Aus der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der Einfluss des stabilen Prostazyklinanalogons Iloprost auf immunologische Parameter im Rahmen der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration

zur Erlangung des akademischen Grades Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Edda Klotz

aus Berlin

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. J. Birnbaum

2. Prof. Dr. med. T. Volk

3. Priv.-Doz. Dr. med. M. Hensel

Datum der Promotion: 04.02.2011

INHALTSVERZEICHNIS

	kurzungsverzeichnis	VI
۱b	bildungsverzeichnis	IX
	Einleitung	1
	1.1 Kontinuierliche Nierenersatzverfahren	1
	1.1.1 Indikationen für ein Nierenersatzverfahren	1
	1.1.2 Hämodialyse und Hämofiltration	2
	1.1.2.1 Hämodialyse	
	1.1.2.2 Hämofiltration	
	1.1.2.3 Hämodiafiltration	3
	1.1.3 Kontinuierliche Nierenersatzverfahren	
	1.1.3.1 CAVHF	3
	1.1.3.2 CAVHD	4
	1.1.3.3 CVVHF	4
	1.1.3.4 CVVHD	4
	1.2 Diskontinuierliche Nierenersatzverfahren	5
	1.2.1 Intermittierende arterio-venöse Hämodialyse	5
	1.2.2 Peritonealdialyse	
	1.2.3 GENIUS [®]	
	1.3 Antikoagulation bei extrakorporalen Verfahren	7
	1.3.1 Heparin	7
	1.3.2 Regionale Antikoagulation mit Heparin	7
	1.3.3 Niedermolekulare Heparine	8
	1.3.4 Regionale Antikoagulation mit Zitrat	
	1.3.5 Hirudin	
	1.3.6 Prostaglandine	9
	1.3.6.1 Prostazyklin	10
	1.3.6.2 Iloprost	
	1.4 Das stabile Prostazyklinanalogon lloprost	11
	1.4.1 Geschichte	11
	1.4.2 Chemische Struktur	11
	1.4.3 Pharmakokinetik	12
	1.4.4 Pharmakodynamik	13
	1.4.5 Der Prostanoidrezeptor	13
	1.4.6 Immunologische Wirkungen von Iloprost	14
	1.4.6.1.1 Einfluss von Iloprost auf die Zytokinfreisetzung	14
	1.4.6.1.2 Einfluss von Iloprost auf die Leukozyten	14
	1.4.6.1.3 Zytoprotektive Effekte von Iloprost	15
	1.4.7 Hemmung der Thrombozytenfunktion durch Iloprost	
	1.4.8 Vasodilatation durch lloprost	17
	1.4.9 Renale Effekte von Iloprost	
	1.4.10 Klinische Anwendung	
	1.4.11 Nebenwirkungen von Iloprost	18
	1.5 Ergebnisse bisheriger Forschungen	19
	1.5.1 Prostaglandine und extrakorporale Zirkulation	19
	1.5.1.1 Prostaglandine und Dialyse	
	1.5.1.2 Prostaglandine und HLM	19
	1.5.1.3 Prostaglandine und ECMO	

	1.5.1.4 Prostaglandine und MARS®	20
	1.5.2 Immunologische Aspekte extrakorporaler Verfahren	
	1.5.3 Immunologische Parameter und Prostaglandine	23
	1.5.3.1 IL-6	23
	1.5.3.2 sCD-14	24
	1.5.3.3 Leukozyten	25
	1.5.3.4 Thrombozyten	
	1.5.3.5 CRP	
	1.5.3.6 Fibrinogen	27
2	Herleitung der Aufgabenstellung	28
3	Methodik	30
	3.1 Patientengut	30
	3.1.1 Einschlusskriterien	30
	3.1.2 Ausschlusskriterien	31
	3.1.3 Unerwünschte Ereignisse	
	3.2 Nierenersatzverfahren	31
	3.3 Messprotokoll	32
	3.4 Laborarameter	32
	3.4.1 IL-6	
	3.4.2 sCD-14	
	3.4.3 Leukozyten	
	3.4.4 Thrombozyten	
	3.4.5 CRP	
	3.4.6 Fibrinogen	
	3.5 Weitere erfasste Parameter	35
	3.5.1.1 Filterlaufzeiten	
	3.5.1.2 AT III Aktivität	
	3.5.1.3 D-Dimere	
	3.5.1.4 Retentionswerte	
	3.5.1.4.1 Kreatinin	
	3.5.1.4.2 Harnstoff	
	3.6 Statistische Methoden	37
4	Ergebnisse	38
•	4.1 Patientengut	38
	4.1.1 Unerwünschte Ereignisse	
	4.1.2 Beobachtungszeitraum	
	4.1.3 CVVH-Therapie	
	4.1.4 Transfusionen	
	4.2 Laborparameter	40
	4.2.1 IL-6	_
	4.2.2 sCD-14	
	4.2.3 Leukozyten	
	4.2.4 Thrombozyten	
	4.2.5 CRP	
	4.2.6 Fibrinogen	
	4.2.7 Weitere erfasste Parameter	
	4.2.7.1 Filterlaufzeiten	
	4.2.7.2 AT III	
	4.2.7.3 D-Dimere	
	4.2.7.4 Retentionswerte	

			4.2.7.4.1			49
				Harnstoff		50
5	Disku	ssio	n			51
	5.1 Patientengut			51		
	5.2	Nie	erenersatz	verfahren		52
	5.3	Stu	ıdiendesig	ın und Messp	rotokoll	54
	5.3	3.1	Studiend	esign		54
	5.3	3.2	Messprot	okoll		55
	5.4	Lal	oorparam	eter		56
	5.4	4.1	IL-6			56
	5.4	4.2	sCD-14			58
	5.4	4.3	Leukozyt	en		60
	5.4	4.4	Thrombo	zyten		62
	5.4	4.5	CRP			64
	5.4	4.6	Fibrinoge	n		65
	5.4	4.7	Weitere e	erfasste Parar	meter	66
		5.4	.7.1 Filte	laufzeit		66
		5.4	.7.2 AT I	I		68
	5.4.7.3 D-Dimere				70	
		5.4	.7.4 Rete	ntionswerte		71
6	Zusar	nme	enfassung			72
	6.1	Eir	ileitung ur	d Herleitung	der Aufgabenstellun	g 72
	6.2	Me	thodik			72
	6.3	Erg	gebnisse			73
	6.4	Sc	hlussfolge	rung		73
Lit	eraturv	erze	eichnis			74
Da	ınksagı	ung				84
	Lebenslauf				85	
Pu	Publikationsliste				86	
Erl	Erklärung an Eides statt				87	

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACT Activated clotting time

aNV Akutes Nierenversagen

APACHE Acute Physiology And Chronic Health Evaluation

aPTT Aktivierte partielle Thromboplastinzeit

AT III Antithrombin III

AWMF Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen

Fachgesellschaften

cAMP Cyclisches Adenosinmonophosphat

CAVHD Continuous Arterio-venous Hemodialysis

CAVHF Continuous Arterio-venous Hemofiltration

sCD Soluble Cluster of Differentiation

CRP C-reaktives Protein

CVVHD Continuous Veno-venous Hemodialysis

CVVHF Continuous Veno-venous Hemofiltration

ECMO Extrakorporale Membranoxygenierung

ECT Ecarin Clotting Time

ELAM Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule

ELISA Ezyme Linked Immuno Sorbent Assay

ET-1	Endothelin 1
GMCSF	Granulocyte-macrophage Colony-stimulating Factor
GTP	Guanosintriphosphat
HF	Herzfrequenz
HIT	Heparin induzierte Thrombozytopenie
HLM	Herz-Lungen-Maschine
HWZ	Halbwertszeit
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IL	Interleukin
KG	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzkrankheit
LPS	Lipopolysaccharid
MARS	Molecular Adsorbents Recirculating System
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
paO ₂	Arterieller Sauerstoffpartialdruck
PG	Prostaglandin
sCD	Soluble Cluster of Differentiation
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrom
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
TNF-α	Tumornekrosefaktor α

t-PA	tissue plasminogen activator
TPZ	Thromboplastinzeit (Quicktest)

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Strukturformel Prostazyklin	10
Abbildung 2: Strukturformel Iloprost	11
Abbildung 3 Tabelle 1 Patientencharakteristika	38
Abbildung 4: IL-6-Plasmakonzentration	40
Abbildung 5: sCD-14-Plasmakonzentration	41
Abbildung 6: Leukozytenzahl	42
Abbildung 7: Thrombozytenzahl	43
Abbildung 8: Maximale CRP-Werte	44
Abbildung 9: Fibrinogenplasmaspiegel	45
Abbildung 10: Filterlaufzeit	46
Abbildung 11: ATIII-Plasmaspiegel	47
Abbildung 12: D-Dimer-Plasmaspiegel	48
Abbildung 13: Kreatininplasmaspiegel	49
Abbildung 14: Harnstoffplasmaspiegel	50

1 Einleitung

Die Anwendung von extrakorporalen Nierenersatzverfahren im Rahmen des akuten Nierenversagens (aNV) erfordert eine suffiziente Antikoagulation, um thrombembolische Komplikationen sowie Filter- und Katheterokklusionen zu vermeiden. Heparin stellt für diesen Zweck derzeit den Goldstandard dar.

Verschiedene Alternativen zum Heparin wurden beispielsweise im Zusammenhang mit der heparininduzierten Thrombozytopenie (HIT) oder im Zusammenhang mit dem Bestreben, die Filterlaufzeiten zu verlängern, untersucht. [1-3] Ein Überblick über verschiedene alternative Verfahren findet sich in einer Arbeit von Vargas Hein et al. [4]. Klinisch wird mittlerweile zunehmend die regionale Zitratantikoagulation angewendet, die zu einer deutlichen Verlängerung der Filterlaufzeit führt. Allerdings ist hierbei eine engmaschige Kontrolle von Leberfunktion, Säure-Basen-Status, Plasmaelektrolyten und totalem Kalziumspiegel notwendig [5].

Eine interessante Option stellt der Einsatz der thrombozytenaggregations-hemmenden Prostaglandine dar. Neben ihrer gerinnungshemmenden Wirkung haben diese Substanzen einige, bei kritisch kranken Patienten potenziell günstige Wirkungen, die ihren Einsatz in solchen Fällen rechtfertigen könnten.

Die antiinflammatorischen und immunmodulatorischen Wirkungen dieser Substanzen, und hier insbesondere die des stabilen Prostazyklinanalogons Iloprost, sollen Gegenstand der vorliegenden Untersuchung sein.

1.1 Kontinuierliche Nierenersatzverfahren

Im Gegensatz zu ambulanten diskontinuierlichen Verfahren werden kontinuierliche Nierenersatzverfahren im Rahmen des akuten Nierenversagens oder anderen Indikationen vornehmlich bei kritisch kranken Patienten eingesetzt.

1.1.1 Indikationen für ein Nierenersatzverfahren (nach AWMF-Leitlinie publiziert unter www.awmf.org)

Oligurie / Anurie (< 0,5 ml/kg/h)

Serumharnstoff > 150 mg/dl (25-30 mmol/l)

Serumkreatinin > 5 mg/dl (400-500 µmol/l)

Sonstige Indikationen:

- inakzeptabel hohe Flüssigkeitsbilanzen (Hypervolämie)
- Hyperkaliämie (Serumkalium > 7 mmol/l)
- schwere Azidose (pH < 7,1)
- Polyurisches Nierenversagen > 2,5 l/d, ab Harnstoffwerten von 50 mmol/l

1.1.2 Hämodialyse und Hämofiltration

1.1.2.1 Hämodialyse

Bei der Hämodialyse wird nach dem Prinzip des Konzentrationsausgleichs gelöster Substanzen zweier Flüssigkeiten, die durch eine semipermeable Membran getrennt sind, verfahren. Auf einer Seite der Filtermembran befindet sich das Blut, welches die harnpflichtigen Substanzen enthält. Auf der anderen Seite fließt im Gegenstromprinzip eine keimfreie, umkehrosmotisch aufbereitete Lösung, deren Elektrolytgehalt an die individuellen Bedürfnisse des Patienten angepasst werden kann. Die Filtermembran besitzt Poren, die für kleine Moleküle (z. B. Elektrolyte, Harnstoff) permeabel sind und große Moleküle (Plasmaproteine) zurückhalten. Die Grenze liegt bei der Hämodialyse meist bei 7000 Dalton. Mediatoren und Toxine sind deutlich größer und werden bei der Dialyse nicht eliminiert. Die Porengröße kann jedoch mit unterschiedlichen Filtertypen verändert und den jeweiligen Bedürfnissen angepasst werden.

Die Membranpassage einer Substanz ist also von der Porengröße des Filters und dem Konzentrationsgradienten zwischen Blut und Dialyselösung abhängig.

1.1.2.2 Hämofiltration

Das Prinzip der Hämofiltration ist, dass Blut unter Druck einen hochpermeablen Filter passiert. Dabei werden durch den Gradienten zwischen hydrostatischem und kolloidosmotischem Druck Flüssigkeiten und Substanzen bis zu einem Molekulargewicht zwischen 10 und 40 kDa, abhängig von der Porengröße des Filters, filtriert. Bei der Hämofiltration werden, im Gegensatz zur Dialyse, Harnstoff, Kreatinin und Phosphat gleich gut eliminiert. Auch größere Moleküle wie Heparin, Insulin, Myoglobin und Vancomycin können mit dem Hämofilter effizient abfiltriert werden. Plasmaproteine mit einem Molekulargewicht von ca. 50 kDa werden nicht filtriert.

