den Diaflux ist dabei praktisch vergleichbar. Ammoniak wurde nur effektiv durch Dialysevorgänge über den Diaflux aus dem System entfernt.

Die Clearancerate für Ammoniak zum Abnahmezeitpunkt 24 h bleibt im Wesentlichen im Vergleich zum 3-h-Wert unverändert, d.h. die Entfernung von Ammoniak über den Diaflux im MARS-Mittelkreislauf bleibt auch über eine Zeit von 24 h konstant. Bezogen auf den Diaflux trifft diese Aussage auch auf die Kreatininclearance zu. Insgesamt erfolgt aber mit der Zeit eine Senkung der Kreatininclearance über dem MARSflux aufgrund der beschriebenen Sättigungsvorgänge des Aktivkohleadsorbers (siehe Abschnitt 4.3.1.3).

Der Anionenaustauscher war zu keinem Zeitpunkt effektiv an der Entfernung der getesteten wasserlöslichen Substanzen Kreatinin, Harnstoff und Ammoniak beteiligt.

4.4 Fehlerbetrachtung

Neben den systematischen und zufälligen Fehlern beim Abmessen der unterschiedlichen Volumina und Testsubstanzen muss darauf hingewiesen werden, dass die Substanzgemische aufgrund der hohen Mengen, die für Experimente über eine Dauer von 24 h benötigt wurden, am Vorabend angemischt und anschließend kühl gelagert wurden. Hierbei ist besonders an die eingeschränkte Stabilität des Bilirubins zu denken.

Das verwendete Material war durch die lange Versuchsdauer stark beansprucht. Dadurch kam es in zwei Versuchsreihen zu geringfügigen Leckagen im Schlauchsystem, die schnell behoben wurden. Auch dieser Umstand kann zu leichten Konzentrationsschwankungen führen.

Weiterhin sind im Dialysat vorhandene Albuminstabilisatoren als Störfaktoren der spektrophotometrischen Messungen neben den zufälligen und systematischen Fehlern beim Pipettieren und Herstellen der Eichkurven zu nennen.

Aufgrund der entstandenen Masse an Proben der einzelnen Versuchsreihen war es logistisch nicht anders möglich als die Proben einzufrieren und zu gegebener Zeit wieder aufzutauen. Auch dieser Vorgang ist als Störfaktor für die exakte spektrophotometrische Messung der Konzentrationen anzuführen.

Bei der Berechnung der kumulativen Clearancewerte zu den Versuchen zum Zweikompartimentmodell in der Standard- und Leerversuchsreihe gingen bislang die Mittelwerte der Konzentrationen ein. Durch evtl. Ausreißer können Schwankungen der Mittelwerte zu abweichenden Clearanceergebnissen führen. In Zukunft wäre die Verwendung von Regressionswerten zu überlegen.

Die Clearanceberechnungen in Bezug auf die Einzelkomponenten (Diaflux, Aktivkohleadsorber und Anionenaustauscher) in den Experimenten zum Ein- und Zweikompartimentmodell bleiben auf die Verwendung der Momentanclearance beschränkt. Problematisch ist dieser Umstand bei hohen Flussraten, da hierbei die Konzentrationsänderung über der Komponente sehr klein ist und somit nah beim Messfehler liegt.

Natürlich spielt auch die begrenzte Anzahl der durchgeführten Versuche (3 Kreisläufe pro Versuchsreihe) in die Fehlerbetrachtung mit hinein. Diese Reglementierung erfolgte aus Kostengründen.

4.5 Fazit

Die Entwicklung neuer, realitätsnaher in-vitro Modelle ist ein wichtiger Grundbaustein zur Untersuchung und Weiterentwicklung extrakorporaler Leberunterstützungsverfahren für ein letztendlich besseres klinisches Outcome der Patienten im Leberversagen.

Bei Verwendung des alten Einkompartimentmodells lassen sich aufgrund der extrem unterschiedlichen Verteilungsräume, Eiweißbindungsraten und damit Entfernbarkeit der Toxine im Leberversagen keine globalen Aussagen über das Langzeitverhalten von wasserlöslichen und albumingebundenen Toxinen innerhalb des Körpers beim späteren ex-vivo Einsatz vorhersagen.

Das neue Zweikompartimentmodell liefert die Möglichkeit zur längerfristigen Beobachtung der Konzentrations- und Clearanceverläufe für wasserlösliche und albumingebundene Substanzen. Die transportkinetischen Vorgänge mit Entfernung und auch Nachbildung der Toxine können komplexer dargestellt werden. Somit ist auch ein erhöhter logistischer Aufwand mit genauer vorheriger Material- und Personalplanung für die zeitintensiven Experimente vertretbar.

Das Zweikompartimentmodell könnte zukünftig als Grundlage eines in-vitro Aufbaus für weiterführende Langzeitexperimente zur Testung unterschiedlicher Flussraten und deren Auswirkungen auf die Entfernungseffektivität der einzelnen Toxine im Leberversagen dienen. Auch die weitere Forschung auf dem Gebiet der Adsorber- und Membransysteme ist durch eine lange, kontinuierliche Experimentendauer gewährleistet. Die durch das Zweikompartimentmodell aufgezeigten Membraninteraktionen liefern wertvolle Hinweise für die Notwendigkeit der stetigen Weiter- und Neuentwicklung von Membransystemen für die Albumindialyse. Dadurch könnte in Zukunft die effektive Entfernung albumingebundener und wasserlöslicher Stoffe über einen längeren Zeitraum stabil gehalten und damit das Kosten-Nutzen-Risiko-Verhältnis wesentlich besser ausgeschöpft werden.

Momentan bestehen noch Defizite im Wissen um die beste Indikationsstellung, den optimalen Zeitpunkt der Applikation und die Anwendung von Behandlungsintervallen beim Einsatz von extrakorporalen Leberunterstützungsverfahren wie dem MARS. Zwar gibt es einen sehr guten Stand des Wissens in Bezug auf die Hämodialyse beim Nierenversagen. Beim komplexeren Krankheitsbild des chronischen Leberversagens aber ist noch viel Raum für weiterführende Forschungen [6].

Das Zweikompartimentmodell ist ein Schritt zur besseren Darstellung der komplexen pathophysiologischen Vorgänge im menschlichen Körper.

5 Zusammenfassung

Die Leber ist das zentrale Stoffwechselorgan im menschlichen Körper und entscheidend an der Elimination proteingebundener Stoffe beteiligt. Im Leberversagen sind Syntheseleistung, Metabolisierungsrate und Exkretionsprozesse sowie die Detoxifikationsleistung der Leber stark eingeschränkt. Die Synthese der Proteine, insbesondere des Trägerproteins Albumin, ist beeinträchtigt. Negative Auswirkungen finden sich auf den verschiedensten Stoffwechselwegen, wie z.B. dem Lipid-, Aminosäure- und Glukosestoffwechsel. Des Weiteren ergeben sich Verschlechterungen im Bereich immunologischer Funktionen und Verschiebungen des Säure-Base-Haushaltes. Durch die fehlende Metabolisierungs- und Entgiftungsfunktion der Leber erfolgt eine Anhäufung von wasserlöslichen und proteinaffinen Toxinen, die stetig endogen produziert und in den Kreislauf nachgeliefert werden. Zu den wasserlöslichen Substanzen zählt vor allem Ammoniak, welches eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung der hepatischen Enzephalopathie im Leberversagen einnimmt. In diesem Zusammenhang zu nennen sind auch Harnstoff und Kreatinin. Trotz verbesserter umfangreicher intensivmedizinischer Maßnahmen kommt es im Leberversagen durch die fehlende Entgiftungsfunktion nach wie vor zur Ansammlung von Toxinen, die nicht durch klassische Dialyseverfahren entfernbar sind. Bei diesen Toxinen handelt es sich vorwiegend um albumingebundene Substanzen wie z.B. Bilirubin und Gallensäure.

Extrakorporale Leberunterstützungsverfahren fungieren als “Brücke“ bis zur Lebertransplantation bzw. -regeneration. Gegenwärtig existieren weltweit verschiedene Blutreinigungsverfahren, deren Effektivität in Bezug auf die klinische Einsetzbarkeit zunächst anhand von in-vitro Evaluationen erforscht werden sollte.

Daher ist die Entwicklung neuer Modelle mit realitätsnaher Betrachtungsweise zur Optimierung des Effektivitäts-Risiko-Verhältnisses mit letztendlich verbessertem Outcome der Patienten im Leberversagen dringend notwendig. Eine wesentliche Frage bei der Verfahrensoptimierung ist, ob sich bei der Anwendung von Langzeitherapien gegenüber der intermittierenden Behandlung von Patienten Vorteile ergeben.

Bislang kam das klassische Einkompartimentmodell für die Untersuchung der intermittierenden Behandlung bei hohen Flussraten zum Einsatz. Es besteht aus einem 3 l fassenden rezirkulierenden Patientenkreislauf, der über eine Dialysemembran mit dem extrakorporalen Leberunterstützungssystem verbunden ist. Hierbei wird der endogenen Nachbildung von Toxinen im menschlichen Körper keine Beachtung geschenkt. Besonders aufgrund der extrem unterschiedlichen Verteilungsräume, Eiweißbindungsraten und damit Entfernbarkeit der Toxine im Leberversagen lassen sich bei diesem Modell keine globalen Aussagen über das Langzeitverhalten von wasserlöslichen und albumingebundenen Toxinen innerhalb des Körpers beim spä-

teren ex-vivo Einsatz vorhersagen. Für genauere Untersuchungen der transportkinetischen Vorgänge und der endogenen Generationsrate mit dem “Rebound-Phänomen“ stößt das Einkompartimentmodell an seine Grenzen.

Ziel dieser Arbeit war die Konstruktion eines neuen in-vitro Modells, das die endogene Nachbildungsrate der Toxine beachtet und das Nachströmen von Substanzen aus dem Gewebe in den gereinigten Blutkreislauf nachempfindbar macht. Es sollten Langzeituntersuchungen für kontinuierliche Anwendungen von Leberunterstützungsverfahren ermöglicht werden.

Auf der Grundlage von Literaturangaben und experimentellen Untersuchungen wurde die Nachbildungsrate der einzelnen Substanzen ermittelt. Anschließend wurde ein Patientenmodell entwickelt, welches aus zwei Kompartimenten bestand. Das 1 l fassende Kompartiment 1 entsprach hierbei dem Blutkreislauf eines Leberkranken und enthielt definierte Ausgangskonzentrationen der Modelltoxine. Zusätzlich wurde über einen kontinuierlichen Zustrom während der Experimente die Nachdosierung der Toxine in den Patientenkreislauf durch ein zweites Kompartiment realisiert. Dieses Modell wurde genutzt, um den Einfluss von Entgiftungsverfahren auf die Konzentrationsverläufe und Clearanceraten von Ammoniak, Kreatinin, Harnstoff, Gallensäure, Bilirubin und BSP über einen Zeitraum von 24 h zu analysieren.