Durch die Flüssigkeitsfiltration bei der Hämofiltration nimmt die Viskosität des Blutes zum distalen Filter hin zu, was mit einem hohen kolloidosmotischen Druck einhergeht. Dies kann ein Filterclotting begünstigen.

Das Filtrat wird bei der Hämofiltration durch Infusionslösungen, so genannte Substitutionslösungen, ersetzt. Diese können vor (Prädilution) oder nach dem Filter (Postdilution) zugegeben werden. Bei der Prädilution ergeben sich durch die Eliminierung, auch der Substitutionslösung, eine schwierige Bilanzierung und eine geringere Effektivität in der Entfernung harnpflichtiger Substanzen. Ein Vorteil des Prädilutionsverfahrens besteht in einer verminderten Viskosität sowie Koagulabilität durch den geringeren Hämatokrit im afferenten Schenkel mit der Folge verlängerter Filterlaufzeiten. Bei der Postdilution zeigte sich dagegen eine deutlich größere Effektivität der Filtration harnpflichtiger Substanzen, eine klarere Bilanzierung sowie geringere Kosten durch weniger Verbrauch an Substitutionslösungen.

Je nach Volumensituation des Patienten kann die Zufuhr der Substitutionslösung an die Menge des Ultrafiltrats angepasst werden.

1.1.2.3 Hämodiafiltration

Bei der Hämodiafiltration werden die Hämodialyse und Hämofiltration in Kombination eingesetzt. Dieses Verfahren wird vornehmlich bei chronischer Dialysepflichtigkeit angewendet und bietet die Möglichkeit sowohl kleine als auch mittelgroße Moleküle zu eliminieren und das Filtrat kontrolliert durch Elektrolytlösungen zu ersetzen.

1.1.3 Kontinuierliche Nierenersatzverfahren

Kontinuierliche Nierenersatzverfahren kommen vornehmlich bei kritisch kranken Patienten im Rahmen der Intensivtherapie zum Einsatz.

1.1.3.1 **CAVHF**

Bei der kontinuierlichen arterio-venösen Hämofiltration (CAVHF) wird jeweils ein Katheter in der Arteria und Vena femoralis genutzt. Der Blutfluss durch den Hämofilter ist direkt vom arteriellen Blutdruck abhängig, da keine zusätzlichen Pumpen verwendet werden. Durch den damit verbundenen schwankenden und geringen Blutfluss ist das Risiko eines Filterclottings relativ groß.

Der Nachteil dieses Nierenersatzverfahrens liegt in der Notwendigkeit eines arteriellen Gefäßzugangs und den damit verbundenen Risiken. Außerdem ist die Effektivität des Verfahrens abhängig vom arteriellen Blutdruck, der besonders bei kritisch kranken Patienten häufig erniedrigt ist. So erreicht dieses Verfahren nur eine Clearance Rate von ca. 10-15ml bei Normotonie. Bei Hypotonus wird die Clearance auf Werte unter 10ml verringert. Aufgrund dessen wird dieses Verfahren nur noch selten klinisch eingesetzt.

1.1.3.2 **CAVHD**

Die Effizienz der CAVHF kann durch die Erweiterung des Systems zur kontinuierlichen arterio-venösen Hämodialyse (CAVHD) gesteigert werden. Durch das Gegenstromprinzip kann die Clearance harnpflichtiger Substanzen erhöht werden. Für dieses Verfahren ist aber ein deutlich komplexeres Filtersystem nötig.

1.1.3.3 **CVVHF**

Bei der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration (CVVHF) wird venöses Blut durch Rollerpumpen in den extrakorporalen Kreislauf gepumpt. Das Blut passiert den Hämofilter und wird, mit Substitutionslösung angereichert, wieder intravenös infundiert. Die Filtrationsrate und der Blutfluss sind durch die eingesetzten Pumpen gut steuerbar. Auch bei Hypotonie können mit diesem Verfahren Filtrationsraten von 100ml/min erreicht werden. Als Gefäßzugang wir lediglich ein großlumiger, zentralvenöser Katheter benötigt.

1.1.3.4 CVVHD

Mit der Erweiterung der CVVHF zur kontinuierlichen veno-venösen Hämodialyse (CVVHD) kann man die Filtrationseffektivität steigern. Mit diesem Verfahren wird eine höhere Clearance, besonders kleinerer Substanzen, erreicht. Durch den deutlich größeren Material- und damit auch Kostenaufwand besteht gegenüber der CVVHF nur der Vorteil, dass kürzere bzw. intermittierende Behandlungen möglich sind.

1.2 Diskontinuierliche Nierenersatzverfahren

Die diskontinuierlichen Nierenersatzverfahren werden beim akuten Nierenversagen und kritisch kranken Patienten selten eingesetzt, da es durch raschen Flüssigkeitsentzug und häufiger auftretendes Disequilibriumsyndrom vermehrt zu hämodynamischen Komplikationen kommen kann. Diese Verfahren werden vornehmlich im ambulanten Bereich und bei hämodynamisch stabilen Patienten zur Therapie des chronischen Nierenversagens eingesetzt.

Die Vorteile dieser Verfahren bestehen in einer möglichen Mobilisierung des Patienten, der effektivsten Kaliumelimination und einer verminderten Schädigung von korpuskulären Blutbestandteilen durch nur kurzzeitigen Einsatz von Rollerpumpen. Außerdem ist in Ausnahmefällen eine Dialyse ohne oder mit deutlich verminderter Antikoagulation möglich.

1.2.1 Intermittierende arterio-venöse Hämodialyse

Die intermittierende arterio-venöse Hämodialyse wird zur dauerhaften Therapie der chronischen Niereninsuffizienz eingesetzt. Grundvoraussetzung für diese Dialysevariante ist eine ausreichende Kreislaufstabilität. Als Gefäßzugang wird meist eine operativ angelegte arterio-venöse Fistel am Unter- oder Oberarm mit oder ohne Kunststoffinterponat genutzt. Die Behandlung wird abhängig von Nierenrestfunktion, Körpergewicht und Herzfunktion in der Regel dreimal wöchentlich über 4-5 Stunden durchgeführt.

1.2.2 Peritonealdialyse

Die Peritonealdialyse wird vornehmlich im ambulanten Bereich zur Therapie des chronischen Nierenversagens eingesetzt. Bei diesem Verfahren wird die Dialyseflüssigkeit durch einen dauerhaft implantierten Katheter intraperitoneal instilliert. Die Diffusion der harnpflichtigen Substanzen erfolgt über die Kapillaren des Peritoneums. Die Peritonealdialyse birgt das Risiko einer Hypoproteinämie, da das Peritoneum für Plasmaproteine wesentlich besser permeabel ist, als eine künstliche Filtermembran.

1.2.3 GENIUS®

Die von Tersteegen entwickelte GENIUS[®]-Dialyse gehört im Gegensatz zu allen anderen geläufigen Dialyseverfahren zu den "Batch-Systemen" (statt single pass). Die Dialyseflüssigkeit wird in einem ca. 75 Liter fassenden Tank bereitgestellt. Nahe der

Oberfläche wird frische Dialyseflüssigkeit mittels einer Rollerpumpe entnommen und am Filter vorbeigeleitet. Nach der Filterpassage wird die verbrauchte Flüssigkeit am Boden des Tanks wieder eingeleitet. Die Vermischung beider Anteile wird durch einen Temperaturunterschied von ca. 1℃ verhindert. Es können Ultrafiltrationsraten von 100 bis zu 1000 ml/h gewählt werden.

Die Vorteile dieses Verfahrens liegen in optimalen bakteriologischen Eigenschaften und der individuellen Abstimmung der Dialyseflüssigkeit auf die Bedürfnisse des Patienten.

Eine Übersicht zu diesem Verfahren findet sich bei Fassbinder [6].

1.3 Antikoagulation bei extrakorporalen Verfahren

Das Standardantikoagulationsverfahren bei kritisch kranken Patienten, die ein extrakorporales Verfahren benötigen, ist meist die kontinuierliche Gabe von unfraktioniertem Heparin, welches über die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) oder Activated clotting time (ACT) gesteuert wird. Unter besonderen Umständen, wie zum Beispiel bei Patienten mit heparininduzierter Thrombozytopenie (HIT), ist jedoch die Verwendung alternativer Antikoagulantien notwendig [5].

1.3.1 Heparin

Die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins entsteht durch dessen Komplexbildung mit Antithrombin, dessen inhibitorische Aktivität gegenüber Faktor IIa und Faktor Xa dadurch um das ca. 1000fache gesteigert wird. Der antikoagulatorische Effekt des Heparins ist damit direkt vom Antithrombinspiegel abhängig.

Bei der kontinuierlichen Nierenersatztherapie gibt es keine einheitlichen Dosierungsprotokolle. In der Regel wird zunächst das extrakorporale System mit heparinisierter, isotonischer Natriumchloridlösung gespült. Vor Beginn der Behandlung erhält der Patient üblicherweise einen Heparinbolus von 5-10 IE/kg KG. Während der Behandlung erfolgt dann die kontinuierliche Heparinzufuhr von 3-12 IE/kg KG/h. Diese Dosierung wird im Verlauf der PTT oder ACT angepasst. Übliche Tagesdosen liegen bei ca. 10-15000 IE und sind mit denen einer Thrombembolieprophylaxe vergleichbar [5].

1.3.2 Regionale Antikoagulation mit Heparin

Die regionale Heparinisierung findet bei der kontinuierlichen Nierenersatztherapie nur in Einzelfällen Anwendung, da der erhoffte Vorteil gegenüber der systemischen Heparinisierung (eine Reduzierung von Blutungskomplikationen) ausblieb [7].

Das Verfahren strebt eine Heparinisierung des extrakorporalen Kreislaufs mit ca. 1,5-2fach verlängerter PTT bzw. ACT an. Postkapillär wird durch Protaminsubstitution eine nahezu normale PTT bzw. ACT erreicht. Dieses Vorgehen erfordert eine engmaschige Kontrolle der extrakorporalen und systemischen PTT bzw. ACT, um die Protamindosierung regelmäßig anzupassen. Zu beachten ist, dass Protamin eine geringere Halbwertszeit als Heparin hat und es zu einem Rebound-Phänomen kommen kann.

1.3.3 Niedermolekulare Heparine

Niedermolekulare Heparine sind Heparinderivate mit einem Molekulargewicht zwischen 3 und 9 kDa. Diese Substanzen werden durch enzymatische oder chemische Fraktionierung aus Heparin gewonnen. Die gerinnungshemmende Wirkung beruht hauptsächlich auf der Inaktivierung von Faktor Xa. Außerdem wird Faktor IIa inhibiert. Der antikoagulatorische Effekt ist wie bei unfraktioniertem Heparin Antithrombinabhängig. Die niedermolekularen Heparine zeichnen sich im Vergleich zu Heparin durch eine höhere Bioverfügbarkeit aus. Die Halbwertszeit beträgt ca. 2-4 h und bleibt bei Niereninsuffizienz trotz renaler Elimination nahezu unbeeinflusst. Die niedermolekularen Heparine führen seltener zu einer heparininduzierten Thrombozytopenie [8].

Zur Nierenersatztherapie wurden bisher Dalteparin, Nadroparin, Tinzaparin und Enoxaparin eingesetzt. Für den Einsatz zur kontinuierlichen Nierenersatztherapie liegen bisher nur wenige Studien vor [4].

1.3.4 Regionale Antikoagulation mit Zitrat

Als beste Alternative zur Heparinantikoagulation setzt sich, trotz des erhöhten Überwachungsaufwandes, zunehmend die regionale Zitratantikoagulation durch [9]. Natriumzitrat wirkt antikoagulatorisch durch Chelatbildung mit dem für die Gerinnungskaskade essentiellen Kalzium.

Bei Nierenersatzverfahren mit Zitrat wird eine regionale Antikoagulation durch die präkapilläre Infusion von Natriumzitrat praktiziert. Die Dosierung des Zitrats richtet sich nach der postkapillären ACT, die auf das 1,5-2fache verlängert sein sollte. Bei adäquater Dosierung tritt keine systemische Gerinnungshemmung auf, da das Zitrat durch das Serumkalzium sofort abgesättigt wird. Zur Vermeidung einer Hypokalziämie wird über einen weiteren Gefäßzugang gegebenenfalls Kalzium substituiert.

Natriumzitrat wird hepatisch zu Bikarbonat metabolisiert, wodurch abhängig von der individuellen Leberfunktion die Gefahr einer metabolischen Alkalose oder Azidose besteht. Zudem resultiert die Infusion von Natriumzitrat bei längerer Behandlung in einer nicht unerheblichen Natriumbelastung. Eine engmaschige Kontrolle der Elektrolytwerte und des Säure-Basen-Status sowie eine Abstimmung der verwendeten Substitutionslösungen sind somit angezeigt. Die Antikoagulation mit Zitrat zeigt selten

Blutungskomplikationen und kann eine Therapiealternative bei Patienten mit HIT sein [10].

1.3.5 Hirudin

Hirudin ist ein spezifischer Inhibitor des Thrombins und ist für die intravenöse Antikoagulation bei HIT-II-Patienten zugelassen. Hirudin wird renal eliminiert. Die Halbwertszeit (HWZ) beträgt 60-90 min und steigt bei Niereninsuffizienz auf 40-70 Stunden an. Eine vorsichtige Dosisanpassung bei der Gabe zur Nierenersatztherapie ist deshalb dringend notwendig. Die Überwachung dieser Therapie erfolgt mit der Messung der Hirudinplasmakonzentration oder der Ecarin clotting time (ECT). Besonders zu beachten ist, dass bisher kein Antidot zur Verfügung steht. Bei Überdosierung ist die Hämofiltration mit High-Flux-Polysulfon-Membranen die einzige Therapieoption. Es zeigte sich außerdem eine Häufung von Blutungskomplikationen unter der Therapie mit Hirudin [11-13].