Für das neue Zweikompartimentmodell wurde das MARS-Verfahren als Beispiel für ein extrakorporales Leberunterstützungssystem zur Behandlung des Patientenkreislaufs verwendet. Das Molecular Adsorbents Recirculating System (MARS) stellt dabei ein modifiziertes Dialysesystem mit einer Kombination aus konventioneller Dialyse zur Entfernung wasserlöslicher Substanzen und Einschaltung eines albuminhaltigen Mittelkreislaufs zur selektiven Entfernung albumingebundener Toxine über Adsorber dar.

Als Vergleichsgrundlage wurde das klassische “Einkompartimentmodell“ mit Nachschaltung des MARS-Verfahrens herangezogen. Zum besseren Nachweis der Effektivität des neuen Modells mit angeschlossenem MARS-Kreislauf wurde zusätzlich eine Leerversuchsreihe des Zweikompartimentmodells ohne nachgeschaltetes Entgiftungsverfahren etabliert.

Im Vergleich des Zweikompartimentmodells im Standard- und Leerversuch war die Effektivität des MARS-Verfahrens aufgrund signifikant unterschiedlicher Konzentrationsverläufe der einzelnen Substanzen ersichtlich. Es wird deutlich, dass es ohne ein extrakorporales Leberunterstützungsverfahren im neu entwickelten Zweikompartimentmodell zum stetigen Anstieg der Toxinkonzentrationen im “Patientenplasma“ kommt.

Hierbei wurde die kumulative Clearance über bestimmten Zeitabschnitten eingeführt und mit der herkömmlichen Momentanclearance verglichen. Die Momentanclearance ist durch Verklebungsprozesse der Membran, Adsorptionsvorgänge der Moleküle und geringe Konzentrationsänderungen zwischen dem Ein- und Auslauf der Membran in

ihrer Aussagefähigkeit stark eingeschränkt. Die kumulative Clearance liefert realitätsbezogenere Daten, da die Abnahme der Werte über einen gesamten Zeitabschnitt zuverlässigere Konzentrationsunterschiede liefert.

Die wasserlöslichen Substanzen Harnstoff und Ammoniak wurden ausschließlich über Dialyse aus dem System entfernt. Für Kreatinin wurde zusätzlich die Adsorption an den Aktivkohleadsorber des MARS-Kreislaufs nachgewiesen. Damit ist Kreatinin zur Etablierung der Effektivität der reinen Dialysesequenz im MARS-Kreislauf ungeeignet.

Die Clearancebestimmung für wasserlösliche Substanzen wie z.B. Kreatinin war im alten Modell über längere Zeiträume nicht möglich, da eine zu schnelle Abreicherung im geschlossenen Patientenkreislauf für nicht-albumingebundene Toxine durch Dialysevorgänge beobachtet wurde. Damit fehlen bei diesem Modell die notwendigen Informationen zur Berechnung klinisch gültiger Clearanceraten. Erst mit dem neuen Modell konnten durch kontinuierliche Zudosierung der Stoffe längerfristige Beobachtungen der Konzentrationsverläufe und daraus die Berechnung von Clearanceraten über 24 h erfolgen.

Somit war die teilweise unerwartete Absenkung der Clearance für wasserlösliche und albumingebundene Substanzen über eine Zeit von 24 h beobachtbar. Diese Clearanceabnahme ist ein Anhalt für irreversible strukturelle Veränderungen der Membraneigenschaften bei der Albumindialyse, die vermutlich auf der Dialysatseite des “Thin Layers“ stattfinden. Neben den Prozessen des “Membranfowlings“ ist bei den sinkenden Clearanceraten auch an eine Abnahme der Adsorberleistung durch Erreichen der Kapazitätsgrenzen zu denken.

Diese durch das neu entwickelte Modell offen gelegten Mechanismen suggerieren die Notwendigkeit der Entwicklung verbesserter Adsorber und neuer Membranen für die Albumindialyse, bei denen irreversible Veränderungen der dialysatseitigen “Thin Layer“-Schicht unterbunden werden. Dadurch könnte die Effektivität der Entfernung albumingebundener und wasserlöslicher Gifte länger stabil gehalten und damit das Kosten-Nutzen-Risiko-Verhältnis wesentlich besser ausgeschöpft werden.

Das Zweikompartimentmodell ist ein Schritt zur besseren Darstellung der komplexen pathophysiologischen Vorgänge im menschlichen Körper.

6 Literaturverzeichnis

1 Adachi Y, Kambe A, Yamashita M, Yamamoto T (1991): Bilirubin diglucuronide as the main source for in vitro formation of delta bilirubin. J Clin Lab Anal 5(5): 331-334

2 AG Detoxifikation: Das Projekt MARS - Molecular Adsorbents Recirculating System. www.uni-rostock.de/fakult/medfak/kim/agex/deutsch/projekte/start

3 Albrecht J, Jones EA (1999): Hepatic encephalopathy: molecular mechanisms underlying clinical syndrome. J Neurol Sci 170 (2): 138-146

4 Amarapurkar DN, Dhawan P, Kalro RH (1994): Role of routine estimation of creatinine clearance in patients with liver cirrhosis. Indian journal of gastroenterology 13 (3): 79-82

5 Angelin B, Björkhem I, Einarsson K, Ewerth S (1982): Hepatic uptake of bile acids in man: Fasting and postprandial concentrations of individual bile acids in portal and systemic blood serum. J Clin Invest 70: 724-731

6 Arroyo V, Fernandez J, Mas A, Escorsell A (2008): Molecular Adsorbents Recirculating System (MARS) and the failing liver: a negative editorial for a positive trial? Hepatology 47 (6): 2143-2144

7 Bachli EB, Schuepbach RA, Maggiorini M, Stocker R, Müllhaupt B, Renner EL (2007): Artificial liver support with the molecular adsorbent recirculating system: activation of coagulation and bleeding complications. Liver Int 27 (4): 475-484

8 Baker KJ, Bradley SE (1966): Binding of Sulfobromophthalein (BSP) sodium by plasma albumin. Its role in hepatic BSP extraction. J clin Invest 45: 281-287

9 Bartels H, Bohmer M, Heierli C (1972): Serum creatinine determination without protein precipitation. Clin Chim Acta 37: 193-197

10 Belanger M, Asashima T, Ohtsuki S, Yamaguchi H, Ito S, Terasaki T (2007): Hyperammonemia induces transport of taurine and creatine and suppresses claudin-12 gene expression in brain capillary endothelial cells in vitro. Neurochem int 50 (1): 95-101

11 Belanger M, Desjardins P, Chatauret N, Butterworth RF (2006): Selectively increased expression of astrocytic/ endothelial glucose transporter protein GLUT1 in acute liver failure. Glia 53 (5): 557-562

12 Bitro MA, Silva R, Tiribelli C, Brites D (2000): Assessment of bilirubin toxicity to erythrocytes. Implication in neonatal jaundice management. Eur J Clin Invest 30 (3): 239-247

13 Bowmer CJ, Donoghue PG, Leong CF, Yates MS (1985): Effect of bile acids on the binding of drug and dyes to serum albumin. The journal of pharmacy and pharmacology 37 (11): 812-815

14 Brodersen R (1982): Physical chemistry of bilirubin: binding to macromolecules and membranes. Bilirubin. Vol 1. Chemistry, Edited by: Heirwegh KPM and Brown SB. Boca Raton, FL, CRC Press: 75-123

15 Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz (1999): Textbook of clinical chemistry. 3. Auflage, W.B Saunders Company, Philadelphia: 1838

16 Cadranel JF, Dumont M, Mesa VA, Degott C, Touchard D, Erlinger S (1991): Effect of chronic administration of cyclosporine A on hepatic uptake and biliary secretion of bromosulfophthalein in rat. Dig Dis Sci 36 (2): 221-224

17 Calmus Y (1995): Effect of cheno- and ursodeoxycholic acids on the effectors of cellmediated immunity. Abstracts Falk Symposium No. 86. Bile Acids and Immunology. Basel, 1995: 31-32

18 Carter DC, Ho JX (1994): Structure of serum albumin. Adv Prot Chem 45: 153-204

19 Ceryak S, Bouscarel B, Fromm H (1993): Comparative binding of bile acids to serum lipoproteins and albumin. Journal of lipid research 34 (10): 1661-1674

20 Chatauret N, Desjardins P, Zwingmann C, Rose C, Rao K, Butterworth R (2006): Direct molecular and spectroscopic evidence for increased ammonia removal capacity of skeletal muscle in acute liver failure. J hepatology 44 (6): 1083-1088

21 Chawla LS, Georgescu F, Abell B, Seneff MG, Kimmel PL (2005): Modification of continuos venovenous hemofiltration with single-pass albumin dialysate allows for removal of serum bilirubin. American J of kidney diseases 45 (3): 51-56

22 Chiu A, Chan LM, Fan ST (2006): Molecular adsorbent recirculating system treatment for patients with liver failure: the Hong Kong experience. Liver Int 26 (6): 695-702

23 Chiu A, Fan ST (2006): MARS in the treatment of liver failure: Controversies and evidence. Int J Artif Organs 29 (7): 660-667

24 Chuttani HK, Gupta PS, Gulati S, Gupta DN (1965): Acute copper sulphate poisoning. Am J Physiol 39: 849-854

25 Clark R, Rake MO, Flute PT, Williams R(1973): Coagulation abnormalities in acute liver failure; pathogenetic and therapeutic implications. Scand J Gastroenterol Suppl 19: 63

26 Classen M, Diehl V, Kochsiek K (1993): Innere Medizin. 2. Aufl. München: Urban & Schwarzenberg

27 Cohen RD (1991): Roles of the liver and kidney in acid-base regulation and its disorders. British J of Anaesthesia 67: 154-164

28 Colon AR, Pardo V, Sandberg DH (1974): Experimental Reyes Syndrome induced by viral potentiation of chemical toxin. Reyes Syndrome (JD Pollak, Ed.) Grune and Stratton, New York: 194-214

29 Coon WW, Iob VL (1964): The liver and protein metabolism. Major Probl Clin Surg 1: 127

30 Cooper AJL (1993): Ammonia metabolism in mammals: Interorgan relationships. Adv Exp Biol Med 341: 21-37

31 Cordoba J, Blei AT, Mujais S (1996): Determinants of ammonia clearance by hemodialysis. Artif Organs 20 (7): 800-803

32 Crawford JM, Ransil BJ, Narciso JP, Gollan JL (1992): Hepatic microsomal bilirubin UDP-glucuronyltransferase. The kinetics of bilirubin mono- and diglucuronide synthesis. J Biol Chem 267: 16943-16950

33 David E, Johnston MD (1999): Special considerations in interpreting liver function tests. American Family Physician 59 (8): 2223-2230

34 De S, Das S, Girigoswami A (2007): Spectroscopic probing of bile salt-albumin interaction. Colloids and surfaces. Biointerfaces 54 (1): 74-81

35 Dejong CH, Deutz NE, Soeters PB (1996): Ammonia and glutamine metabolism during liver insufficiency: the role of kidney and brain in interorgan nitrogen exchange. Scandinavian journal of gastroenterology Suppl. 218: 61-77

36 Dennebaum R (2000): Galle. Labor und Diagnose, 5. Auflage, TH-Books-Verlagsgesellschaft: 1374-1377

37 Detry O, De Roover A, Honore P, Meurisse M (2006): Brain edema and intracranial hypertension in fulminant hepatic failure: pathophysiology and management. World J Gastroenterol 12 (46): 7405-7412

38 Doumas BT, Watson WA, Biggs HG (1971): Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. Clin Chim Acta 31: 87-96

39 Eguchi S, Sugiyama N, Kawazoe Y, Kawashita Y, Fujioka H, Furui J, Kanematsu T (1998): Total blood exchange suppresses the early stage of liver regeneration following partial hepatectomy in rats. Artif Organs 22: 847-853

40 Eng FJ, Friedmann SJ (2000): Fibrogenesis I. New insights into hepatic stellate cell activation: the simple becomes complex. Am J Physiol 279: G7-G11

41 Farrell PC (1983): Kinetic modeling: Applications in renal and related diseases. Kid Int 24: 487-495

42 Fausto N (2000): Liver regeneration. J Hepatol 32: 19-31

43 Felipo V, Butterworth RF (2002): Neurobiology of ammonia. Prog Neurobiol. 67 (4): 259-279

44 Ferenci P, Kramer L (2007): MARS and the failing liver-any help from the outer space? Hepatology 46 (6): 1682-1684

45 Feuer G, Di Fonzo CJ (1992): Intrahepatic cholestasis: a review of biochemical-pathological mechanisms. Drug Metabol Drug Interact 10: 1-161

46 Foliot A, Touchard D, Celier C (1984): Impairment of hepatic glutathione S-transferase activity as a cause of reduced biliary sulfobromophthalein excretion in clofibrate-treated rats. Biochem Pharmacol 33 (18): 2829-2834

47 Franz HE (1990): Blutreinigungsverfahren Technik und Klinik Hämodialyse, CAPD, CCPD, Hämofiltration, Hämoperfusion, Plasmapherese. 4. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart, New York

48 Fujuyama N, Suitara Y, Ito K, Masubuchi Y, Horie T (2007): Down-regulation of hepatic transporters for BSP in rats with indomethacin-induced intestinal injury. Bio Pharm Bull 30 (3): 556-561

49 Gabriel JP, Fellay G, Descombes E (1994): Urea kinetic modeling: An in vitro and in vivo comparative study. Kid Int 46: 789-796

50 Gaspari R, Avolio AW, Zileri Dal Verme L, Agnes S, Proietti R, Castagneto M, Gasbarrini A (2006): Molecular adsorbent recirculating system in liver transplantation: Safety and efficacy. Transplant Proc 38 (10): 3544-3551

51 Ghinea N, Fixman A, Alexandru D, Popov D, Hasu M, Ghitescu L, Eskenasy M, Simionescu M, Simionescu N (1988): Identification of albumin-binding proteins in capillary endothelial cells. The J of cell biology 107: 231-239

52 Ghitescu L, Fixman A, Simionescu M, Simionescu N (1986): Specific binding for albumin restricted to plasmalemmal vesicles of continuous capillary endothelium: Receptor-mediated trancytosis. The J of Cell Biology 102: 1304-1311

53 Gollan JL, Billing BH, Huang SN (1976): Ultrastructural changes in the isolated rat kidney induced by conjugated bilirubin and bile acids. Br J Exp Path 57: 571-581

54 Granato A, Gores G, Vilei MT, Tolando R, Ferraresso C, Muraca M (2003): Bilirubin inhibits bile acid induced apoptosis in rat hepatocytes. Gut 52 (12): 1774-1778

55 Häussinger D (1989): Glutamine metabolism in the liver: Overview and current concepts. Metabolism 38 (Suppl 1): 14-17

56 Häussinger D, Sies H (1989): Hepatic glutamine metabolism under the influence of portal ammonia concentration in the perfused rat liver. Eur J Biochem 101: 179-184

57 Häussinger D, Steeb R, Gerok W (1990): Ammonium and bicarbonate homeostasis in chronic liver disease. Klinische Wochenschrift 68: 175-182

58 Halperin ML, Jungas RL, Cheema-Dhadli S, Brosnan JT (1987): Disposal of the daily acid load: an integrated function of the liver, lungs and kidneys. Trends in Biological Sciences 12: 197-199

59 Hamphries BA, Melnychuk M, Donegan EJ, Snee RD (1979): Automated enzymatic assay for plasma ammonia. Clin Chem 25 (1): 26-30

60 Hansen TWR, Bratlid D, Walaas SI (1988): Bilirubin decreases phosphorylation of synapsin I, a synaptic vesicle associated neuronal phosphoprotein, in intact synaptosomes from rat cerebral cortex. Pediatr Res 23: 219-223

61 Hansen TWR, Paulsen O, Gjerstad L, Bratlid D (1988): Short-term exposure to bilirubin reduces synaptic activation in rat transverse hippocampal slices. Pediatr Res 23: 453-456

62 Hassanein TI, Tofteng F, Brown RS Jr, McGuire B, Lynch P, Mehta R, Larsen FS, Gornbein J, Stange J, Blei AT (2007): Randomized controlled study of extracorporeal albumin dialysis for hepatic encephalopathy in advanced cirrhosis. Hepatology 46(6): 1853-1862

63 Heemann U, Treichel U, Look J, Philipp T, Gerken G, Malago M, Klammt S, Loehr M, Liebe S, Mitzner S, Schmidt R, Stange J (2002): Albumin dialysis in cirrhosis with superimposed acute liver injury: A prospective, controlled study. Hepatology 36 (4): 949-958

64 Higashijima H, Yamashita H, Makinol, Kuroki S, Chijiiwa K, Tanaka M (1996): Significance of serum delta bilirubin during obstructive jaundice in dogs. The Journal of surgical research 66 (2): 119-124

65 Highleyman L (2004): Artificial liver support systems. HCV Advocate 7 (11): 1-4

66 Hoffmann DJ, Zanelli SA, Kubin J, Mishra OP, Delivoria-Papadopoulos M (1996): The in vivo effect of bilirubin on the N-methyl-D-aspartate receptor / ion channel complex in the brains of newborn piglets. Pediatr Res 40: 804-808

67 Hofmann AF (1995): Influence of bile acid structure on intracellular transport, metabolism and secretion. Abstracts Falk Symposium No. 86. Bile Acids and Immunology. Basel, 1995: 13

68 Hofmann AF (1976): The enterohepatic circulation of bile acids in man. Adv Intern Med 21: 501-534

69 Ito F, Ando H, Watanabe Y, Ito T (1995): Serum bilirubin fractions in cholestatic pediatric patients: determination with Micronex high-performance liquid chromatography. J Pediatr Surg 30: 596-599

70 Jabary NS, Martin D, Munoz MF, Santos M, Herruzo J, Gordillo R, Bustamante J (2006): Renal function in patients with essential hypertension. Nefrologia 26 (1): 64-73

71 Janes CH, Dickson ER, Okazaki R, Bonde S, McDonagh AF, Riggs BL (1995): Role of hyperbilirubinemia in the impairment of osteoblast proliferation associated with cholestatic jaundice. J Clin Invest 95: 2581-2586

72 Kashiwagura T, Deutsch CJ, Taylor J, Erecinska M, Wilson DF (1984): Dependence of gluconeogenesis, urea synthesis, and energy metabolism of hepatocytes on intracellular pH. The J of Biological Chemistry 259 (1): 237-243

73 Katoh-Semba R, Kashiwamata S (1980): Interaction of bilirubin with brain capillaries and its toxicity. Biochim. Biophys. Acta 632: 290-297

74 Kirschner-Zilber I, Rabizadeh E, Shaklai N (1982): The interaction of hemin and Bilirubin with the human red cell membrane. Biochim Biophys Acta 690: 20-30

75 Klammt S, Majcher-Peszynska J, Peszynski P, Schneider T, Wacke R, Mundkowski R, Stange J, Mitzner S, Drewelow B (2004): Albumin dialysis with the Molecular adsorbents recirculating System (MARS) for liver support- Impact on pharmacokinetics of strongly and less albumin bound drugs. Poster presentation 2004 Annual Meeting of the Arbeitsgemeinschaft für angewandte Humanpharmakologie, Berlin, Germany, 29.2-2.3.2004

76 Kozaki N, Shimizu S, Higashima H, Kuroki S, Yamashita H, Yamaguchi K, Chijiwa K, Tanaka M (1998): Significance of serum delta-bilirubin in patients with obstructive jaundice. J Surg Res 79: 61-65

77 Krähenbühl S, Talos C, Fischer S, Reichen J (1994): Toxicity of bile acids on the electron transport chain of isolated rat liver mitochondria. Hepatology 19 (2): 471-479

78 Kragh-Hansen U (1991): Octanoate binding to the indole- and benzodiazepine binding region of human serum albumin. Biochem J 273: 641-644

79 Kramer L (2005): Extrakorporale Leberunterstützungsverfahren. Journal für Gastroenterologische und Hepatologische Erkrankungen 3 (2): 13-16

80 Kramer L, Gendo A, Madl C, Ferrara I, Funk G, Schenk P, Sunder-Plassmann G, Horl WH (2000): Biocompatibility of a cuprophane charcoal-based detoxification device in cirrhotic patients with hepatic encephalopathy. Am J Kidney Dis 36: 1193-2000

81 Krisper P, Haditsch B, Stauber R, Jung A, Stadlbauer V, Trauner M, Holzer H, Schneditz D (2005): In vivo quantification of liver dialysis: comparison of albumin dialysis and fractionated plasma separation. J Hepatol 43 (3): 451-457

82 Krisper P, Stauber RE (2007): Technology insight: artificial extracorporeal liver support-how does Prometheus compare with MARS? Nat Clin Pract Nephrol 3 (5): 267-276

83 Kühn HA, Wernze H (1988): Leber- und Gallenwegserkrankungen: Grundbegriffe, Diagnostik, Therapie, Begutachtung, Übersichtstabellen. Thieme, Stuttgart, New York, 2-72

84 Kurtzhals P, Havelund S, Jonassen I, Kiehr B, Larsen UD, Ribel U, Markussen J (1995): Albumin binding of insulins acylated with fatty acids: characterization of the ligand-protein interaction and correlation between binding affinity and timing of the insulin effect in vivo. Biochem J 312: 725-731

85 Lam NP, Sperelakis R, Kuk J, Seeger JD, Lau AH (1999): Rapid estimation of creatinine clearances in patients with liver dysfunction. Digestive diseases and sciences 44 (6): 1222-1227

86 Langsdorf LJ, Krankel LG, Zydney AL (1993): Effect of blood-membrane interactions on solute clearance during hemodialysis. ASAIO Journal 39 (3): 767-772

87 Langsdorf LJ, Zydney AL (1994): Effect of blood contact on the transport properties of hemodialysis membranes: a two-layer membrane model. Blood Purif 12 (6): 292-307

88 Le O, Beaudet MF, Youssef I, Paradis K (1995): Influence of ursodeoxycholic acid on immune regulatory cells. Abstracts Falk Symposium No. 86. Bile Acids and Immunology. Basel, 1995: 30