1.3.6 Prostaglandine

1930 wurden von Ulf von Euler Substanzen im menschlichen Sperma entdeckt, die eine Blutdrucksenkende und uteruskontrahierende Wirkung hatten. Aufgrund der irrtümlichen Annahme, dass diese Substanzen in der Prostata gebildet werden, wurden sie als Prostaglandine (PG) bezeichnet. In den fünfziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts konnte man kristallisierbare Derivate isolieren. Diese wurden nach ihrer Löslichkeit als Prostaglandin E (Ether-löslich) bzw. Prostaglandin F (Fosfat-löslich, schwedische Schreibweise) bezeichnet.

Die Prostaglandine sind Gewebshormone, die chemisch aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren synthetisiert werden. Die einzelnen Substanzen bilden eine Unterklasse der Eikosanoide. Chemisches Grundgerüst der Prostaglandine ist die Prostansäure, eine Carbonsäure mit 20 Kohlenstoffatomen. Man unterscheidet mehrere Gruppen von Prostaglandinen, welche sich durch den Oxidationsgrad der C-9 und C-11-Atome unterscheiden.

1.3.6.1 Prostazyklin

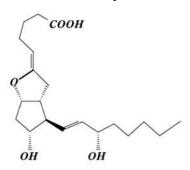


Abbildung 1: Strukturformel Prostazyklin

Prostazyklin (Prostaglandin I₂) ist eine natürlich im menschlichen Körper vorkommende Substanz. In vivo wird Prostaglandin in mehreren Schritten aus Phospholipiden der Zellmembranen gebildet. Zunächst wird durch die Phospholipase A Arachidonsäure aus Phospholipiden freigesetzt. Nachfolgend kommt es zur Oxidation und Reduktion durch die Cyclooxygenase. Abschließend konvertiert die Prostaglandinsynthetase Prostaglandin H₂ in Prostaglandin I₂. Nach Freisetzung wirkt das Prostazyklin vornehmlich lokal und zeitlich begrenzt, da die Substanz nicht gespeichert wird. In einem nicht-enymatischen Abbauprozess wird Prostazyklin rasch zu einem inaktiven Metabolit (6-keto-Prostaglandin F_{1a}) umgewandelt.

Prostazyklin ist ein instabiles Molekül, das bei physiologischem pH-Wert eine HWZ von ca. 2-3 min hat. Die antikoagulatorische Wirkung hält ca. 30 min an. Bei kontinuierlichen Nierenersatzverfahren wird mit einer Dosierung von 5-10 ng/kg KG/min eine ausreichende Antikoagulation erreicht [14]. Eine Kombination mit niedrig dosiertem Heparin kann angewendet werden, um im Hinblick auf mögliche hämodynamische Nebenwirkungen durch additive Effekte in der Gerinnungskaskade die Dosierung des Prostazyklins zu senken [15].

1.3.6.2 **Iloprost**

Iloprost ist ein synthetisch hergestelltes Analogon des endogenen Prostazyklins. Die genaue Struktur sowie die pharmakokinetischen und –dynamischen Eigenschaften von Iloprost werden im folgenden Abschnitt dargestellt.

1.4 Das stabile Prostazyklinanalogon lloprost

1.4.1 Geschichte

Iloprost ist ein stabiles Analogon des natürlich vorkommenden Prostazyklins, dessen Synthese erstmals im Jahr 1978 gelang, nachdem Vane et al. 1976 die Struktur des endogenen Prostazyklins aufgeklärt hatten.

1.4.2 Chemische Struktur

lloprost ist der empfohlene internationale Freinahme (recommended international non-proprietary name = RINN) für: 5-{(E)-(1S, 5S, 6R, 7R)-7-hydroxy-6-[(E)-(3S, 4RS)-3-hydroxy-4-methyl-1-octen-6-inyl]-bicyclo-[3.3.0]octan-3-yliden} pentanoic acid. Die Summenformel lautet $C_{22}H_{32}O_4$. Das Molekulargewicht von lloprost beträgt 360,48 kDa.

ATC-Code (Anatomisch-therapeutisch-chemisches Klassifikationssystem): B01AC11

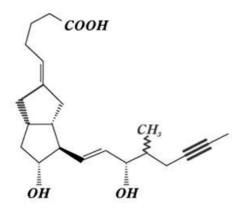


Abbildung 2: Strukturformel Iloprost

Im Unterschied zum Prostazyklin finden sich bei Iloprost eine Methyl-Gruppe an C16, Dreifachbindungen an der 18- und 19-Stellung sowie statt der Enol-Sauerstoff-Gruppe eine Methen-Gruppe (Abb.2).

Ungeachtet der Unterschiede im Molekülaufbau hat Iloprost ein ähnliches pharmakologisches Profil, wie das endogene Prostazyklin, wobei die physikochemische und *in vivo*-Stabilität erhöht sind.

1.4.3 Pharmakokinetik

Nach oraler Applikation von Iloprost erfolgt eine rasche Resorption mit maximalen Plasmaspiegeln nach 10±6 min. Die orale Bioverfügbarkeit beträgt aufgrund einer extensiven Biotransformation in Darmwand und Leber nur 16±4 %. Aufgrund dessen wird die intravenöse Applikation bevorzugt.

Das Gleichgewicht von Zufuhr und metabolischer Inaktivierung (Steady state) stellt sich bei intravenöser Infusion nach 10-20 min ein. Die Höhe des Steady-State-Plasmaspiegels verhält sich dabei linear zur verabreichten Dosis. Bei einer Dosis von z. B. 1 ng/kg KG/min sind Plasmaspiegel von etwa 46±8 pg/ml zu erwarten.

Es handelt sich um eine Verteilung in zwei Kompartimenten mit einem Verteilungsvolumen von ca. 0,7 l/kg KG. Die Halbwertszeit der α -Phase, die der initialen Verteilung zwischen den Kompartimenten entspricht, beträgt ca. 3-4 min. Die β -Phase, die der terminalen Elimination des Pharmakons entspricht, beträgt ca. 20-30 min. Selten wurde bisher eine dritte, so genannte γ -Phase, mit einer Halbwertszeit von > 1 h beobachtet, die vermutlich einer Mobilisierung aus tiefen Kompartimenten entspricht.

Die Bioinaktivierung von Iloprost erfolgt, wie bei anderen Fettsäuren, durch ß-Oxidation. Die erste Inaktivierung geschieht dabei an der oberen Seitenkette. Danach erfolgt eine Hydroxylierung oder Konjugation. Der Hauptmetabolit ist das pharmakologisch inaktive Tetranor-Iloprost. Die Ausscheidung der Metabolite erfolgt zu 80 % renal und zu 20 % biliär.

Die metabolische Plasma-Clearance von Iloprost beträgt bei Gesunden etwa 21±3 ml/kg KG/min und liegt damit höher als der gesamte Plasmafluss der Leber, was auf eine signifikante extrahepatische Biotransformation von Iloprost hinweist. Bei dialysepflichtigen Patienten kann sich die Clearance um den Faktor 4 vermindern.

Der größte Anteil von Iloprost liegt im Blutplasma an Albumin gebunden vor (Plasmaproteinbindung ca. 60 %), wodurch nur sehr niedrige Iloprostkonzentrationen erreicht werden und auch die Gefahr von Wechselwirkungen mit anderen Arzneimitteln als gering einzustufen ist. Eine zusammenfassende Darstellung der Pharmakokinetik von Iloprost findet sich bei Krause et al. [16].

1.4.4 Pharmakodynamik

Aufgrund der ubiquitären Verteilung der Prostaglandinrezeptoren besitzt Iloprost ein vielfältiges Wirkspektrum. Die folgenden pharmakologischen Effekte von Iloprost wurden bislang beobachtet: Dilatation von Arteriolen und Venolen. Inhibition der Thrombozytenaktivierung, –aggregation und –adhäsion, Aktivierung der Fibrinolyse, Hemmung der Adhäsion und Migration von Leukozyten, Verminderung der Freisetzung freier Sauerstoffradikale, Senkung der pathologischen Kollagensynthese in Fibroblasten sowie Erhöhung der funktionellen Kapillardichte und Verminderung der Gefäßpermeabilität in der Mikrozirkulation [16].

1.4.5 Der Prostanoidrezeptor

Der Prostanoidrezeptor gehört zur Familie der G-Protein gekoppelten Rezeptoren. Er besteht aus sieben Transmembrandomänen. Das Rezeptorgenom findet sich auf Chromosom 19 als eine Kombination aus drei Exons und zwei zwischengeschalteten Introns [17].

Man unterscheidet verschiedene Prostanoidrezeptoren, die durch den Buchstaben "P" und das Präfix "D", "E", "F", "I" oder "T" bezeichnet werden, um eine Präferenz für die Prostaglandine D, E, F, I oder Thromboxane zu kennzeichnen. Bisher wurden 4 Subtypen des EP-Rezeptors identifiziert: EP1 bis EP4. Iloprost ist ein potenter I-Prostanoid-Rezeptor-Agonist, der aber auch signifikant an zwei von vier E-Prostanoid-Rezeptoren (EP1 und EP3) bindet [18]. Nach Bindung an den Prostanoidrezeptor wird eine G-Protein vermittelte zytosolische cAMP-Erhöhung (cyclisches Adenosinmonophosphat) ausgelöst, die zu den vielfältigen Wirkungen von Iloprost führt.

In klinischen Studien wurde eine verringerte Rezeptorbindungskapazität ohne Verminderung der Rezeptoraffinität bei Patienten mit Diabetes, Nikotinabusus, Hypercholesterinämie IIa oder akutem Myokardinfarkt nachgewiesen [19].

1.4.6 Immunologische Wirkungen von Iloprost

Der Einfluss von Iloprost auf das Immunsystem setzt sich aus mehreren Aspekten zusammen. Iloprost hat einen modulierenden Effekt auf die Freisetzung von Zytokinen und zeigt außerdem Einfluss auf die Aktivierung, Chemotaxis und Adhäsion von Leukozyten. Des Weiteren weist Iloprost zytoprotektive Eigenschaften auf.

1.4.6.1.1 Einfluss von Iloprost auf die Zytokinfreisetzung

Die Synthese des Tumornekrosefaktors alpha (TNF-α) wird durch Iloprost auf Transkriptions- und Translationsebene inhibiert. So konnte gezeigt werden, dass durch die Therapie mit Iloprost sowohl die TNF-α-mRNA-Expression als auch die TNF-α-Synthese vermindert wurden [20]. Eine klinische Studie bestätigte nach 7-tägiger oraler Iloprosteinnahme eine verminderte TNF-α-Produktion *in vivo* und *ex vivo*. Außerdem fand sich ein verminderter s-p75TNF-Rezeptor-Plasma-Spiegel [21]. *In vitro* konnte gezeigt werden, dass Iloprost dosisabhängig außer der TNF-α- auch die IL-6-Expression in Lipopolysaccharid (LPS) -stimulierten Monozyten hemmt [22,23].

Die Prostaglandin-I2-Analoga Iloprost, Cicaprost und Treprostinil inhibieren die Produktion proinflammatorischer Zytokine und erhöhen außerdem signifikant die Ausschüttung von antiinflammatorisch wirksamem IL-10 [24,25]

Für das Prostazyklinanalogon Treprostinil wurde eine Inhibition der Sekretion und Genexpression von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF-α, IL-1β, IL-6 und Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierendem Faktor (GMCSF) nachgewiesen. Außerdem wurde für mehrere Prostazyklinanaloga eine Downregulation von NFκB durch Blockade der nukleären Translokation beschrieben [26].

Auch Prostazyklin moduliert die Zytokinfreisetzung aus mononukleären Zellen [27] und beeinflusst die GMCSF-Freisetzung aus Monozyten [28].

1.4.6.1.2 Einfluss von Iloprost auf die Leukozyten

Die verminderte Expression der Adhäsionsmoleküle ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule) und ELAM-1 (Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule) durch Iloprost und die gleichzeitige Verhinderung der Leukozyten-Endothel-Adhäsion [29] zeigt sich in einer Verminderung der Neutrophilen-Akkumulation bei Inflammation oder Gewebsläsion unter Iloprostgabe [30].

Die Prostaglandin-I2-Analoga Iloprost, Cicaprost und Treprostinil hemmen die Maturation von dendritischen Zellen, den potentesten Antigen präsentierenden Zellen, und ihre CD4-T-Zell-aktivierende Funktion [24].

Die synthetischen Prostazyklinanaloga haben aufgrund einer stark variablen Exprimierung des Prostaglandin-I-Rezeptors durch die Gewebsmakrophagen sehr unterschiedlichen Einfluss auf die Makrophagenfunktion und deren Zytokinproduktion. So exprimieren die Peritoneal-Makrophagen mehr Prostaglandin-I-Rezeptoren, als die Alveolarmakrophagen und werden dementsprechend stärker durch Prostaglandine beeinflusst [31].

1.4.6.1.3 Zytoprotektive Effekte von Iloprost

Der zytoprotektive Effekt von Iloprost entsteht durch eine Verminderung der Katecholaminfreisetzung aus sympathischen Nervenendigungen und die daraus resultierende Erhaltung der Mitochondrienfunktion. Diese bewirkt reduzierten oxidativen Stress mit geringerer Neutrophilen-Akkumulation und zusätzlicher Membranstabilisierung. Aber auch die Abnahme der Cathepsin-D-Aktivität sowie die Reduktion von Lipidperoxidation und Aldehydelimination können Ursachen der membranstabilisierenden und damit zytoprotektiven Eigenschaften von Iloprost sein [32,33].