89 Leuschner U, Guldutuna S, Bhatti S, Elze A, Imhof M, You T, Zimmer G (1995): TUDCA and UDCA are incorporated into hepatocyte membranes: different sites, but similar effects. Ital J Gastroenterol 27: 376-377

90 Lin C, Tsai I, Ho Y, Huang C, Lin Y, Lin C, Tseng S, Lin W, Chen W, Sheen I (2007): Endotoxemia contributes to the immune paralysis in patients with liver cirrhosis. J Hepatol 46 (5): 816-826

91 MacAuley J, Thompson K, Kiberd BA, Barnes DC, Peltekian KM (2006): Serum creatinine in patients with advanced liver desease is of limited value for identification of moderate renal dysfunction: are the equations for estimating renal function better? Canadian journal of gastroenterology 20 (8): 521-526

92 Mammen EF (1994): Coagulation defects in liver disease. Med. Clin. North Am. 78: 545-554.

93 Marshall WJ (1989): Illustrated textbook of clinical chemistry. 4. Auflage, Gower Medical Publishing, London: 207-218

94 Matkowitz R, Hartig W, Junghans P, Slowig M, Bornhak H, Faust H, Hirschberg K, Jung K (1984): Protein turnover in liver failure - determination using the stable isotope 15N. Leber Magen Darm 14: 83

95 Matthew H (1973): Acute acetaminophen poisoning. Clin Toxicol 6: 9

96 Mayor FJr, Díez-Guerra J, Valdivieso F, Mayor F (1986): Effect of bilirubin on the membrane potential of rat brain synaptosomes. J Neurochem 47: 363-369

97 Meakins TS, Jackson AA (1996): Salvage of exogenous urea nitrogen enhances nitrogen balance in normal men consuming marginally inadequate protein diets. Clin Sci (Colch.) 90: 215-225

98 Mijac D, Kezić A, Stojimirović B (2007): Hepatorenal syndrome. Srp Arh Celok Lek 135 (1-2): 98-104

99 Mitzner SR, Stange J, Klammt S, Risler T, Erley CM, Bader BD, Berger ED, Lauchart W, Peszynski P, Freytag J, Hickstein H, Loock J, Löhr JM, Liebe S, Emmrich J, Korten G, Schmidt R (2000): Improvement of hepatorenal syndrome with extracorporeal albumin dialysis MARS: results of a prospective, randomized, controlled clinical trial. Liver Transpl 6 (3): 277-286

100 Mizobe M, Kondo F, Toyoshima C, Kumamoto K, Terada T, Nasu H (1996): Rapid analysis of four bilirubins in domestic animal sera using high-performance liquid chromatography. The journal of veterinary medical science 58 (6): 495-509

101 Mizoe A, Fujioka H, Kamohara Y, Watanabe Y, Azuma T, Kanematsu T (1999): The significance of measuring the serum total bile acids levels during orthotopic liver transplantation. Hepatogastroenterology 46 (28): 2454-2459

102 Mondzac A, Ehrlich GE, Seegmiller JE (1965): An enzymatic determination of ammonia in biological fluids. J Lab Clin Med 66: 526

103 Morti SM, Zydney AL (1998): Protein-membrane interactions during hemodialysis: Effects on solute transport. ASAIO Journal 44 (4): 319-326

104 Munoz SJ, Maddrey WC (1988): Major complications of acute and chronic liver disease. Gastroenterol Clin North Am 17: 265

105 Nakagami T, Toyomura K, Kinoshita T, Morisawa S (1993): A beneficial role of bile pigments as an endogenous tissue protector: anti-complement effects of biliverdin and unconjugated bilirubin. Biochim Biophys Acta 1158: 189-193

106 Neale G, Lewis B, Weaver V, Panveliwalla D (1971): Serum bile acids in liver disease. Gut 12: 145-152

107 Neuzil J, Stocker R (1993): Bilirubin attenuates radikal-mediated damage to serum albumin. FEBS Lett 331: 281-284

108 Noctor TAG, Wainer IW, Hage DS (1992): Allosteric and competitive displacement of drugs from human serum albumin by octanoic acid, as revealed by high-performance liquid affinity chromatography, on a human serum albuminbased stationary phase. J Chromatogr 577: 305-315

109 Ochoa ELM, Wennberg RP, An Y, Tandon T, Takashima T, Nguyen T, Chui A (1993): Interactions of bilirubin with isolated presynaptic nerve terminals: functional effects on the uptake and release of neurotransmitters. Cell Mol Neurobiol 13: 69-86

110 O´Grady JG, Gimson AE, O´Brien CJ, Pucknell A, Hughes RD, Williams R (1988): Controlled trials of charcoal hemoperfusion and prognostic factors in fulminant hepatic failure. Gastroenterology 94: 1186-1192

111 Olde Damink SW, Deutz NE, Dejong CH, Soeters PB, Jalan R (2002): Interorgan ammonia metabolism in liver failure. Neurochem Int 41 (2-3): 177-188

112 Opolon P (1983): Extracorporeal assist during fulminant hepatic failure: Aims and limits. Eur J Clin Invest 13: 3-4

113 Opolon P, Rapin JR, Huguet C, Granger A, Delorme ML, Boschat M, Sausse A (1976): Hepatic failure coma (HFC) treated by polyacrylonitrile membrane (PAN) hemodialysis (HD). Trans Am Soc Artif Int Organs 22: 701-710

114 Orlando R, Floreani M, Padrini R, Palatini P (1999): Evaluation of measured and calculated creatinine clearance as glomerular filtration markers in different stage of liver cirrhosis. Clinical nephrology 51 (6): 341-347

115 Osawa S, Sugo S, Yoshida T, Yamaoka T, Nomura F (2006): An assay for separating and quantifying four bilirubin fractions in untreated human serum using isocratic high-performance liquid chromatography. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry 366 (1-2): 146-155

116 Ott P, Clemmesen O, Larsen FS (2005): Cerebral metabolic disturbances in the brain during acute liver failure: from hyperammonemia to energy failure and proteolysis. Neurochem int 47 (1-2): 13-18

117 Ott P, Larsen FS (2004): Blood - brain barrier permeability to ammonia in liver failure: a critical reappraisal. Neurochem int 44 (4): 185-198

118 Pedrini LA, Zereik S, Rasmy S (1988): Causes, kinetics and clinical implications of post-hemodialysis urea rebound. Kid Int 34: 817-824

119 Pereira LM, Langley PG, Hayllar KM, Tredger JM, Williams R (1992): Coagulation factor V and VIII/V ratio as predictors of outcome in paracetamol induced fulminant hepatic failure: relation to other prognostic indicators. Gut 33: 98

120 Peszynski P, Klammt S, Peters E, Mitzner S, Stange J, Schmidt R (2002): Albumin dialysis: single pass vs. recirculation (MARS). Liver 22 (2): 40-42

121 Peters T (1996): All about albumin: biochemistry, genetics and medical applications. Academic Press, San Diego: 54-75

122 Peyrin E, Guillaume YC, Guinchard C (1999): Characterization of solute binding at human serum albumin site II and its geometry using a biochromatographic approach. Biophysical Journal 77: 1206-1212

123 Pinkerton TC, Koeplinger KA (1990): Determination of warfarin-human serum albumin protein binding parameters by an improved Hummel-Dreyer high-performance liquid chromatographic method using internal surface reversed-phase columns. Anal Chem 62: 2114-2122

124 Povzun SA (1993): The diagnosis of acute liver failure in the surgical clinic. Vestn Khir Im II Grek 151: 93

125 Powell LW, Dunicliff MA, Billing BH (1968): Red cell survival in experimental cholestatic jaundice. Br J Haemat 15: 429-435

126 Proulx NL, Akbari A, Garg AX, Rostom A, Jaffey J, Clark HD (2005): Measured creatinine clearance from timed urine collections substantially overestimates glomerulär filtration rate in patients with liver cirrhosis: a systemic review and individual patient meta-analysis. Nephrology, dialysis, transplantation 20 (8): 1617-1622

127 Record CO, Iles RA, Cohen RD, Williams R (1975): Acid-base and metabolic disturbances in fulminant hepatic failure. Gut 16: 144

128 Reed R, Burrington CM (1989): The albumin receptor effect may be due to a surface-induced conformational change in albumin. The J of Biological Chemistry 264 (17): 9867-9872

129 Reinehr R, Becker S, Eberle A, Graf D, vom Dahl S, Häussinger D (2007): Hydrophobe Gallensalze aktivieren die NADPH-Oxidase und die CD95-vermittelte hepatozelluläre Apoptose über endosomale Azidifizierung. Z Gastroenterol 2007: 45

130 Rifai K, Manns MP (2006): Review article: clinical experience with Prometheus. Therapeutic apharesis and dialysis 10 (2): 132-137

131 Robert ES, Farook J (1999): Effect of liver disease and transplantation on urea synthesis in humans: relationship to acid-base status. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 276: 1145-1152

132 Robinson PJ, Rapoport SI (1987): Binding effect of albumin on uptake of bilirubin by brain. Pediatrics 79: 553-558

133 Rose BD (1994): Clinical physiology of acid-base and electrolyte disorders. McGraw-Hill 4. Aufl., New York

134 Rubaltelli FF, Granati B, Fortunato A (1982): Inhibitory effect of bilirubin and photobilirubin on neonatal and adult T-lymphocytes and granulocytes. Biol Neonate 42: 152-158

135 Sabordo L, Sallustio BC, Evans AM, Nation RL (1999): Hepatic Disposition of the Acyl Glucuronide1-O-Gemfibrozil-ß-D-Glucuronide: Effect of Dibromosulfophthalein on membrane transport and Aglycone Formation. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics 288 (2): 414-420

136 Seda HW, Gove CD, Hughes RD, Williams R (1984): Inhibition of partially purified rat brain Na+-, K+-dependent ATPase by bile acids, phenolic acids and endotoxin. Clinical science 66 (4): 415-420

137 Seligson D, Marino J, Dodson E (1957): Determination of bromosulfophthalein in serum. Clin Chem 3: 638-645

138 Sherding RG (1985): Acute hepatic failure. Vet Clin North Am Small Anim Pract 15: 119

139 Soto A, Foy BD, Frazier JM (2002): Effect of cadmium on bromosulfophthalein kinetics in the isolated perfused rat liver system. Toxicological Sciences 69: 460-469

140 Sprenger KBG, Kratz W, Lewis AE, Stadtmüller U (1983): Kinetic modeling of hemodialysis, hemofiltration and hemodiafiltration. Kid Int 24: 143-151

141 Stange J, Mitzner SR, Risler T, Erley CM, Lauchart W, Goehl H, Klammt S, Peszynski P, Freytag J, Hickstein H, Löhr M, Liebe S, Schareck W, Hopt UT, Schmidt R (1999): Molecular adsorbent recycling system (MARS): clinical results of a new membrane-based blood purification system for bioartificial liver support. Artif Organs 23 (4): 319-330