1.4.7 Hemmung der Thrombozytenfunktion durch Iloprost

Iloprost wirkt als "common pathway"-Inhibitor hemmend auf alle Aktivierungsstadien der Thrombozyten. Dabei inhibiert Iloprost die Plättchenaktivierung bereits in Dosierungen, welche unterhalb der für die Hemmung der Plättchenadhäsion notwendigen Konzentrationen liegen.

Der gerinnungsinhibierenden Wirkung von Iloprost liegt eine komplexe Reaktion auf molekularer Ebene zugrunde. Iloprost bindet an den Prostaglandinrezeptor (PGI2-Rezeptor) auf der Thrombozytenoberfläche. Dies führt über das Guanosintriphosphat (GTP) GS zu einer Aktivierung der Adenylatzyklase und damit zur zytosolischen cAMP-Erhöhung [34,35]. Durch die darauf folgende Hemmung der Phospholipase A2 kommt es zu einer zytosolischen Kalzium-Senkung, welche zu einer Verminderung der Exposition fibrinogenbindender Rezeptoren auf Oberfläche und verminderter Actin-Myosin-Kontraktion führt [36].

Die notwendige Iloprostdosis zum Erreichen einer signifikanten Hemmung der Thrombozytenfunktion liegt bei ca. 0,5-2 ng/kg KG/min. *In-vitro-*Untersuchungen haben ergeben, dass bei einer Plasmakonzentration von 0,5 ng/ml die Thrombozytenfunktion zu 80% inhibiert wird [16]. Ebenfalls *in vitro* wurde gezeigt, dass Iloprost in seinen antiaggregatorischen und vasodilatatorischen Eigenschaften equipotent zu Prostazyklin (PGI₂) ist [37,38].

Cirka 1 bis 2 Stunden nach Beendigung der Iloprost-Therapie kann es mit einer Hyperaggregation der Thrombozyten zu einem Rebound-Phänomen kommen, welches aber klinisch keine Relevanz hat [39].

Nach Iloprostinfusion kann auch eine erhöhte fibrinolytische Aktivität beobachtet werden, als deren Ursache eine Verminderung von t-PA-Inhibitoren (tissue plasminogen activator) diskutiert wird. Möglicherweise kann diese fibrinolytische Aktivität sowohl zur Hemmung der Thrombenbildung als auch zur Verkleinerung bestehender Thromben beitragen [40].

1.4.8 Vasodilatation durch Iloprost

Iloprost hat auf den Gefäßtonus eine ausgeprägte vasodilatative Wirkung. Prostaglandine und ihre Analoga wirken über zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP), einen relaxierenden second messenger [41]. Als Mechanismus der Vasodilatation wird eine cAMP-Erhöhung im glatten Muskel der Gefäßwand mit der selektiven Öffnung von Kaliumkanälen angenommen. Eventuell spielt aber auch eine Modifikation der sympathischen Gefäßinnervation eine Rolle. Bei prolongierter Iloprost-Therapie konnte *in vitro* ein kompletter Verlust der vasodilatatorischen Wirkung von Iloprost durch die Phosphorylierung des Prostaglandinrezeptors durch Protein-Kinase C gezeigt werden [42].

Des Weiteren wirkt Iloprost den vasospastischen Effekten der Leukotriene (Thromboxan A₂ und Endothelin) an den glatten Muskelzellen der Arterien entgegen. Endothelin ist ein hochpotenter Vasokonstriktor, dessen Isoform Endothelin-1 (ET-1) besonders potent auf das Herz-Kreislauf-System wirkt. Es gibt bisher zwei bekannte Endothelinrezeptortypen, wobei ET_A die vasokonstriktorische Wirkung an den glatten Muskelzellen der Gefäßwand vermittelt. Iloprost inhibiert die vasokonstriktorische Wirkung von Endothelin-1 (ET-1) auf arterielle und venöse Gefäße [43,44]. Außerdem gibt es Hinweise auf eine verminderte Freisetzung von ET-1 mit Senkung des Plasmaspiegels unter Iloprost.

Prostazyklin und Iloprost wurden im Rahmen von Studien zur therapeutischen Vasodilatation bei Patienten mit peripher arterieller Verschlusskrankheit eingesetzt. Es konnte eine signifikante Erhöhung der Muskeldurchblutung nach Prostazyklininfusion und damit eine bessere Ulkusheilung sowie eine Verringerung des Amputationsrisikos und der Mortalität nachgewiesen werden [45].

Iloprost senkt durch seine vasodilatatorischen Eigenschaften dosisabhängig den arteriellen Blutdruck sowie den peripheren und pulmonalen Gefäßwiderstand. Zusätzlich verursacht es eine leichte Herzfrequenz- und Cardiac-Index-Erhöhung ohne den kardialen Sauerstoffbedarf zu erhöhen [46]. Im in dieser Studie verwendeten Dosisbereich von 1 ng/kg KG/min konnte bisher keine Beeinflussung des Blutdrucks oder der Herzfrequenz beobachtet werden [47].

1.4.9 Renale Effekte von Iloprost

Durch Iloprost wird der renale Plasmafluss ab einer Dosierung von 2 ng/kg KG/min erhöht. Ursache dafür könnte die Exprimierung von EP1, EP4, FP und TP-Prostaglandinrezeptoren durch renale Podozyten sein [48]. Unabhängig von der gesteigerten Perfusion zeigt Iloprost einen natriuretischen Effekt durch Verringerung der Natriumrückresorption im aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife [49].

1.4.10 Klinische Anwendung

Für die klinische Anwendung von Iloprost sind vor allem die vasodilatatorische Wirkung, die Hemmung der Thrombozytenaggregation, die Endothelprotektion und die Steigerung des fibrinolytischen Potentials von Bedeutung.

Iloprost (Ilomedin[®]) ist zurzeit in Deutschland nur für die Therapie der Thrombangitis obliterans, die Behandlung schwerer Durchblutungsstörungen ohne Revaskularisierungsmöglichkeit und seit 2003 inhalativ (Ventavis[®]) zur Therapie der primären pulmonal arteriellen Hypertonie (PPH, NYHA III) zugelassen.

Bei der Thrombangitis obliterans (Synonym: Morbus Winiwarter-Buerger) handelt es sich um eine segmentale multilokuläre Angiitis der kleinen und mittleren Arterien und Venen der Extremitäten mit sekundärer Thrombosierung des Lumens. Angiologischen findet Iloprost besonders bei der peripher arteriellen Verschlusskrankheit (paVK), dem Ulcus cruris und dem Raynaud-Phänomen Anwendung.

Der antiaggregatorische Effekt impliziert darüber hinaus eine Anwendung bei extrakorporalen Verfahren. So wurde Iloprost bereits bei der Herz-Lungen-Maschine (HLM), bei der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration (CVVH), dem Molecular adsorbend recirculation system (MARS) und der extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) eingesetzt.

1.4.11 Nebenwirkungen von Iloprost

Die häufigsten Nebenwirkungen von Iloprost sind Vasodilatation, die zu Gesichtsrötung (Flush) (58,0 %) oder Kopfschmerz (68,8 %) führt und gastrointestinale Symptome (bis zu 29,7 %). Diese sind meist Ausdruck der pharmakologischen Eigenschaften von Iloprost. Ein spezifisches Antidot für Iloprost ist nicht bekannt.

1.5 Ergebnisse bisheriger Forschungen

1.5.1 Prostaglandine und extrakorporale Zirkulation

Bereits bei einer Dosis von 1 ng/kg/min Iloprost werden alle exogenen Stimuli der Thrombozytenaggregation funktionell antagonisiert [50]. Diese thrombozytenaggregationshemmende Wirkung ist auch bezogen auf den Einsatz von Iloprost in extrakorporalen Kreisläufen entscheidend. Sie verhindert die Blutgerinnung bei Kontakt mit Fremdoberflächen. Die plasmatische Gerinnung bleibt dabei unbeeinflusst.

1.5.1.1 Prostaglandine und Dialyse

Bereits 1980 wurde Prostazyklin zur additiven Therapie im Rahmen der Dialyse eingesetzt, jedoch zunächst nur um den Heparinbedarf zu reduzieren [51].

Später wurde Prostazyklin auch zur alleinigen Antikoagulation im Rahmen der CVVH eingesetzt. Dabei wurde eine Dosierung von 4 ng/kg KG/min angewendet. Eine erhöhte Inzidenz für Blutungsereignisse oder hämodynamische Nebenwirkungen wurde nicht beobachtet [52].

Das stabile Prostazyklinanalogon Iloprost wurde bisher in einer Dosierung von 1–2 ng/kg/min im Rahmen der CVVH zur Antikoagulation eingesetzt. Dabei wurde eine deutliche Verlängerung der Filterlebensdauer auf bis zu 12 Tage beobachtet [3].

1.5.1.2 Prostaglandine und HLM

Bei kardiochirurgischen Patienten konnte gezeigt werden, dass durch den Einsatz von Iloprost zur Herz-Lungen-Maschine (HLM) der Thrombozytenverlust im extrakorporalen Kreislauf signifikant reduziert wurde. In einer Dosierung von 10 ng/kg/min konnte dabei völlig auf Heparin verzichtet werden [53].

Bei Patienten mit heparininduzierter Thrombozytopenie wurde die Wirkung von Iloprost auf die Stabilität der Thrombozytenzahl und -funktion unter HLM bei koronarer Bypass-Chirurgie bestätigt [54].

1.5.1.3 Prostaglandine und ECMO

In einer tierexperimentellen Studie setzten Cottrell et al. schon 1988 lloprost bei extrakorporaler Membranoxygenierung (ECMO) ein. Unter einer Dosierung von 150ng/kg/min lloprost über 30 min konnte eine signifikante Hemmung der Thrombozytenreaktivität nachgewiesen werden und ein verminderter Thrombozytenabfall. Außerdem wurde ein reduzierter Spiegel von Thrombospondin, einem thrombozytenspezifischen Protein, nachgewiesen, was für eine verminderte Degranulation der Thrombozyten spricht [55].

1.5.1.4 Prostaglandine und MARS®

Im Gegensatz zur Dialyse, bei der hauptsächlich wasserlösliche Toxine gefiltert werden, werden beim MARS®-System (Molecular Adsorbent Recirculating System) proteingebundene Toxine (z. B. Bilirubin) und Ammoniak über eine großporige Membran auf Grundlage der Albumindialyse eliminiert. Bisher wurde Prostazyklin als einziges Prostaglandin in einer Dosierung von 3-5 ng/kg KG/min im Rahmen einer MARS®-Therapie, sowohl als alleiniges Antikoagulans, als auch in Kombination mit Heparin, erfolgreich eingesetzt [56].

1.5.2 Immunologische Aspekte extrakorporaler Verfahren

Bei der Behandlung mit extrakorporalen Verfahren treten verschiedene Interaktionen zwischen Fremdoberflächen und Blut auf, die das Immunsystem aktivieren. Dazu gehören unter anderem die Adhäsion und Aktivierung von Monozyten sowie die Komplementsystemaktivierung an der Filtermembran und endotoxämische Komponenten der Dialyselösungen. Besonders bei chronisch dialysepflichtigen Patienten wurden diese Immunaktivierung und die damit verbundenen erhöhten Zytokinspiegel untersucht [57,58].

Die Monozyten spielen bei der Zytokinfreisetzung unter Dialyse vermutlich eine entscheidende Rolle. Sie sezernieren nach Aktivierung durch den direkten Kontakt mit den Fremdoberflächen, durch Komplement oder durch endotoxinähnliche Bestandteile der Dialyselösung die Zytokine IL-1 β , IL-6 und TNF- α [59]. Die Transkription der mRNA für IL-1 β und TNF- α wird durch Komplementaktivierung stimuliert. Zur Induktion der Translation trägt Komplement jedoch nicht bei [60].

In der Intensivtherapie werden unterschiedliche Filtermembranen eingesetzt. Ursprünglich waren die meisten Hämofilter aus Zellulose. Zusätzlich werden heute vermehrt synthetische Materialien wie Polysulfon, Polyamid, Polyacrylnitrit, Polycarbonat und Polymethylmetacrylat verwendet. Die verschiedenen Membrantypen aktivieren das Komplementsystem unterschiedlich stark. Die stärkste Immunaktivierung wird bei Zellulosemembranen beobachtet [60].

Alle Untersuchungen der Plasmazytokinspiegel im Rahmen der Dialysetherapie werden durch die Filtration der Zytokine selbst beeinflusst [61]. In Studien versuchte man dieses Phänomen aber auch schon therapeutisch einzusetzen, da die erhöhten Zytokinlevel in direktem Zusammenhang mit einer erhöhten Mortalität stehen [62,63]. So wurde mit relativ großporigen Filtern eine Elimination der großmolekularen Interleukine (IL) angestrebt [64].

Auch die Immunkompetenz des einzelnen Patienten ist von Bedeutung. Bei chronisch dialysepflichtigen Patienten führt die Beeinträchtigung des Immunsystems durch Niereninsuffizienz, Urämietoxine und Bioinkompatibilität der Dialysemembranen zu einer Verminderung der Monozytenaktivität [65,66]. Auch die Dauer der Dialysepflichtigkeit trägt zu einer verminderten Monozytenaktivität bei [67]. Kritisch Kranke mit akutem

Nierenversagen dagegen haben eine beeinträchtigte monozytäre Zytokinfreisetzung und erhöhte Plasmazytokinlevel, die sie von chronisch Niereninsuffizienten unterscheiden [68].