142 Strange RC (1984): Hepatic bile flow. Physiological reviews 64 (4): 1055-1102

143 Sundberg MW, Lauff JJ, Weiss JS, Dappen GM, Wu TW, Spayd RW, Seligson D (1984): Estimation of unconjugated, conjugated, and “delta” bilirubin fractions in serum by use of two coated thin films. Clinical Chemistry 30: 1314-1317

144 Szalay L, Andréka P, Fehér J (1995): A hepaticus encephalopathia kezelése. [Behandlung der hepatischen Encephalopathie]. Orv Hetil 136: 881-887

145 Taube M, Elliot P, Ellis H (1988): Toxicity of bilirubin and bilirubin diglucuronide to rat tissue culture fibroblasts. Eur Surg Res 20: 190-194

146 Thomas L (2000): Harnstoff-N. Labor und Diagnose, 5. Auflage, TH-Books-Verlags-gesellschaft: 384-387

147 Thomas L (2000): Kreatinin. Labor und Diagnose, 5. Auflage, TH-Books-Verlags-gesellschaft: 376-384

148 Thomas L (2000): Labor und Diagnose, 5. Auflage, TH-Books-Verlagsgesellschaft: 197-207

149 Tominaga S, Watanabe A, Tsuji T (1991): Synergistic role of bile acids, endotoxin and ammonia on brain edema. Metabolic brain disease 6 (2): 93-105

150 Torres AM, Kaplowitz N, Tiribelli C (1994): Role of BSP/bilirubin binding protein and bilitranslocase in glutathione uptake in rat basolateral liver plasma membrane vesicles. Biochemical and biophysical research communications 200 (2): 1079-1085

151 Ullmann R, Bonitz K (1976): Vollmechanisierte kinetische. Messung von Kreatinin. Med Labor 29: 137-145

152 Vaquero J, Chung C, Cahill ME, Blei AT (2003): Pathogenesis of hepatic encephalopathy in acute liver failure. Semin Liver Dis 23 (3): 259-269

153 Vassilopoulou-Sellin R, Rey-Bear Y, Ojedeji CO (1990): Bilirubin as an inhibitor of cartilage metabolism. J Bone Miner Res 5: 769-774

154 Wasmuth HE, Kunz D, Yagmur E, Timmer-Stranghoner A, Vidacek D, Siewert E, Bach J, Geier A, Purucker EA, Gressner AM, Matern S, Lammert F (2005): Patients with acute on chronic liver failure display “sepsis-like” immune paralysis. J Hepatol 42 (2): 195-201

155 Wennberg RP (1988): The importance of free bilirubin acid salt in bilirubin uptake by erythrocytes and mitochondria. Pediatr Res 23: 443-447

156 Westwood A (1991): The analysis of bilirubin in serum. Ann Clin Biochem 28: 119-130

157 Whelan G, Hoch J, Combes B (1970): A direct assessment of the importance of conjugation for biliary transport of sulfobromophthalein sodium. J Lab Clin Med 75: 542-557

158 Whiteley P, Waring R, Williams L, Klovrza L, Nolan F, Smith S, Farrow M, Dodou K, Lough WJ, Shattock P (2006): Spot urinary creatinine excretion in pervasive developmental disorders. Pediatrics International 48 (3): 292-297

159 Wiwanitkit V (2007): Energy change in the formation of conjugated bilirubin: a possible responsive mechanism for liver cell pathology. Rev Esp Enferm Dig (Madrid) 99 (2): 94-95

160 Wright G, Jalan R (2007): Management of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. Best Pract Res Clin Gastroenterol 21 (1): 95-110

161 Yam J, Reeves M, Roberts RJ (1976): Comparison of sulfobromophthalein (BSP) and sulfobromophthalein glutathione (BSP-GSH) disposition under conditions of altered liver function and in the isolated perfused rat liver. J Lab Clin Med 87 (3): 373-383

162 Zimmermann HJ, Ishak KG (1982): Valproate - induced hepatic injury: analyses of 23 fatal cases. Hepatology 2: 591

163 Ziolko M, Pietrzyk JA, Grabska-Chrzastowska J (2000): Accuracy of hemodialysis modeling. Kid Int 57: 1152-1163

164 Zwingmann C, Butterworth R (2005): An uptake on the role of brain glutamine synthesis and its relation to cell specific energy metabolism in the hyperammonemic brain: further studies using NMR spectroscopy. Neurochem int 47 (1-2): 19-30

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

ATP	Adenosintriphosphat
BSP	Bromosulfophthalein
c	Konzentration
Cl	Clearance
CO_2	Kohlendioxid
Da	Dalton
Ein-KM	Einkompartimentmodell
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
h	Stunde
HCO_3^-	Bikarbonation
MARS	Molecular Adsorbents Recirculating System
min	Minute
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
Na^+-K^+-ATPase	Natrium-Kalium-Adenosintriphosphatase
NH_3	Ammoniak
NH_4^+	Ammoniumion
n.l.	nicht lösbar
n.s.	nicht signifikant
SA	Standardabweichung
t	Zeit
UDP	Uridildiphosphat
Zwei-KM	Zweikompartimentmodell

7.2 Messwertetabellen

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	100,00 ± 0,00	83,51 ± 4,34	71,22 ± 4,78	68,44 ± 4,43	70,11 ± 2,88	70,89 ± 3,70	76,20 ± 4,52
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	100,00 ± 0,00	132,94 ± 1,20	160,64 ± 6,33	197,86 ± 1,42	247,86 ± 6,66	276,48 ± 8,01	433,96 ± 4,18
Signifikanz	n.s.	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	85,33 ± 6,55	87,11 ± 8,07	89,89 ± 8,02	95,31 ± 14,79
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	594,98 ± 6,86	735,69 ± 17,83	846,55 ± 22,47	1020,63 ± 29,68
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Tabelle A1: Kreatininkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartiment-modells im Standard- und Leerversuch über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	100,00 ± 0,00	92,89 ± 7,64	95,99 ± 8,28	98,77 ± 10,14	101,95 ± 8,85	105,75 ± 8,63	109,18 ± 9,60
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	100,00 ± 0,00	122,48 ± 5,80	155,20 ± 5,92	177,78 ± 2,09	216,42 ± 6,41	255,39 ± 0,71	397,24 ± 2,54
Signifikanz	n.s.	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	112,46 ± 12,08	109,73 ± 7,29	110,22 ± 6,27	121,77 ± 29,14
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	541,35 ± 3,27	651,54 ± 1,86	827,46 ± 11,23	944,86 ± 3,07
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Tabelle A2: Ammoniakkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartiment-modells im Standard- und Leerversuch über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	100,00 ± 0,00	100,85 ± 9,25	119,03 ± 8,69	131,74 ± 10,71	145,25 ± 8,64	161,88 ± 16,19	191,18 ± 18,27
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	100,00 ± 0,00	138,92 ± 17,21	204,36 ± 51,77	246,64 ± 56,61	323,88 ± 76,71	387,80 ± 103,39	620,10 ± 152,42
Signifikanz	n.s.	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	206,78 ± 16,75	199,25 ± 10,24	198,34 ± 5,98	217,46 ± 29,24
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	860,78 ± 107,39	1082,81 ± 306,10	1275,97 ± 361,77	1523,09 ± 438,53
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Tabelle A3: Harnstoffkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartiment-modells im Standard- und Leerversuch über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	100,00 ± 0,00	81,82 ± 1,58	58,45 ± 4,64	50,29 ± 3,50	43,97 ± 4,30	38,18 ± 2,57	29,19 ± 2,09
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	100,00 ± 0,00	101,87 ± 1,49	100,57 ± 3,31	100,36 ± 3,35	101,65 ± 2,94	102,11 ± 3,30	109,63 ± 2,77
Signifikanz	n.s.	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	26,08 ± 2,19	24,40 ± 2,10	23,72 ± 1,93	23,28 ± 1,94
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	113,68 ± 4,25	114,39 ± 3,46	114,23 ± 2,57	117,74 ± 2,33
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Tabelle A4: Gallensäurekonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartiment-modells im Standard- und Leerversuch über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	100,00 ± 0,00	92,56 ± 1,54	87,93 ± 1,31	84,97 ± 3,25	83,19 ± 2,28	76,41 ± 1,23	74,09 ± 4,74
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	100,00 ± 0,00	99,62 ± 4,04	99,73 ± 4,08	98,98 ± 4,13	98,49 ± 4,71	99,25 ± 5,63	99,47 ± 5,30
Signifikanz	n.s.	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	68,81 ± 5,78	66,46 ± 10,92	65,49 ± 8,65	64,22 ± 9,35
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	96,65 ± 4,00	93,07 ± 3,23	93,01 ± 3,33	91,84 ± 2,68
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Tabelle A5: unkonj. Bilirubinkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Zweikompartiment-modells im Standard- und Leerversuch über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	100,00 ± 0,00	88,25 ± 1,74	79,77 ± 1,53	75,56 ± 3,54	69,45 ± 3,38	63,07 ± 1,11	54,54 ± 2,01
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	100,00 ± 0,00	99,24 ± 5,26	95,54 ± 11,31	96,02 ± 10,33	96,91 ± 10,09	97,61 ± 10,49	108,09 ± 8,49
Signifikanz	n.s.	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM Standardv.	50,44 ± 2,20	50,42 ± 2,58	50,14 ± 2,53	50,14 ± 7,89
MW ± SA Zwei-KM Leerv.	111,63 ± 5,53	122,88 ± 8,51	128,19 ± 7,68	128,14 ± 9,50
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Tabelle A6: BSP-Konzentrationen [%] des Plasma-eingangs (PI) des Zweikompartimentmodells im Standard- und Leerversuch über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	100,00 ± 0,00	83,51 ± 4,34	71,22 ± 4,78	68,44 ± 4,43	70,11 ± 2,88	70,89 ± 3,70	76,20 ± 4,52
MW ± SA Ein-KM	100,00 ± 0,00	62,36 ± 6,27	39,38 ± 3,21	25,17 ± 4,46	13,12 ± 3,57	7,18 ± 2,85	0,06 ± 0,10
Signifikanz	n.s.	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	85,33 ± 6,55	87,11 ± 8,07	89,89 ± 8,02	95,31 ± 14,79
MW ± SA Ein-KM	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Signifikanz	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

Tabelle A7: Kreatininkonzentrationen [%] des Plasmaeingangs (PI) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	106,73 ± 22,17	97,84 ± 19,30	102,30 ± 11,35	102,25 ± 5,72	96,68 ± 2,96	96,42 ± 0,78	89,69 ± 1,46
MW ± SA Ein-KM	166,59 ± 11,4	126,19 ± 15,73	121,89 ± 18,79	123,36 ± 17,65	119,32 ± 19,92	114,60 ± 16,01	n.l.
Signifikanz	$p < 0,05$	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	-

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	86,78 ± 2,25	80,98 ± 5,30	79,05 ± 3,19	77,00 ± 3,04
MW ± SA Ein-KM	n.l.	n.l.	n.l.	n.l.
Signifikanz	-	-	-	-

Tabelle A8: Clearancewerte für Kreatinin [ml/min] über dem MARSflux (PIPO) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min
MW ± SA Kreatinin PI %	100,00 ± 0,00	83,51 ± 4,34	71,22 ± 4,78	68,44 ± 4,43	70,11 ± 2,88	70,89 ± 3,70	76,20 ± 4,52	85,33 ± 6,55	87,11 ± 8,07
MW ± SA Kreatinin PO %	100,00 ± 0,00	74,70 ± 14,64	74,17 ± 10,22	71,50 ± 10,69	76,36 ± 13,39	77,33 ± 13,58	86,93 ± 16,66	99,36 ± 20,92	104,90 ± 21,97
MW ± SA Kreatinin Cl PIPO	106,73 ± 22,17	97,84 ± 19,30	102,30 ± 11,35	102,25 ± 5,72	96,68 ± 2,96	96,42 ± 0,78	89,69 ± 1,46	86,78 ± 2,25	80,98 ± 5,30

Zeit	300 min	360 min	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
MW ± SA Kreatinin PI %	89,89 ± 8,02	95,31 ± 14,79	87,85 ± 5,38	98,55 ± 17,17	86,10 ± 19,96	95,99 ± 11,48	97,19 ± 13,87	95,78 ± 10,82	95,43 ± 9,38
MW ± SA Kreatinin PO %	109,57 ± 23,29	118,07 ± 31,56	129,26 ± 45,10	120,15 ± 34,10	113,22 ± 30,49	120,65 ± 30,25	126,68 ± 35,59	121,04 ± 27,31	118,88 ± 24,70
MW ± SA Kreatinin Cl PIPO	79,05 ± 3,19	77,00 ± 3,04	75,16 ± 1,40	79,70 ± 4,65	71,49 ± 6,25	74,45 ± 4,25	68,54 ± 7,13	72,86 ± 2,81	75,04 ± 3,16

Tabelle A9: Kreatininkonzentrationen [%] vor (PI) und hinter (PO) dem MARSflux sowie die Clearancewerte [ml/min] über dem MARSflux (PIPO) im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	100,00 ± 0,00	77,42 ± 10,92	72,94 ± 9,69	73,56 ± 9,53	73,80 ± 10,43	77,91 ± 13,37	83,43 ± 14,05
MW ± SA Ein-KM	100,00 ± 0,00	69,31 ± 6,52	46,21 ± 6,86	30,30 ± 8,18	17,30 ± 6,85	10,63 ± 5,19	1,14 ± 0,99
Signifikanz	n.s.	n.s.	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	103,91 ± 7,23	107,79 ± 7,60	113,33 ± 5,61	122,35 ± 18,37
MW ± SA Ein-KM	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,18	0,12 ± 0,21
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Tabelle A10: Kreatininkonzentrationen [%] vor dem Diaflux (M1) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	38,81 ± 1,72	49,31 ± 2,93	49,92 ± 6,63	48,87 ± 7,04	43,75 ± 8,11	51,36 ± 2,04	49,56 ± 2,78
MW ± SA Ein-KM	181,29 ± 5,34	180,99 ± 5,41	176,63 ± 8,30	173,58 ± 4,08	167,92 ± 3,98	163,87 ± 3,00	n.l.
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	-

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	45,27 ± 7,26	51,62 ± 8,58	50,87 ± 7,67	45,29 ± 4,77
MW ± SA Ein-KM	n.l.	n.l.	n.l.	n.l.
Signifikanz	-	-	-	-

Tabelle A11: Clearancewerte für Kreatinin [ml/min] über dem Diaflux (M1M2) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min
MW ± SA Kreatinin M1 %	100,00 ± 0,00	77,42 ± 10,92	72,94 ± 9,69	73,56 ± 9,53	73,80 ± 10,43	77,91 ± 13,37	83,43 ± 14,05	103,91 ± 7,23	107,79 ± 7,60
MW ± SA Kreatinin M2 %	100,00 ± 0,00	83,62 ± 16,35	78,32 ± 13,26	78,71 ± 5,23	80,79 ± 3,29	81,90 ± 3,49	88,49 ± 2,05	99,08 ± 1,71	101,39 ± 2,37
MW ± SA Kreatinin Cl M1M2	38,81 ± 1,72	49,31 ± 2,93	49,92 ± 6,63	48,87 ± 7,04	43,75 ± 8,11	51,36 ± 2,04	49,56 ± 2,78	45,27 ± 7,26	51,62 ± 8,58

Zeit	300 min	360 min	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
MW ± SA Kreatinin M1 %	113,33 ± 5,61	122,35 ± 18,37	133,90 ± 31,28	132,98 ± 19,29	119,23 ± 36,60	137,46 ± 20,93	146,04 ± 23,67	147,10 ± 22,18	147,52 ± 18,92
MW ± SA Kreatinin M2 %	105,68 ± 1,24	115,11 ± 15,80	127,51 ± 30,02	116,33 ± 8,85	117,49 ± 23,28	128,88 ± 16,77	134,02 ± 16,53	134,08 ± 15,34	138,49 ± 10,55
MW ± SA Kreatinin Cl M1M2	50,87 ± 7,67	45,29 ± 4,77	49,27 ± 0,08	51,89 ± 16,12	43,11 ± 5,76	46,25 ± 2,81	48,14 ± 1,85	51,08 ± 0,92	46,98 ± 6,58

Tabelle A12: Kreatininkonzentrationen [%] vor (M1) und hinter (M2) dem Diaflux sowie die Clearancewerte [ml/min] über dem Diaflux (M1M2) im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	100,00 ± 0,00	83,62 ± 16,35	78,32 ± 13,26	78,71 ± 5,23	80,79 ± 3,29	81,90 ± 3,49	88,49 ± 2,05
MW ± SA Ein-KM	100,00 ± 0,00	69,59 ± 6,33	49,21 ± 7,19	34,01 ± 10,44	20,89 ± 8,85	13,49 ± 6,77	1,71 ± 2,96
Signifikanz	n.s.	n.s.	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	99,08 ± 1,71	101,39 ± 2,37	105,68 ± 1,24	115,11 ± 15,80
MW ± SA Ein-KM	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,58 ± 1,00	0,49 ± 0,85
Signifikanz	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$

Tabelle A13: Kreatininkonzentrationen [%] vor dem Aktivkohleadsorber (M2) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	116,26 ± 11,09	85,84 ± 5,09	79,82 ± 3,83	72,19 ± 8,91	74,87 ± 5,52	62,23 ± 8,91	56,97 ± 6,24
MW ± SA Ein-KM	164,24 ± 8,33	137,98 ± 9,87	118,67 ± 1,48	87,44 ± 8,52	73,48 ± 2,72	12,12 ± 17,13	n.l.
Signifikanz	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	n.s.	n.s.	$p < 0,05$	-

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	51,72 ± 4,11	45,95 ± 3,85	40,87 ± 9,30	39,14 ± 5,69
MW ± SA Ein-KM	n.l.	n.l.	n.l.	n.l.
Signifikanz	-	-	-	-

Tabelle A14: Clearancewerte für Kreatinin [ml/min] über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min
MW ± SA Kreatinin M2 %	100,00 ± 0,00	83,62 ± 16,35	78,32 ± 13,26	78,71 ± 5,23	80,79 ± 3,29	81,90 ± 3,49	88,49 ± 2,05	99,08 ± 1,71	101,39 ± 2,37
MW ± SA Kreatinin M3 %	100,00 ± 0,00	114,79 ± 6,77	113,74 ± 5,29	105,01 ± 9,07	106,41 ± 10,55	115,77 ± 13,74	128,48 ± 12,49	147,44 ± 6,58	155,35 ± 9,62
MW ± SA Kreatinin Cl M2M3	116,26 ± 11,09	85,84 ± 5,09	79,82 ± 3,83	72,19 ± 8,91	74,87 ± 5,52	62,23 ± 8,91	56,97 ± 6,24	51,72 ± 4,11	45,95 ± 3,85

Zeit	300 min	360 min	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
MW ± SA Kreatinin M2 %	105,68 ± 1,24	115,11 ± 15,80	127,51 ± 30,02	116,33 ± 8,85	117,49 ± 23,28	128,88 ± 16,77	134,02 ± 16,53	134,08 ± 15,34	138,49 ± 10,55
MW ± SA Kreatinin M3 %	165,97 ± 12,01	181,24 ± 13,23	200,93 ± 31,93	187,91 ± 21,29	190,82 ± 20,12	208,94 ± 11,11	222,19 ± 20,51	226,91 ± 12,68	227,82 ± 9,29
MW ± SA Kreatinin Cl M2M3	40,87 ± 9,30	39,14 ± 5,69	37,92 ± 5,43	49,53 ± 11,31	31,33 ± 7,71	32,87 ± 5,28	28,50 ± 4,04	23,62 ± 6,89	30,36 ± 4,98

Tabelle A15: Kreatininkonzentrationen [%] vor (M2) und hinter (M3) dem Aktivkohleadsorber sowie die Clearancewerte [ml/min] über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	12,38 ± 2,37	8,80 ± 5,82	11,01 ± 1,40	11,66 ± 3,25	11,37 ± 0,29	3,93 ± 3,65	26,16 ± 19,99
MW ± SA Ein-KM	20,32 ± 3,78	14,22 ± 1,62	13,80 ± 1,41	11,48 ± 4,17	8,57 ± 2,29	18,98 ± 11,24	11,82 ± 7,73
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	-2,39 ± 9,74	0,99 ± 7,50	-0,78 ± 15,46	3,61 ± 5,10
MW ± SA Ein-KM	12,54 ± 6,29	13,06 ± 4,15	19,04 ± 9,27	17,95 ± 5,52
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle A16: Clearancewerte für BSP [ml/min] über dem MARSflux (PIPO) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min
MW ± SA BSP Cl PIPO	12,38 ± 2,37	8,80 ± 5,82	11,01 ± 1,40	11,66 ± 3,25	11,37 ± 0,29	3,93 ± 3,65	26,16 ± 19,99	-2,39 ± 9,74	0,99 ± 7,50
MW ± SA BSP Cl M3M4	118,03 ± 0,55	134,49 ± 7,39	138,12 ± 3,27	144,85 ± 5,27	145,78 ± 9,36	142,99 ± 12,44	131,48 ± 9,11	136,91 ± 7,54	123,21 ± 20,62

Zeit	300 min	360 min	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
MW ± SA BSP Cl PIPO	-0,78 ± 15,46	3,61 ± 5,10	1,32 ± 5,39	0,15 ± 2,07	-1,62 ± 4,38	1,67 ± 3,35	1,88 ± 1,96	1,91 ± 6,25	3,06 ± 2,68
MW ± SA BSP Cl M3M4	124,32 ± 23,99	122,65 ± 16,95	122,45 ± 25,04	114,83 ± 14,39	107,07 ± 9,99	131,03 ± 45,10	114,43 ± 19,72	190,78 ± 67,78	164,56 ± 37,25

Tabelle A17: BSP-Clearance [ml/min] über dem MARSflux (PIPO) und dem Anionenaustauscher (M3M4) im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	118,03 ± 0,55	134,49 ± 7,39	138,12 ± 3,27	144,85 ± 5,27	145,78 ± 9,36	142,99 ± 12,44	131,48 ± 9,11
MW ± SA Ein-KM	n.l.	172,25 ± 7,25	165,48 ± 10,17	80,83 ± 49,37	139,51 ± 3,48	149,85 ± 10,09	136,30 ± 9,51
Signifikanz	-	$p < 0,05$	$p < 0,05$	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	136,91 ± 7,54	123,21 ± 20,62	124,32 ± 23,99	122,65 ± 16,95
MW ± SA Ein-KM	129,81 ± 6,80	142,10 ± 21,81	154,76 ± 33,67	118,06 ± 9,82
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle A18: Clearancewerte für BSP [ml/min] über dem Anionenaustauscher (M3M4) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	19,37 ± 2,85	18,29 ± 1,33	19,22 ± 3,42	15,45 ± 1,95	9,75 ± 3,13	10,95 ± 3,25	4,24 ± 6,00
MW ± SA Ein-KM	18,86 ± 6,16	41,59 ± 8,32	40,59 ± 10,29	42,92 ± 0,79	17,63 ± 6,70	9,32 ± 6,00	24,54 ± 16,03
Signifikanz	n.s.	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	n.s.	n.s.	n.s.