1.5.3 Immunologische Parameter und Prostaglandine

1.5.3.1 **IL-6**

Interleukin-6 ist ein Polypeptid mit einer Homologie zu G-CSF. Es wird von den Zellen des Immunsystems gebildet, darunter T- und B-Lymphozyten, Monozyten, Fibroblasten, Keratinozyten, Endothelzellen, Astrozyten, Knochenmarksstromazellen sowie einige Tumorzellen [69].

IL-6 besteht aus 184 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht zwischen 18 und 22 kDa sowie eine Halbwertszeit von 1h.

IL-6 ist einer der Hauptinduktoren der Akute-Phase-Reaktion, als Antwort auf Inflammation, Gewebshypoxie oder Trauma. Zusammen mit IL-1 und TNF-α induziert es die Synthese von Akute-Phase-Proteinen wie C-reaktives Protein (CRP) und Fibrinogen [70,71]. Des Weiteren trägt IL-6 zur Regulation von Wachstum und Differenzierung einiger Zelltypen bei, welche in Immunsystem, Hämatopoese und Inflammation eine Rolle spielen. IL-6 induziert die finale Differenzierung der B-Zellen zu antikörperproduzierenden Plasmazellen, womit es auch ein Wachstumsfaktor für Myelom- bzw. Plasmozytomzellen darstellt. Außerdem bewirkt IL-6 an Endothelzellen eine Expression von Adhäsionsmolekülen [72].

Dabei ist IL-6 immer ein Teil des komplexen Zytokinsystems in dem die finalen Effekte der Einzelsubstanzen entscheidend von synergistischen und antagonistischen Effekten anderer Zytokine abhängen. Somit ist IL-6 ein pleiotropes Zytokin mit multiplen endokrinen, parakrinen und auch autokrinen Funktionen an verschiedensten Zielzellen.

Bei gesunden Menschen liegen die IL-6-Werte im Serum unterhalb der Nachweisgrenze bzw. dem Grenzwert von <15 pg/ml für Erwachsene.

Konzentrationen Hohe von IL-6 kann schweren man dagegen bei Inflammationsreaktionen beobachten. Aufgrund dessen wird IL-6 als Prognose- oder bei Sepsis, Trauma und Herzinsuffizienz aber Verlaufsparameter Aktivitätsdiagnostik chronischer Entzündungsprozesse eingesetzt [71,73,74].

Der Einfluss von Iloprost auf den IL-6-Plasmaspiegel ist noch nicht eindeutig geklärt. In vitro konnte an humanen Monozyten eine Verminderung der intrazellulären Produktion von IL-6 unter Iloprost nachgewiesen werden [22].

1.5.3.2 sCD-14

CD-14 gehört zu den so genannten "Cluster-of-differentiation"-Oberflächenmolekülen. CD-Moleküle sind membrangebundene Glykoproteine, die auf der Oberfläche aller Zellen des menschlichen Körpers exprimiert werden und die verschiedensten Funktionen erfüllen.

CD-14 ist ein 53 kDa großes membranständiges Glykoprotein (mCD-14), welches als Lipopolysaccharidrezeptor fungiert. Es ist mit einem Glycerophosphatidylinositol (GPI)-Anker in der Zellmembran fixiert. Lipopolysaccharide (LPS), auch Endotoxine genannt, sind Fragmente der äußeren Zellwand von gramnegativen Bakterien. Sie sind hochpotente Antigene und Aktivatoren des Immunsystems. Vor allem Monozyten, Makrophagen und Granulozyten exprimieren mCD-14.

Nach LPS-Kontakt kann CD-14 als lösliches Protein sezerniert werden oder aber von der Zelloberfläche abgelöst werden ("Shedding"). Beide Mechanismen führen zu einem Anstieg von löslichem CD-14 (soluble CD-14 bzw. sCD-14) im Blut. Die unterschiedlichen Ursprungsorte erklären die verschiedenen Molekulargewichte der zwei löslichen Isoformen (49 und 55 kDa) des sCD-14. Sie zirkulieren nach der Freisetzung als Plasmaproteine in der Blutbahn. sCD-14 wird von Monozyten und Makrophagen abgegeben und kann mCD-14 negative Zellen, z. B. Endothel- und Epithelzellen, für LPS sensibilisieren [75].

Nach Bindung von LPS an den mCD-14-Rezeptor kommt es zur Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen, wie IL-1, IL-6, IL-12 und TNF-α. Über welchen intrazellulären Signaltransduktionsmechanismus die LPS-Wirkung am mCD-14-Rezeptor vermittelt wird, ist noch nicht vollständig geklärt. Die mCD14-Expression wird außerdem durch TNF-α und IL-1β im Sinne einer positiven Rückkoppelung verstärkt. Somit handelt es sich bei CD-14 um ein proinflammatorisches Zytokin. Der Referenzbereich für sCD-14 im Plasma liegt bei 7,4 μg/ml (2,2-18,3 μg/ml). In einigen Studien wurde die sCD-14-Konzentration im Plasma auch auf den Plasmaproteingehalt berechnet, um Störungen durch Verdünnungsartefakte auszugleichen [76].

Im Rahmen der CVVH-Therapie scheinen unterschiedliche Filtermembranmaterialien (Polysulfon, Zellulose) die Monozyten verschieden stark zu aktivieren und damit auch den

sCD-14- Plasmaspiegel zu beeinflussen [77]. Auch die Filterporengröße spielt eine Rolle, denn bei großporigen Membranen kann es zur Filtration von sCD-14 kommen.

Der Einfluss von Iloprost oder anderen Prostaglandinen auf den sCD-14-Plasmaspiegel ist bisher noch wenig untersucht.

1.5.3.3 Leukozyten

Die Leukozytenzahl spielt bei der Diagnostik von Infektionen, Entzündungen, Gewebsnekrosen, Anämien, Leukämien, myelo- und lymphoproliferativen Erkrankungen, malignen Tumoren und Knochenmarksdepression eine wichtige Rolle.

Die Leukozytenzahl wird zu 65% von Granulozyten ausgemacht, die über cirka 10 Tage im Knochenmark reifen. Nach Verlassen des Knochenmarks zirkulieren sie über einige Stunden im Blut und gelangen durch Chemotaxis an den Ort der Gewebsläsion, Infektion oder Entzündung. Vorhandene Erreger werden vom Granulozyten phagozytiert und in Phagolysosomen abgebaut. Im Gewebe kann der Granulozyt ca. 4-5 Tage überleben.

Erhöhte Leukozytenwerte treten z. B. bei Infektionen, entzündlichen Erkrankungen, akuten Blutverlusten, metabolischen Entgleisungen und myeloproliferativen Krankheiten auf.

Tierexperimentell konnte am Sepsismodell der Ratte unter Iloprosttherapie eine verminderte Leukozytenaktivierung und -adhärenz nachgewiesen werden [30]. Auch in vitro konnte gezeigt werden, dass Iloprost die Leukozyten-Endothel-Interaktion über vermindert exprimierte Adhäsionsmoleküle (ICAM-1, ELAM-1) negativ beeinflusst [29].

1.5.3.4 Thrombozyten

Thrombozyten sind mit einem Durchmesser von 1,5 bis 3,0 µm die kleinsten korpuskulären Bestandteile des Bluts. Sie besitzen keinen Zellkern und sind daher keine Zellen im klassischen Sinne, da sie mangels Erbinformation nicht zur Teilung befähigt sind. Thrombozyten entstehen durch Abschnürung von Megakaryozyten des Knochenmarks. Dieser Vorgang wird durch das Hormon Thrombopoietin induziert.

Die Hauptfunktion der Thrombozyten liegt in ihrer Rolle bei der Blutgerinnung. Durch Aktivatoren wie beispielsweise ADP, Kollagen und Thrombin werden die Thrombozyten aktiviert und verändern ihre Form. Es kommt zu einer Ausbildung von Pseudopodien, was

zu einer deutlichen Oberflächenvergrößerung führt. Durch diese Formänderung wird die fibrinvermittelte Thrombusbildung durch Aggregation mit anderen Thrombozyten begünstigt.

Außerdem sind die Thrombozyten über im Plasma enthaltene mRNA in der Lage eigenständig Proteine zu synthetisieren.

Bei gesunden Personen gilt eine Thrombozytenzahl von 150.000–380.000 pro µL Blut als Normalwert. Die durchschnittliche Lebensdauer von Thrombozyten beträgt acht bis zwölf Tage. Der Abbau erfolgt hauptsächlich in der Milz sowie in der Lunge und, in geringerem Maße, in der Leber.

Im Rahmen der kontinuierlichen Hämofiltration kommt es häufig zu einem Thrombozytenabfall. Der tägliche Thrombozytenverlust wird dabei auf bis zu 625 x 10⁹ Zellen geschätzt. Beeinflusst wird der Thrombozytenschwund durch den kapillären Blutfluss [78]. Durch Hämofiltration oder -dialyse kommt es zu einer Plättchendysfunktion mit verminderter Aktivität durch Fremdoberflächenkontakt [79].

Die Gabe von Prostazyklin führt zu geringerer GP IIb-IIIa- und P-Selektin-Expression auf aktivierten Thrombozyten und verminderter Thrombozyten-Leukozyten-Aggregation [80].

1.5.3.5 CRP

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein klassisches Akute-Phase-Protein mit einem Molekulargewicht von 120 kD. Diese Plasmaproteine, die in der Leber synthetisiert werden und der humoralen Abwehr dienen, steigen bei akuten Entzündungen innerhalb von 6-48 Stunden deutlich an (Akute-Phase-Reaktion). CRP ist ein empfindlicher, aber auch unspezifischer Indikator für eine solche Reaktion. Es kann eine Vielzahl unterschiedlicher exogener und endogener Liganden binden und dadurch das Komplementsystem aktivieren.

Bei der Diagnostik von Organerkrankungen, der Beobachtung des Ausmaßes einer Infektion, der Beurteilung des Therapieerfolgs und zum Treffen prognostischer Aussagen ist CRP ein wichtiger Laborparameter.

Erniedrigte CRP-Werte können bei Polymyalgia rheumatica, Morbus Crohn und tiefen Venenthrombosen vorkommen.

1.5.3.6 Fibrinogen

Fibrinogen ist ein im Blut zirkulierendes Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 340 kDa. Es wird primär in den Hepatozyten synthetisiert. Fibrinogen (Faktor I) gehört ebenfalls zur Gruppe der Akute-Phase-Proteine und ist in der Gerinnungskaskade außerdem das Substrat des Thrombins und des Plasmins. Bei entzündlichen Reaktionen steigt es mit einer Verzögerung von 24-48 Stunden auf abnorm hohe Konzentrationen an. Zu einem ausgeprägten Fibrinogenmangel kann es infolge von Synthesestörungen bei schweren Leberparenchymschäden kommen. Meist beruht der Fibrinogenmangel jedoch erhöhten Verbrauch, Z. B. durch Verbrauchskoagulopathie Hyperfibrinolyse. Fibrinogen führt in erhöhter Konzentration zu dem Rouleaux-Phänomen, bei dem sich die Erythrozyten in Rollen lagern, welches die Ursachen für die erhöhte Blutkörpersenkungsgeschwindigkeit bei Infektionen ist. Fibrinogen ist zudem ein unabhängiger Risikofaktor für atherosklerotische Erkrankungen (Framingham-, Northwick Park Heart- Studie).

Daraus ergibt sich die Indikation zur Bestimmung des Fibrinogens bei pathologischen Thromboplastinzeit- (TPZ) und aPTT-Werten, zur Überwachung fibrinolytischer Therapien, als präoperatives Screening, zur Verlaufskontrolle bei Verbrauchskoagulopathie und Lebererkrankungen.

Niedrige Werte werden durch den Verbrauch Fibrinogen, B. bei von Verbrauchskoagulopathie, Hyperfibrinolysen mit Spaltprodukthemmung, fibrinolytischer Leberparenchymerkrankungen erblich Therapie, schwerer oder bedingter Dysfibrinogenämie erworben.

Bei einer Akute-Phase-Reaktion, Diabetes, Schwangerschaft, Koronarer Herzkrankheit (KHK), Nikotinabusus, akuter venöser Thrombembolie, Apoplex oder Neoplasien kommt es zu erhöhten Werten. Auch die Einnahme oraler Kontrazeptiva führt zu hohen Fibrinogenwerten.

2 Herleitung der Aufgabenstellung

Im Rahmen der intensivmedizinischen Therapie stellen Infektionen ein sehr häufiges Problem dar. Bei weiter steigender Inzidenz (ca. 116/100.000) und noch immer hoher Mortalität ist die Therapie der Sepsis eine besondere Herausforderung im Bereich der Intensivmedizin.

Die Prävalenz der Sepsis auf Intensivstationen in Deutschland liegt derzeit bei cirka 12,4%, die der schweren Sepsis bei cirka 11% (Definition Sepsis nach American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference [81]). Die Krankenhausmortalität bei schwerer Sepsis beträgt zurzeit 55,2%. Die im Rahmen der Sepsis am häufigsten auftretenden Organversagen betreffen Lunge und Niere, wobei das akute Nierenversagen zusammen mit dem APACHE-Score (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation-Score) den höchsten prädiktiven Wert bezüglich der Mortalität besitzt [82].