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	6,63 ± 7,15	1,70 ± 1,49	4,06 ± 2,77	6,07 ± 4,53
MW ± SA Ein-KM	22,24 ± 24,85	13,97 ± 7,08	3,79 ± 21,29	2,59 ± 0,21
Signifikanz	n.s.	$p < 0,05$	n.s.	n.s.

Tabelle A19: Clearancewerte für Gallensäure [ml/min] über dem MARSflux (PIPO) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min
MW ± SA Gallensäure Cl PIPO	19,37 ± 2,85	18,29 ± 1,33	19,22 ± 3,42	15,45 ± 1,95	9,75 ± 3,13	10,95 ± 3,25	4,24 ± 6,00	6,63 ± 7,15	1,70 ± 1,49
MW ± SA Gallensäure Cl M2M3	44,12 ± 20,49	16,50 ± 3,76	7,84 ± 2,07	10,67 ± 2,45	15,21 ± 1,08	8,13 ± 2,05	7,52 ± 1,76	5,81 ± 2,13	0,39 ± 3,84

Zeit	300 min	360 min	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
MW ± SA Gallensäure Cl PIPO	4,06 ± 2,77	6,07 ± 4,53	2,42 ± 4,19	-1,36 ± 1,26	5,41 ± 3,50	2,13 ± 4,44	2,58 ± 4,24	1,21 ± 1,05	-0,67 ± 3,99
MW ± SA Gallensäure Cl M2M3	1,39 ± 5,10	1,44 ± 0,34	8,57 ± 3,56	7,47 ± 4,06	8,35 ± 6,31	0,83 ± 4,66	3,92 ± 1,52	0,54 ± 4,94	4,24 ± 6,05

Tabelle A20: Gallensäureclearance [ml/min] über dem MARSflux (PIPO) und dem Aktivkohleadsorber (M2M3) im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	44,12 ± 20,49	16,50 ± 3,76	7,84 ± 2,07	10,67 ± 2,45	15,21 ± 1,08	8,13 ± 2,05	7,52 ± 1,76
MW ± SA Ein-KM	2,78 ± 4,81	19,10 ± 7,02	19,43 ± 7,09	16,80 ± 16,64	19,88 ± 9,88	18,75 ± 5,32	14,36 ± 0,41
Signifikanz	p < 0,05	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	p < 0,05	p < 0,05

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	5,81 ± 2,13	0,39 ± 3,84	1,39 ± 5,10	1,44 ± 0,34
MW ± SA Ein-KM	17,85 ± 3,86	33,60 ± 5,18	34,52 ± 15,67	7,40 ± 11,37
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	n.s.

Tabelle A21: Clearancewerte für Gallensäure [ml/min] über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min
MW ± SA Zwei-KM	11,05 ± 5,58	11,13 ± 6,67	6,55 ± 1,62	2,43 ± 0,63	-2,65 ± 6,65	-0,54 ± 5,13	-1,05 ± 1,49
MW ± SA Ein-KM	1,25 ± 8,56	3,62 ± 0,08	-0,07 ± 3,63	-3,74 ± 5,58	0,91 ± 9,26	-4,30 ± 2,86	-1,94 ± 5,02
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeit	180 min	240 min	300 min	360 min
MW ± SA Zwei-KM	-0,59 ± 3,73	-3,73 ± 6,04	-6,24 ± 14,35	-3,80 ± 2,23
MW ± SA Ein-KM	-0,61 ± 1,06	-3,29 ± 4,86	0,63 ± 2,25	3,10 ± 8,14
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle A22: Clearancewerte für unkonj. Bilirubin [ml/min] über dem MARSflux (PIPO) des Ein- und Zweikompartimentmodells über 6 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min
MW ± SA unkonj. Bili. Cl PIPO	11,05 ± 5,58	11,13 ± 6,67	6,55 ± 1,62	2,43 ± 0,63	-2,65 ± 6,65	-0,54 ± 5,13	-1,05 ± 1,49	-0,59 ± 3,73	-3,73 ± 6,04
MW ± SA unkonj. Bili. Cl M3M4	200,89 ± 69,45	149,31 ± 9,13	103,59 ± 28,65	77,30 ± 38,60	62,34 ± 17,45	31,25 ± 44,19	26,32 ± 37,22	-2,02 ± 2,85	12,35 ± 14,14

Zeit	300 min	360 min	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
MW ± SA unkonj. Bili. Cl PIPO	-6,24 ± 14,35	-3,80 ± 2,23	-3,03 ± 6,28	-0,41 ± 8,09	2,42 ± 2,10	-0,93 ± 4,30	-3,55 ± 4,86	2,56 ± 5,76	-6,37 ± 4,07
MW ± SA unkonj. Bili. Cl M3M4	3,79 ± 6,56	-39,58 ± 40,24	40,26 ± 46,47	14,23 ± 12,57	6,29 ± 10,89	27,48 ± 23,83	-10,17 ± 63,49	40,28 ± 41,74	3,97 ± 6,87

Tabelle A23: unkonj. Bilirubinclearance [ml/min] über dem MARSflux (PIPO) und dem Anionenaustauscher (M3M4) im Zweikompartimentmodell über die Zeit von 24 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min
MW ± SA Zwei-KM Kreatinin	38,81 ± 1,72	49,31 ± 2,93	49,92 ± 6,63	48,87 ± 7,04	43,75 ± 8,11	51,36 ± 2,04	49,56 ± 2,78	45,27 ± 7,26	51,62 ± 8,58
MW ± SA Zwei-KM Harnstoff	52,95 ± 9,66	59,98 ± 6,57	50,25 ± 6,57	49,01 ± 6,53	44,67 ± 3,80	49,33 ± 1,49	50,12 ± 5,82	52,94 ± 6,53	52,07 ± 7,88
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeit	300 min	360 min	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
MW ± SA Zwei-KM Kreatinin	50,87 ± 7,67	45,29 ± 4,77	49,27 ± 0,08	51,89 ± 16,12	43,11 ± 5,76	46,25 ± 2,81	48,14 ± 1,85	51,08 ± 0,92	46,98 ± 6,58
MW ± SA Zwei-KM Harnstoff	56,23 ± 6,34	47,38 ± 5,59	49,57 ± 0,61	54,55 ± 8,40	49,31 ± 4,80	46,51 ± 4,27	51,31 ± 9,30	53,28 ± 7,61	56,63 ± 0,72
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle A24: Clearancewerte für Kreatinin und Harnstoff [ml/min] über dem Diaflux (M1M2) des Zweikompartimentmodells über 24 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min
MW ± SA Zwei-KM Kreatinin	116,54 ± 7,86	85,84 ± 5,09	79,82 ± 3,84	72,19 ± 8,91	74,87 ± 5,51	62,23 ± 8,91	56,97 ± 6,24	51,72 ± 4,11	45,95 ± 3,85
MW ± SA Zwei-KM Harnstoff	48,21 ± 3,90	18,71 ± 4,05	16,30 ± 2,70	18,71 ± 11,82	23,99 ± 14,58	5,81 ± 7,58	-2,49 ± 7,67	1,08 ± 1,15	-4,25 ± 5,61
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Zeit	300 min	360 min	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
MW ± SA Zwei-KM Kreatinin	40,87 ± 9,30	39,14 ± 6,69	37,92 ± 5,43	49,52 ± 11,31	31,33 ± 7,71	32,86 ± 5,28	28,51 ± 4,04	23,62 ± 6,90	30,36 ± 4,98
MW ± SA Zwei-KM Harnstoff	-8,99 ± 11,26	2,41 ± 3,40	0,49 ± 7,31	-1,09 ± 8,34	-1,60 ± 1,46	-0,15 ± 7,60	-5,86 ± 13,75	-7,61 ± 5,01	-6,82 ± 6,59
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Tabelle A25: Clearancewerte für Kreatinin und Harnstoff [ml/min] über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) des Zweikompartimentmodells über 24 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min
MW ± SA Zwei-KM Kreatinin	38,81 ± 1,72	49,31 ± 2,93	49,92 ± 6,63	48,87 ± 7,04	43,75 ± 8,11	51,36 ± 2,04	49,56 ± 2,78	45,27 ± 7,26	51,62 ± 8,58
MW ± SA Zwei-KM Ammoniak	38,02 ± 7,35	37,29 ± 8,25	37,46 ± 5,56	43,82 ± 2,39	43,06 ± 7,34	40,91 ± 7,51	43,03 ± 4,77	50,42 ± 7,34	46,78 ± 13,43
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Zeit	300 min	360 min	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
MW ± SA Zwei-KM Kreatinin	50,87 ± 7,67	45,29 ± 4,77	49,27 ± 0,08	51,89 ± 16,12	43,11 ± 5,76	46,25 ± 2,81	48,14 ± 1,85	51,08 ± 0,92	46,98 ± 6,58
MW ± SA Zwei-KM Ammoniak	42,27 ± 12,23	35,30 ± 4,36	35,16 ± 11,64	48,94 ± 3,41	39,68 ± 7,16	42,08 ± 7,37	47,23 ± 6,46	44,50 ± 7,92	46,54 ± 9,79
Signifikanz	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Tabelle A26: Clearancewerte für Kreatinin und Ammoniak [ml/min] über dem Diaflux (M1M2) des Zweikompartimentmodells über 24 h.