Das akute Nierenversagen tritt mit einer hohen Inzidenz bei kritisch kranken Patienten auf. Es macht den frühzeitigen Einsatz maschineller Nierenersatzverfahren erforderlich [83]. Zur Vermeidung einer Gerinnungsaktivierung in den Schlauch- und Filtersystemen der Dialysegeräte erfolgt in der Regel eine systemische Antikoagulation mit Heparin. Trotzdem kommt es häufig zu akuten, koagulationsbedingten Funktionsstörungen der Geräte. Da hierbei eine Retransfusion des Blutes aus dem Schlauch- und Filtersystem oft nicht möglich ist, sind Blutverluste und Kreislaufbelastungen bei den kritisch Kranken oft die Folge.

Das stabile Prostazyklinanalogon Iloprost ist ein potenter Inhibitor der Thrombozytenaggregation und erscheint daher zur alternativen oder zusätzlichen Antikoagulation im Rahmen der extrakorporalen Zirkulation geeignet.

In dieser Studie wurde dementsprechend der Einfluss von Iloprost auf immunologische Parameter im Rahmen der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration untersucht.

In dieser Arbeit sollten folgende Fragen beantwortet werden:

- 1. Inwieweit werden die Plasmaspiegel von Inflammationsparametern wie IL-6, sCD-14, CRP und Fibrinogen im Rahmen der CVVH durch Iloprosttherapie beeinflusst.
- 2. Wird die Leukozyten- und Thrombozytenzahl durch Iloprosttherapie während der CVVH-Behandlung beeinflusst.
- 3. Beeinflusst die Gabe von Iloprost außerdem die Filterlaufzeit, den ATIII-Plasmaspiegel, die D-Dimere und die Retentionswerte im Rahmen der CVVH-Behandlung.

3.1 Patientengut

Nachdem die schriftliche Einverständniserklärung der Patienten oder ihrer gesetzlicher Vertreter vorlag, wurden 20 Patienten der Intensivstationen 101i und 103i der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin an der Charité Campus Mitte, Universitätsmedizin Berlin in diese prospektive, randomisierte und kontrollierte Pilotstudie eingeschlossen. Das Votum der Ethikkommission lag vor. Es erfolgte eine Randomisierung durch Losverfahren. Hierbei wurden die Patienten zwei Gruppen zugeordnet.

Die Kontrollgruppe erhielt unfraktioniertes Heparin (Liquemin N, Roche, Grenzach-Wyhlen) adaptiert an eine angestrebte aPTT von 40-50 s. Die Iloprostgruppe erhielt zusätzlich zum Heparin 1 ng/kg KG/min Iloprost (Ilomedin, Schering AG, Berlin). Die aPTT wurde auch in dieser Gruppe auf 40-50 s eingestellt.

Die Zubereitung der Ilomedin-Infusionslösung erfolgte direkt vor der Applikation. Es wurde eine Verdünnung von 25 μg bzw. 50 μg Ilomedin in 50 ml physiologischer NaCl-Lösung verwendet. Die Konzentration in der Infusionslösung betrug 500 ng/ml bzw. 1000 ng/ml. Die Infusion der fertigen Lösung erfolgte durch einen Perfusor in den afferenten Schenkel der CVVH.

3.1.1 Einschlusskriterien

Die Einschlusskriterien waren:

- Alter >18 Jahre
- aNV bzw. Indikation zum maschinellen Nierenersatzverfahren
- keine Kontraindikation für Iloprost (laut Fachinformation)
- Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung

3.1.2 Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien waren:

- Schwangerschaft oder Stillzeit
- bekanntes Anfallsleiden
- moribunde Patienten
- bekannte angeborene Gerinnungsstörungen
- HIT-II
- chronische Niereninsuffizienz mit vorbestehender Dialysepflichtigkeit
- akute Blutungen und das Nichterfüllen der Einschlusskriterien.

3.1.3 Unerwünschte Ereignisse

Ein Patient wurde aus der Studie ausgeschlossen, wenn folgende Ereignisse während der Beobachtungszeit auftraten: akute Blutung, notwendige Operationen oder Punktionen sowie eine fehlende Indikation zur weiteren CVVH-Behandlung.

3.2 Nierenersatzverfahren

Als Gefäßzugang für die CVVH wurde ein venöser Doppellumenkatheter (2x16G, Arrow International, USA) in der Vena jugularis, subclavia oder femoralis verwendet.

Es wurde eine kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration mit den Geräten BM 11 bzw. BM 14 (Baxter, McGaw Park, Illinois, USA) und dem Filtersystem Polyflux 11S, 1,1 m² Haemofilter ("cut-off point" annähernd 30 kD, Gambro Dialysatoren, Hechingen) durchgeführt. Der Blutfluss betrug 150 ml/min und die Substitutionsrate 1 l/h. Die bikarbonatgepufferte Substitutionslösung wurde nach dem Filter zugeführt (Postdilution mode). Die Antikoagulantien wurden präkapillär infundiert.

3.3 Messprotokoll

Der maximale Beobachtungszeitraum betrug 7 Tage. Blutabnahmen erfolgten einmal direkt bei Einschluss an die Studie und noch vor CVVH-Anschluss sowie während des Beobachtungszeitraumes alle 6 Stunden. Die Blutentnahmen erfolgten am arteriellen Gefäßzugang mittels eines Monovettensystems (Sarstedt). Von den gewonnenen Blutproben wurde ein Teil unmittelbar in das Kliniknotfalllabor gebracht um die folgenden Parameter zu bestimmen: Fibrinogen, Antithrombin III (AT III), Thrombozyten, Leukozyten und D-Dimere.

Der andere Teil des Blutes wurde sofort zentrifugiert und das Plasma bei -84℃ konserviert, um später die Bestimmung von IL-6 und sCD-14 durchführen zu können.

Im Rahmen der täglichen stationären Routineblutentnahmen wurden Kreatinin, Harnstoff und CRP gemessen.

3.4 Laborarameter

3.4.1 **IL-6**

Interleukin-6 wurde aus EDTA-Plasma bestimmt, welches bis zur Durchführung des Tests bei -84℃ konserviert wurde. Die Bestimmung erfolgte mittels eines ELISA (Enzyme linked immunoadsorbent Assay) -Tests (Human Interleukin-6, ELISA Kit, Fa. BioSource International, Inc., USA).

Es wurde eine Mikrotiterplatte verwendet, die mit einem monoklonalen Antikörper gegen humanes IL-6 beschichtet ist. 100 µl Probevolumen sowie Standard- und Eichlösungen wurden in die Mikrotiterplatte pipettiert. Danach wurden 50 µl eines biotinylierten monoklonalen Antikörpers zugegeben. Während der nun folgenden 120 min Inkubationszeit band das IL-6 (Antigen) sowohl an die Antikörperbeschichtung der Mikrotiterplatte als auch den biotinylierten Antikörper. Nach der Entfernung der überschüssigen Antikörperlösung durch viermaliges Waschen mit einer Pufferlösung, wurde nun 100 µl Streptavidin-Peroxidase hinzugefügt. Dieses Enzym bindet während der folgenden 30 min Inkubationszeit an den biotinylierten Antikörper und vervollständigt damit das "4-Komponenten-Sandwich". Es erfolgte erneut eine viermalige Waschung mit Pufferlösung zur Entfernung ungebundener Enzymmoleküle. Anschließend wurden 100 µl einer Substratlösung (Tetramethylbenzidin) zugegeben, die im Folgenden von den gebundenen Enzymmolekülen gespalten wird, so dass ein blauer Farbstoff entsteht. Die

Intensität dieser Reaktion wird nach 30 min und dem Zugeben einer Stoppsubstanz (50 µI), die die Enzymaktivität ausschaltet, photometrisch bei 450 nm gemessen. Die Intensität der entstandenen Farbe ist damit direkt proportional zur IL-6-Konzentration in der Probe. Durch die Mitführung von Standardlösungen mit definierten IL-6 Konzentrationen können quantitative Werte ausgegeben werden.

Die Sensitivität des Tests betrug 2 pg/ml. Der Inter-Assay Korrelationskoeffizient betrug < 8% und der Intra-Assay Korrelationskoeffizient < 6%.

3.4.2 sCD-14

Die Werte für das lösliche CD-14 wurden aus EDTA-Plasma bestimmt, das bis zur Durchführung des Tests bei -84°C konserviert wurde. Die Bestimmung erfolgte mittels eines ELISA (Enzyme linked immunoadsorbent Assay) -Tests (Human soluble CD-14 EASIS, ELISA Kit, Fa. BioSource International, Inc., USA).

Es wurden jeweils 50 µl Serum sowie Standard- und Eichlösungen auf eine Anti-CD-14-Antikörper beschichtete Mikrotiterplatte aufgetragen. Dazu wurden 50 ul einer Antikörperlösung mit biotinylierten Antikörpern gegen sCD-14 gegeben und 120 min inkubiert. Dabei bindet das sCD-14 sowohl an die Antikörper der Mikrotiterplatte als auch die gelösten biotinylierten Antikörper. Es folgt eine Entfernung der überschüssigen Antikörperlösung durch dreimaliges Waschen mit einer Pufferlösung. Danach wurden 150 Streptavidin-Peroxidase zugegeben. Dieses Enzym bindet während einer Inkubationszeit von 60 min an die biotinylierten Antikörper. Der Überstand der Enzymlösung wird bei weiterem dreimaligem Waschen mit Pufferlösung entfernt und danach 200 µl Substratlösung (Tetramethylbenzidin) zugegeben. Die Streptavidin-Peroxidase setzt dieses Substrat zu einem blauen Farbstoff um. Diese Reaktion wird nach 30 min durch Zufügen von 50 µl Stopplösung unterbrochen. Die Intensität der Färbung korreliert direkt mit der Menge des enthaltenen sCD-14 in der Probe und wurde photometrisch bei 450nm bestimmt.

Die Sensitivität des Tests betrug 1 ng/ml. Der Inter-Assay Korrelationskoeffizient betrug < 7,8% und der Intra-Assay Korrelationskoeffizient < 5,6%.

3.4.3 Leukozyten

Die Leukozytenzahl wurde durchflusszytometrisch aus EDTA-Blut bestimmt. Bei der

Durchflusszytometrie fließen Zellen hintereinander durch eine dünne Messkammer. Die

Flusszelle besteht dabei aus Glas und die zu untersuchenden Zellen werden beim

Durchfließen von der Seite mit einem Laserlicht angestrahlt. Eine den Laserstrahl

kreuzende Zelle verursacht Streulicht. Je größer eine Zelle ist und je mehr Strukturen in

ihrem Inneren sind, desto größer ist das entstehende Streulicht. Somit erhält man durch

Messung des Streulichts charakteristische Informationen über die Zelle. Das Streulicht

wird in verschiedenen Richtungen gemessen. Das so genannte Vorwärtsstreulicht wird in

Richtung des ursprünglichen Strahls gemessen und das Seitwärtsstreulicht etwa im 90°

Winkel zum ursprünglichen Strahl. Das Vorwärtsstreulicht hängt vor allem von der Größe

einer Zelle ab. Das heißt, kleine Zellen verursachen ein kleines Vorwärtsstreulichtsignal,

große Zellen ein großes. Das Seitwärtsstreulicht hängt neben der Größe auch sehr stark

vom Inhalt einer Zelle ab. Bevor die Leukozyten im Durchflusszytometer gemessen

wurden, wurden die Erythrozyten lysiert.

Referenzwert: 4,5-11,0 /nl

Thrombozyten 3.4.4

Die Thrombozytenzahl wurde mittels Durchflusszytometrie (siehe oben) aus EDTA-Blut

bestimmt.

Referenzwert: 150-400 /nl

3.4.5 CRP

Das C-reaktive Protein wurde mittels Immunturbidimetrie aus Heparinplasma bestimmt.

Dabei wurde der verdünnten Probe ein Antikörper gegen CRP zugegeben. Es bildeten

sich lösliche Immunkomplexe, die eine Trübung der Lösung verursachten. Die

Konzentration wurde mit einem Photometer als Absorptions- bzw. Extinktionsmessung

bei 334/340 nm durchgeführt.

Referenzwert: < 0,5 mg/dl

34

3.4.6 Fibrinogen

Das Fibrinogen wurde mittels der Koagulometrie nach Clauss aus Citratplasma bestimmt.

Fibrinogen wird dabei durch das in hoher Konzentration zugefügte Thrombin mittels

Abspaltung der Thrombinfibrinopeptide zu Fibrinmonomeren umgewandelt. Diese

aggregieren spontan zu langen Strängen, dem löslichen Fibrin. Unter der Katalyse des

aktivierten Faktor XIII wird das lösliche Fibrin zu unlöslichem polymerisiert. Mittels

Koagulometrie wird nun die Gerinnungszeit bestimmt und daraus

Fibrinogenkonzentration anhand einer Eichkurve bestimmt.

Referenzwert: 150 - 450 mg/dl

3.5 Weitere erfasste Parameter

3.5.1.1 Filterlaufzeiten

Die einzelnen Filterlaufzeiten wurden für jeden Patienten protokolliert.

3.5.1.2 AT III Aktivität

Die Bestimmung erfolgte mittels Photometrie (Chromogenes Substrat) aus Citratplasma.

Dabei wurde Antithrombin über seine Hemmwirkung auf Thrombin (Faktor IIa) gemessen.

Das Antithrombin der Probe wurde durch Heparin in einen Sofortinhibitor überführt und

inaktivierte vorgelegtes Thrombin. Das verbleibende Thrombin wurde in einem

kinetischen Test mit einem chromogenen Substrat Die erzielte bestimmt.

Extinktionsänderung ist umgekehrt proportional zur AT III-Aktivität.

Referenzwert: 70-130% Aktivität

3.5.1.3 **D-Dimere**

Die D-Dimere wurden mittels der Turbidimetrie aus Citratplasma bestimmt. Dabei wurden

Polystyrolpartikel, an die ein monoklonaler Antikörper gegen die Quervernetzungsregion

von D-Dimeren gebunden ist, verwendet. Bei Mischung mit der Probe agglutinieren diese

enthaltenen D-Dimeren. Antikörper mit den Die Agglutinationsreaktion wird

turbidimetrisch über eine Trübungszunahme gemessen.

Referenzwert: < 0,50 mg/l

35

3.5.1.4 Retentionswerte

3.5.1.4.1 Kreatinin

Der Kreatininwert wurde aus Heparinplasma nach der Methode von Jaffé (Roche Diagnostics) bestimmt. Kreatinin bildet in alkalischer Lösung mit Pikrat einen gelb-roten Komplex, dessen Farbe photometrisch bestimmt wird. Die Kreatininbestimmung beruht auf einer kinetischen Messung.

Referenzwert: Männer <1,2 mg/dl; Frauen <1,00 mg/dl

3.5.1.4.2 Harnstoff

Die Harnstoffkonzentration mittels Photometrie (Urease/GLDH) wurde aus Heparinplasma bestimmt. Harnstoff wird in einer Reaktion nach Roch-Ramel mit Urease zu Ammoniak und Kohlendioxid hydrolysiert. Der Harnstoffstickstoff des Ammoniaks wird durch GLDH mit NADH-Oxidation zu 2-Oxoglutarat umgesetzt. Die Messung der Absorptionsabnahme erfolgt bei 340 nm.

Referenzwert: 14 - 46 mg/dl

3.6 Statistische Methoden

Eine Fallzahlplanung war bei fehlenden Voruntersuchungen nicht möglich. Aufgrund dessen wurde die vorliegende Studie als Pilotstudie mit geringer Stichprobengröße konzipiert.

Die Daten wurden bei geringer Fallzahl ohne Anspruch auf Normalverteilung als Median und Quartilen angegeben. "Overall Werte" geben den Median aller erfassten Werte über den gesamten Beobachtungszeitraum an.

Der Mann-Whitney-U-Test und der Chi-Quadrat-Test dienten zum Vergleich zwischen den Gruppen. Die Filterlaufzeit wurde in Kaplan-Meier-Überlebenskurven dargestellt. Der Gruppenvergleich erfolgte hier mit dem Log-Rank Test.

Um den zeitlichen Verlauf der Messwerte zwischen den Gruppen zu vergleichen wurde eine Multivarianzanalyse mittels des SAS Systems (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) durchgeführt.

Die Filterlaufzeiten wurden mittel Kaplan-Meier-Überlebenskurven dargestellt.

Ein p-Wert < 0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen.

<u>4</u> Ergebnisse

4.1 Patientengut

In Tabelle 1 sind die Basischarakteristika der Patientengruppen dargestellt.

	Kontrollgruppe	lloprostgruppe
	(N = 10)	(N = 10)
Alter [Jahre]	74 (68-80)	71 (56-77)
Geschlecht (m/w)	6/4	7/3
Mediane Beobachtungszeit [h]	44 (7-108)	44 (19-87)
Gesamtliegedauer Intensivstation [d]	9 (6-18)	11 (7-19)
Unkompliziertes akutes Nierenversagen	5	4
Akutes Nierenversagen bei Sepsis	5	6
Ausgangswert APACHE-Score	21 (16-23)	21 (15-22)
Maximaler APACHE-Score	26 (23-28)	23 (18-26)
Ausgangswert SOFA-Score	9 (8-11)	9 (7-10)
Maximaler SOFA-Score	10 (9-12)	10 (9-12)
Minimalwert p _a O ₂ /F _i O ₂	228 (159-335)	211 (154-265)
Minimalwert MAP [mmHg]	50 (46-55)	53 (50-59)

Abbildung 3 Tabelle 1 Patientencharakteristika

(p>0,05 zwischen den Gruppen für alle Parameter)

Der APACHE-Score wird zur Einschätzung der Schwere der Erkrankung intensivstationärer Patienten verwendet [84,85]. Der SOFA-Score (Sequential Organ Failure Assessment Score) nutzt 14 Kriterien zur Bestimmung des Mortalitätsrisikos bei intensivstationären Patienten [86]. Der minimale Oxygenierungsindex (paO2/FiO2-Ratio = Horowitz-Quotient) im Beobachtungszeitraum wurde zur Beurteilung der respiratorischen

Funktion genutzt [87]. Der Referenzwert für den mittleren arteriellen Druck (MAD) liegt bei 80-90 mmHg [88].

4.1.1 Unerwünschte Ereignisse

Bei einem Patienten der Iloprostgruppe wurde die Iloprostinfusion abgebrochen, da es im Rahmen der ersten CVVH-Behandlung zu einer verminderten arteriellen Sauerstoffsättigung kam (min. p_aO₂ 65 mmHg, p_aO₂/F_iO₂ Ratio 162).

Bei einem weiteren Patienten wurde die Iloprostgabe wegen sepsisinduzierter Reduktion der Thrombozytenzahl auf 16 /nl gestoppt.

Bei einem Patienten der Kontrollgruppe wurde die Diagnose Hirntod gestellt, so dass die Studie vorzeitig beendet wurde.

Drei weitere Patienten verstarben nach Ende des Beobachtungszeitraums (1 Patient der Kontrollgruppe, 2 Patienten der Iloprostgruppe) auf der Intensivstation.

4.1.2 Beobachtungszeitraum

Alle Patienten wurden beobachtet bis die CVVH-Therapie beendet war oder das Ende der maximalen Beobachtungszeit von 7 Tagen erreicht wurde. Die mediane Beobachtungsdauer lag in der Kontrollgruppe bei 44 h (7-108 h) und bei 44 h (19-87 h) in der Iloprostgruppe. Die maximale Studiendauer von 7 Tagen wurde in der Kontrollgruppe von zwei Patienten und in der Iloprostgruppe von einem Patienten erreicht.

4.1.3 CVVH-Therapie

Die CVVH-Therapie wurde bei keinem Patienten durch andere Nierenersatzverfahren ersetzt.

4.1.4 Transfusionen

Während des Untersuchungszeitraumes wurden keine Thrombozytenkonzentrate oder gefrorenes Frischplasma transfundiert. Die Anzahl der transfundierten Erythrozytenkonzentrate unterschied sich zwischen den Gruppen nicht. In der Kontrollgruppe wurden im Median 2 (min. 0, max. 6) und in der Iloprostgruppe 1 (min. 0, max. 5) Transfusionseinheit verabreicht (p = 0.36).

4.2 Laborparameter

4.2.1 **IL-6**

Die Ausgangswerte der beiden Gruppen unterschieden sich nicht. In der Kontrollgruppe lagen die Werte bei 134,9 pg/ml (81,5-1434,3 pg/ml) und in der Iloprostgruppe bei 98,3 pg/ml (38,5-164,4 pg/ml), p=0,35. Auch die maximal erreichten IL-6-Werte zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied. In der Kontrollgruppe betrugen die maximalen Messwerte 205,8 pg/ml (132,8-1902,1 pg/ml) und in der Iloprostgruppe 145,5 pg/ml (100,4-259,0 pg/ml), p=0,39.

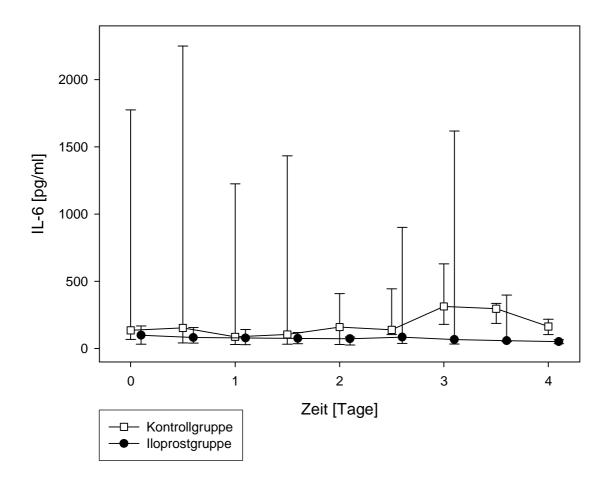


Abbildung 4: IL-6-Plasmakonzentration

4.2.2 sCD-14

Die Ausgangswerte in der Kontrollgruppe lagen bei 98,9 ng/ml (71,7-129,4 ng/ml) und in der Iloprostgruppe bei 87,8 ng/ml (72,2-135,0 ng/ml). Die Gruppen zeigten somit keinen statistisch signifikanten Unterschied (p=0,8). Auch die maximal erreichten sCD-14-Werte zeigten keinen signifikanten Unterschied. In der Kontrollgruppe betrugen die maximalen Messwerte 119,4 ng/ml (81,7-161,8 ng/ml) und in der Iloprostgruppe 123,3 ng/ml (101,4-154,7 ng/ml), p=0,91.

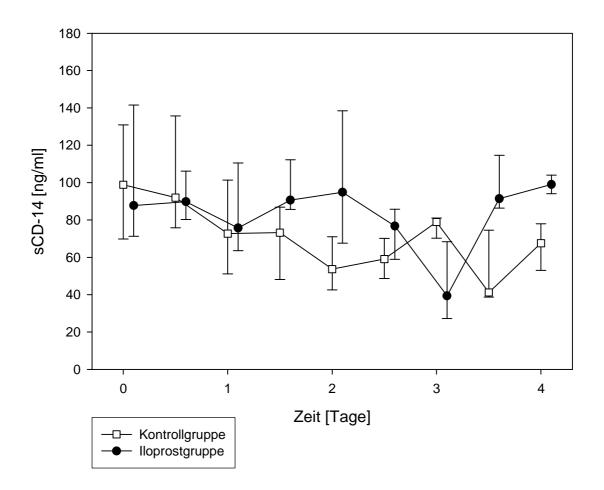


Abbildung 5: sCD-14-Plasmakonzentration

4.2.3 Leukozyten

Die mediane Leukozytenzahl lag in der Kontrollgruppe bei 21/nl (18,26-26,2/nl) und in der Iloprostgruppe bei 21,05/nl (15,85-26,53/nl). Um bei individuell variablen Leukozytenzahlen zu Beginn der Studie einen zeitlichen Verlauf und Unterschiede zwischen den Gruppen untersuchen zu können, wurde der jeweilige Ausgangswert eines Patienten auf 0 % adjustiert. Die Veränderungen wurden dann als prozentuale Differenzen dargestellt. Es gab zwischen beiden Gruppen keinen statistisch signifikanten Unterschied im zeitlichen Verlauf der Leukozytenzahlen (p > 0,05).

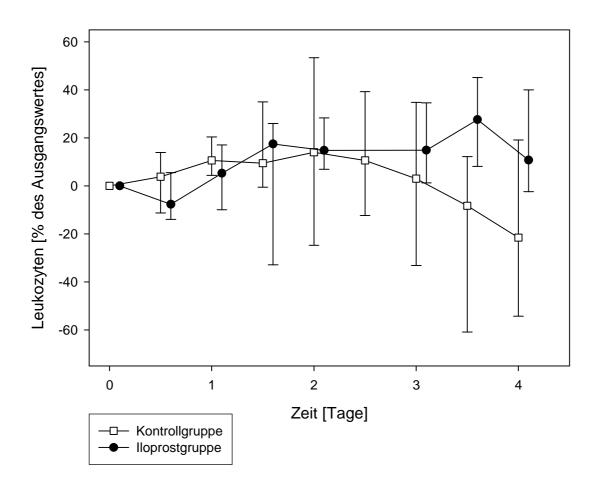


Abbildung 6: Leukozytenzahl

4.2.4 Thrombozyten

Die Ausgangswerte der Thrombozytenzahl wurde für den einzelnen Patienten auf 0 % adjustiert. Der Verlauf der Thrombozytenzahl wurde als prozentuale Zu- oder Abnahme bezüglich des Ausgangswertes dargestellt. Dabei zeigte die Kontrollgruppe im zeitlichen Verlauf einen signifikant stärkeren Abfall der Thrombozyten gegenüber der Iloprostgruppe (p = 0,012).

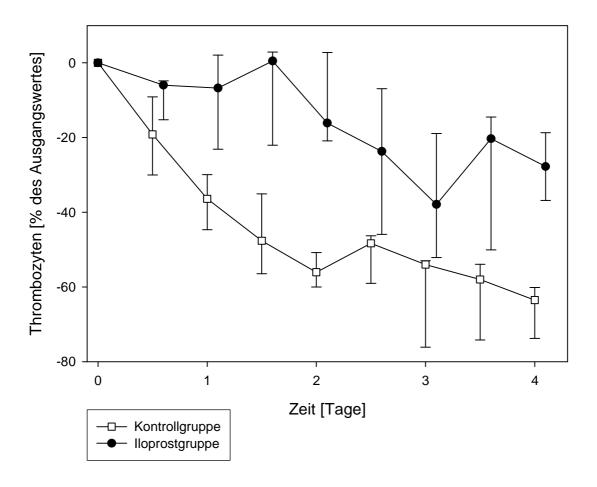


Abbildung 7: Thrombozytenzahl

4.2.5 CRP

Die maximalen CRP-Werte unterschieden sich zwischen beiden Gruppen nicht signifikant. In der Kontrollgruppe fanden sich Werte von 16,6 mg/dl (11,5–27,6 mg/dl) und in der Iloprostgruppe von 11,4 mg/dl (6,5–17,9 mg/dl); p=0,61.