Zeit	0 min	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	120 min	180 min	240 min
MW ± SA Zwei-KM Kreatinin	116,54 ± 7,86	85,84 ± 5,09	79,82 ± 3,84	72,19 ± 8,91	74,87 ± 5,51	62,23 ± 8,91	56,97 ± 6,24	51,72 ± 4,11	45,95 ± 3,85
MW ± SA Zwei-KM Ammoniak	4,23 ± 1,96	13,77 ± 0,08	-4,26 ± 3,84	0,71 ± 3,74	-1,03 ± 4,70	-3,39 ± 4,48	-3,71 ± 4,77	-0,44 ± 2,35	-0,75 ± 1,86
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Zeit	300 min	360 min	8 h	10 h	12 h	15 h	18 h	21 h	24 h
MW ± SA Zwei-KM Kreatinin	40,87 ± 9,30	39,14 ± 6,69	37,92 ± 5,43	49,52 ± 11,31	31,33 ± 7,71	32,86 ± 5,28	28,51 ± 4,04	23,62 ± 6,90	30,36 ± 4,98
MW ± SA Zwei-KM Ammoniak	2,48 ± 4,06	2,39 ± 3,56	-5,33 ± 3,05	-2,67 ± 4,62	-3,24 ± 3,37	1,62 ± 11,00	-3,77 ± 3,66	1,24 ± 4,60	-5,01 ± 0,89
Signifikanz	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05

Tabelle A27: Clearancewerte für Kreatinin und Ammoniak [ml/min] über dem Aktivkohleadsorber (M2M3) des Zweikompartimentmodells über 24 h.

7.3 Thesen

1. Die Leber ist das zentrale Stoffwechselorgan im menschlichen Körper. Im Leberversagen ist die Synthese von Proteinen stark eingeschränkt. Durch die fehlende Metabolisierungs- und Entgiftungsleistung erfolgt eine Anhäufung von wasserlöslichen und proteinaffinen Toxinen, die stetig endogen produziert und in den Kreislauf nachgeliefert werden.

2. Trotz verbesserter umfangreicher intensivmedizinischer Maßnahmen kommt es im Leberversagen durch die fehlende Entgiftungsfunktion nach wie vor zur Ansammlung von Toxinen, die nicht durch klassische Dialyseverfahren entfernbar sind. Bei diesen Toxinen handelt es sich vorwiegend um albumingebundene Eiweiße.

3. Extrakorporale Leberunterstützungsverfahren fungieren als “Brücke“ bis zur Lebertransplantation bzw. -regeneration. Gegenwärtig existieren weltweit verschiedene Blutreinigungsverfahren, deren Effektivität in Bezug auf die klinische Einsetzbarkeit zunächst anhand von in-vitro Evaluationen erforscht werden sollte.

4. Daher ist die Entwicklung neuer Modelle mit realitätsnaher Betrachtungsweise zur Optimierung des Effektivitäts-Risiko-Verhältnisses mit letztendlich verbessertem Outcome der Patienten im Leberversagen dringend notwendig.

5. Das klassische Einkompartimentmodell besteht aus einem 3 l fassenden rezirkulierenden Patientenkreislauf, der über eine Dialysemembran mit dem extrakorporalen Leberunterstützungssystem verbunden ist. Hierbei erfolgt keine Beachtung der endogenen Nachbildung von Toxinen im menschlichen Körper. Besonders aufgrund der extrem unterschiedlichen Verteilungsräume, Eiweißbindungsraten und damit Entfernbarkeit der Toxine im Leberversagen lassen sich bei diesem Modell keine globalen Aussagen über das Langzeitverhalten von wasserlöslichen und albumingebundenen Toxinen innerhalb des Körpers beim späteren ex-vivo Einsatz vorhersagen.

6. Ziel dieser Arbeit war die Konstruktion eines neuen in-vitro Modells, das die endogene Nachbildungsrate der Toxine beachtet und das Nachströmen von Substanzen aus dem Gewebe in den gereinigten Blutkreislauf nachempfindbar macht. Es sollten Langzeituntersuchungen für kontinuierliche Anwendungen von Leberunterstützungsverfahren ermöglicht werden.

7. Auf der Grundlage von Literaturangaben und experimentellen Untersuchungen wurde die Nachbildungsrate der einzelnen Substanzen ermittelt. Anschließend wurde ein

Patientenmodell entwickelt, welches aus zwei Kompartimenten bestand. Kompartiment 1 entsprach hierbei dem Blutkreislauf eines Leberkranken und enthielt definierte Ausgangskonzentrationen der Modelltoxine. Zusätzlich wurde über einen kontinuierlichen Zustrom während der Experimente die Nachdosierung der Modelltoxine in den Patientenkreislauf realisiert (Kompartiment 2).

8. Dieses Modell wurde genutzt, um den Einfluss von Entgiftungsverfahren auf die Konzentrationsverläufe und Clearanceraten von Ammoniak, Kreatinin, Harnstoff, Gallensäure, Bilirubin und BSP über einen Zeitraum von 24 h zu analysieren.

9. Für das neue Zweikompartimentmodell wurde das MARS-Verfahren als Beispiel für ein extrakorporales Leberunterstützungssystem zur Behandlung des Patientenkreislaufs verwendet. Als Vergleichsmodell wurde das klassische “Einkompartimentmodell“ herangezogen.

10. Zur besseren Vergleichbarkeit der Effektivität des neuen Modells wurde eine Leerversuchsreihe ohne nachgeschaltetes Entgiftungsverfahren etabliert.

11. Im Vergleich des Zweikompartimentmodells im Standard- und Leerversuch war die Effektivität des MARS-Verfahrens aufgrund unterschiedlicher Konzentrationsverläufe ersichtlich.

12. Hierbei wurde die kumulative Clearance über bestimmten Zeitabschnitten eingeführt und mit der herkömmlichen Momentanclearance verglichen. Die Momentanclearance ist durch Verklebungsprozesse der Membran, Adsorptionsvorgänge der Moleküle und geringe Konzentrationsänderungen in ihrer Aussagefähigkeit stark eingeschränkt. Die kumulative Clearance liefert realitätsbezogenere Werte.

13. Die wasserlöslichen Substanzen Harnstoff und Ammoniak wurden ausschließlich über Dialyse aus dem System entfernt. Für Kreatinin wurde zusätzlich die Adsorption an den Aktivkohleadsorber des MARS-Kreislaufs nachgewiesen. Damit ist Kreatinin zur Etablierung der Effektivität der reinen Dialysesequenz im MARS-Kreislauf ungeeignet.

14. Die Clearancebestimmung für wasserlösliche Substanzen, wie z.B. Kreatinin, war im alten Modell über längere Zeiträume nicht möglich, da eine zu schnelle Abreicherung im geschlossenen Patientenkreislauf für nicht-albumingebundene Toxine beobachtet wurde. Damit fehlen bei diesem Modell die notwendigen Informationen zur Berechnung klinisch gültiger Clearanceraten.

15. Erst mit dem neuen Modell konnten längerfristige Beobachtungen der Konzentrationsverläufe und daraus die Berechnung von Clearanceraten über 24 h erfolgen.

16. Somit war die teilweise unerwartete Absenkung der Clearance für wasserlösliche und albumingebundene Substanzen über eine Zeit von 24 h beobachtbar. Diese Clearanceabnahme ist ein Anhalt für irreversible strukturelle Veränderungen der Membraneigenschaften bei der Albumindialyse, die vermutlich auf der Dialysatseite des “Thin Layers“ stattfinden.

17. Neben den Prozessen des “Membranfowlings“ ist bei den sinkenden Clearanceraten auch an eine Abnahme der Adsorberleistung durch Erreichen der Kapazitätsgrenzen zu denken.

18. Diese, durch das neu entwickelte Modell offen gelegten Mechanismen suggerieren die Notwendigkeit der Entwicklung verbesserter Adsorber und neuer Membranen für die Albumindialyse, bei denen irreversible Veränderungen der dialysatseitigen “Thin Layer“-Schicht unterbunden werden.

19. Dadurch könnte die Effektivität der Entfernung albumingebundener und wasserlöslicher Gifte länger stabil gehalten und damit das Kosten-Nutzen-Risiko-Verhältnis wesentlich besser ausgeschöpft werden.

7.4 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Tina Szyszkowitz, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift selbständig verfasst und keine anderen, als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck der Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde.

7.5 Lebenslauf

Persönliche Daten		
Name	:	Tina Szyszkowitz
Geburtsdatum/ -ort	:	27.10.1982 in Perleberg
Familienstand	:	ledig
Staatsangehörigkeit	:	deutsch
Schulbildung		
1989 – 1995	:	Grund- und Gesamtschule Glöwen
1995 – 2002	:	Marie-Curie-Gymnasium Wittenberge, Abitur
Medizinstudium		
WS 2002 – z.Zt.	:	Universität Rostock, Studium der Humanmedizin
Herbst 2004	:	Ärztliche Vorprüfung
Praktisches Jahr	:	
13.08.07 – 02.12.07		Anästhesie, Helios Klinikum Schwerin
03.12.07 – 22.03.08		Chirurgie, Helios Klinikum Schwerin
23.03.08 – 13.07.08		Innere, Helios Klinikum Schwerin
Familie	:	
08/2008		Geburt der Tochter/Urlaubssemester

Posterpräsentationen :

Szyszkowitz T, Schmidt S, Weiss-Reinig H, Peszynski P, Schmidt R, Mitzner S, Stange J; „A new standardized in vitro model for long terms simultaneous measurement of albumin bound and unbound substance clearances in the MARS Device“;
8th International Symposium on Albumin Dialysis, Rostock – Warnemünde; September 8th – 10th, 2006

Szyszkowitz T, Schmidt S, Klammt S, Mitzner S, Weiss-Reinig H, Suraj M, Arndt K, Schmidt R, Stange J; „Octanoate and N-Acetyltryptophane free albumin exhibits higher efficacy in albumin dialysis“;
8th International Symposium on Albumin Dialysis; Rostock – Warnemünde; September 8th – 10th, 2006

7.6 Danksagung

Mein besonderer Dank richtet sich an Professor Dr. med. J. Stange für die Vergabe des interessanten Themas meiner Promotionsarbeit sowie für die umfangreiche Unterstützung, die freundschaftliche Betreuung, für seine konstruktive Kritik und seinen mitreißenden Optimismus. Durch die anregenden Diskussionen wurde mein Blickwinkel bezüglich wissenschaftlicher Fragestellungen erweitert. Ich danke ihm für die unermüdliche Hilfsbereitschaft und Geduld.

Des Weiteren gilt mein herzlicher Dank dem gesamten Team der Forschungsdialyse der Universität Rostock bzw. dem Center for Extracoporeal Organ Support (CEOS) sowie der Albutec GmbH in Rostock. Hierbei möchte ich mich besonders bei Frau H. Weiss-Reinig, Medizinisch Technische Assisstentin der Universität Rostock, für ihren ausdauernden Einsatz bedanken.

Außerdem richtet sich mein Dank an Prof. Dr. Dr. Dr. med. hc. A. Andrä. Seine umfangreichen Erfahrungen hatten großen Wert bei der Erstellung meiner Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich herzlich bei meinen Eltern und meinem Freund Tim Pörschke für die liebevolle Unterstützung und Motivation bedanken, mit der sie mich nicht nur bei der Erstellung dieser Arbeit, sondern während meines gesamten Medizinstudiums begleitet haben.

Nicht zuletzt danke ich allen meinen Freunden, insbesondere Anja May, Anje Günther, Stefanie Schmidt, Monique Sakowski und Christine Heidel für die notwendige seelische und moralische Unterstützung während des gesamten Studiums. Wir hatten eine wunderbare Zeit zusammen.