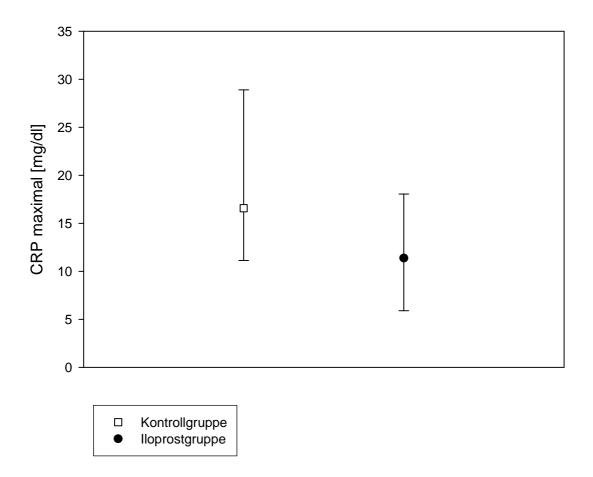


Abbildung 8: Maximale CRP-Werte

4.2.6 Fibrinogen

Die Ausgangswerte der Kontrollgruppe mit 503 mg/dl (419-681 mg/dl) und der lloprostgruppe mit 494 mg/dl (426-518 mg/dl) unterschieden sich nicht signifikant. Auch die Overall-Werte zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied [Kontrollgruppe 456 mg/dl (364-630 mg/dl), lloprostgruppe 443 mg/dl (365-497 mg/dl)].

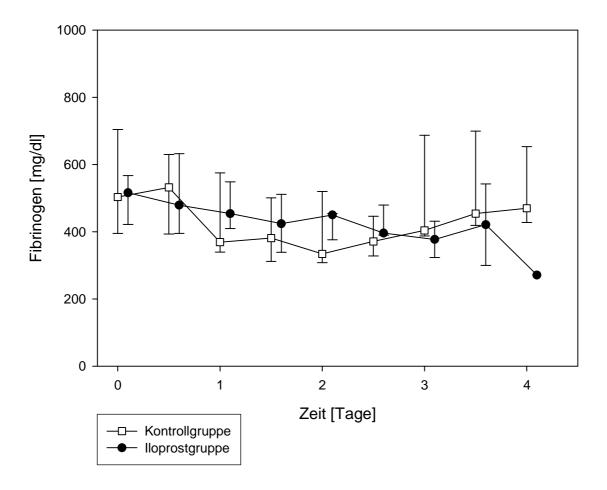


Abbildung 9: Fibrinogenplasmaspiegel

4.2.7 Weitere erfasste Parameter

4.2.7.1 Filterlaufzeiten

Die mediane Filterlaufzeit wurde durch die Gabe von Iloprost signifikant verlängert. In der Kontrollgruppe betrug die mediane Filterlaufzeit 10 h (4-12 h) und in der Iloprostgruppe 14 h (13-26 h); p = 0,004. Der Median der ersten Filterlaufzeit in der Kontrollgruppe betrug 7 h (4-8 h) und in der Iloprostgruppe 22 h (14-29 h); p = 0,014.

Insgesamt wurden 34 einzelne Filterlaufzeiten der Kontrollgruppe und 28 der Iloprostgruppe in die Auswertung einbezogen.

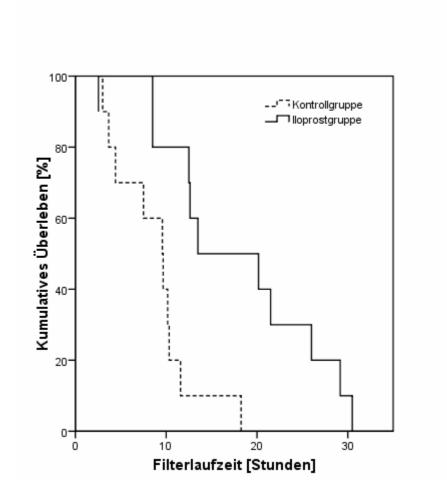


Abbildung 10: Filterlaufzeit

4.2.7.2 **AT III**

Die AT III-Werte zu Beginn der Studie betrugen in der Kontrollgruppe im Median 72 % (62-91 %) und in der Iloprost 79 % (77-92 %). Der Median der ATIII-Werte über den Studienzeitraum lagen bei 68 % (60-82 %) in der Kontrollgruppe und 80 % (74-91 %) in der Iloprostgruppe. Damit unterschieden sich beide Gruppen nicht signifikant voneinander.

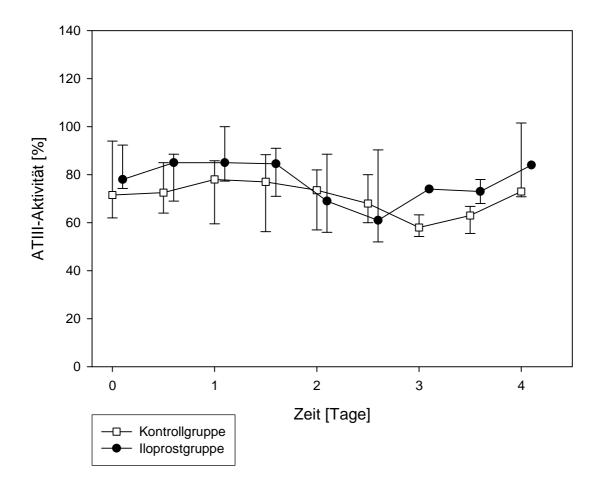


Abbildung 11: ATIII-Plasmaspiegel

4.2.7.3 **D-Dimere**

Die D-Dimere in der Kontrollgruppe lagen zu Beginn der Studie im Median bei 1,5 mg/l (0,4-4,7 mg/l). Über den gesamten Untersuchungszeitraum lag der Median bei 2,7 mg/l (1,8-4,3 mg/l). In der Iloprostgruppe fanden sich Werte von 2,6 mg/l (0,7-4,0 mg/l) zu Studienbeginn und über den gesamten Zeitraum von 3,7 mg/l (1,4-6,7 mg/l). Auch hier fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

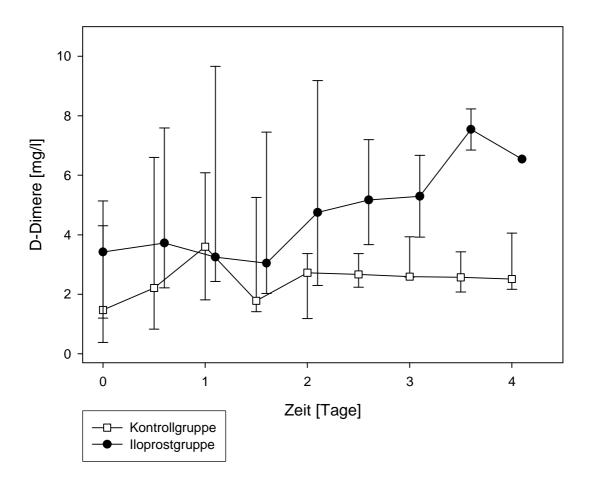


Abbildung 12: D-Dimer-Plasmaspiegel

4.2.7.4 Retentionswerte

4.2.7.4.1 Kreatinin

Die Kreatininwerte der Kontrollgruppe lagen zu Studienbeginn im Median bei 2,9 mg/dl (2,6-3,6 mg/dl). Die Werte der Iloprostgruppe unterschieden sich mit 3,2 mg/dl (3,0-4,3 mg/dl) nicht signifikant davon. Auch am Ende des Untersuchungszeitraumes war mit 3,0 mg/dl (3,0-3,1mg/dl) in der Kontrollgruppe und 2,8 mg/dl (2,3-3,3 mg/dl) kein statistisch signifikanter Unterschied feststellbar.

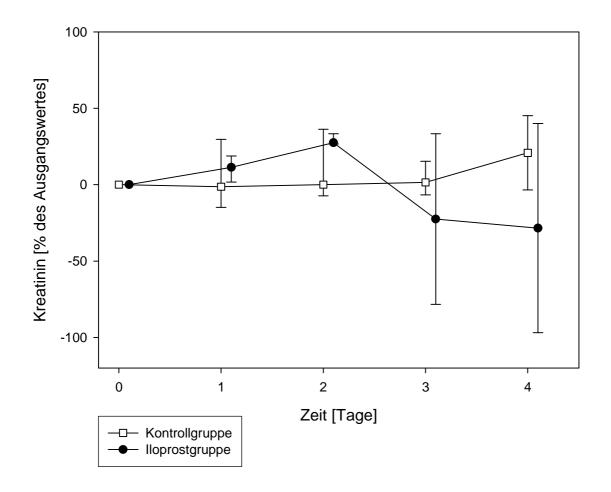


Abbildung 13: Kreatininplasmaspiegel

4.2.7.4.2 Harnstoff

Die Harnstoffwerte der Kontrollgruppe lagen zu Studienbeginn im Median bei 141 mg/dl (118-164 mg/dl). Die Werte der Iloprostgruppe unterschieden sich mit 152 mg/dl (137-200 mg/dl) nicht signifikant davon. Auch hier war am Ende des Untersuchungszeitraumes mit 119 mg/dl (104-139 mg/dl) in der Kontrollgruppe und 117 mg/dl (85-165 mg/dl) kein statistisch signifikanter Unterschied feststellbar.

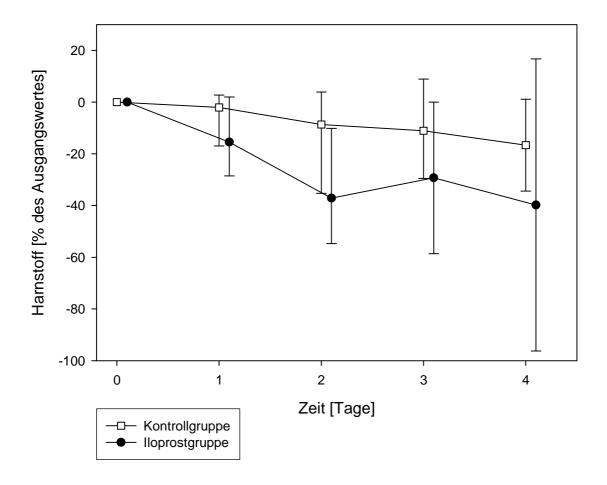


Abbildung 14: Harnstoffplasmaspiegel

<u>5</u> Diskussion

5.1 Patientengut

Die gewählte Stichprobengröße ist mit 20 Patienten niedrig gewählt, da aufgrund fehlender Voruntersuchungen keine Fallzahlplanung möglich war und diese Studie als Pilotstudie verstanden werden muss.

Das Patientengut der Kontroll- und der Iloprostgruppe wies hinsichtlich Alter und Geschlecht keine statistisch signifikanten Unterschiede auf. Im Vergleich zu anderen Studien erscheint der Altersmedian mit 74 Jahren in der Kontroll- und 71 Jahren in der Iloprostgruppe aber hoch. Es handelt sich hier außerdem, durch die strengen Einschlusskriterien, um ein hoch selektioniertes Patientengut mit langer Akquisedauer. Ein Einschluss von Patienten mit vorangehendem, anderem extrakorporalen Verfahren (z. B. HLM) wurde zugunsten der Stichprobengröße genauso akzeptiert, wie der Einschluss von Patienten mit Sepsis oder immunmodulierenden Medikationen.

Die eingeschlossenen Patienten waren hinsichtlich dieser beeinflussenden Faktoren statistisch vergleichbar. 5 Patienten der Kontroll- und 4 Patienten der Iloprostgruppe wiesen bei Studieneinschluss ein unkompliziertes akutes Nierenversagen ohne gleichzeitig bestehende Sepsis auf. Demgegenüber wiesen 5 Patienten der Kontroll- und 6 Patienten der Iloprostgruppe vor Studienbeginn eine Sepsis (Sepsiskriterien nach American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference [81]) als Ursache des sekundär auftretenden akuten Niereversagens auf. 7 Patienten der Kontroll- und 8 Patienten der Iloprostgruppe unterzogen sich im Vorfeld der Studie einer Operation mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine (Sytemic inflammatory response syndrom (SIRS) nach HLM [89]).

Zum Vergleich der Schwere der vorliegenden Erkrankungen bei den eingeschlossenen Patienten wurden der APACHE- und der SOFA-Score erhoben. Die Werte liegen insgesamt im unteren bis mittleren Bereich und zeigen keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Hinsichtlich des medianen Beobachtungszeitraumes innerhalb der Studie sowie der Dauer des intensivstationären Aufenthalts unterschieden sich beide Gruppen nicht.

Somit können die Gruppen hinsichtlich der unbeeinflussbaren Charakteristika als homogen betrachtet werden.

5.2 Nierenersatzverfahren

Als Dialyseverfahren wurde in beiden Gruppen eine CVVHF durchgeführt. Der Blutfluss betrug 150 ml/min. Die Substitutionsrate betrug 1 l/h und wurde im Postdilutionsmodus appliziert. Die Antikoagulantien Heparin und Iloprost wurden präkapillär infundiert. Die Filtrationsrate wurde individuell unterschiedlich gewählt und zwischen 50 und 150 ml/h eingestellt. Hinsichtlich dieses Nierenersatzverfahrens und der Einflussfaktoren Blutfluss, Substitutionsrate, Filter, Membrantyp und Porengrösse des Filters unterschieden sich beide Gruppen nicht voneinander.

Das angewendete Nierenersatzverfahren hat durch unterschiedliche Parameter Einfluss auf die immunologische Situation des Patienten. Dazugehören unter anderem der eingestellte Blutfluss, die verwendete Filtermembran, die mögliche Filtration von Zytokinen, die Lokalisation der Antikoagulantienzufuhr und die Lokalisation der Zufuhr der Substitutionslösung prä- oder postkapillär.

Der kapilläre Blufluss hat Einfluss auf die Leukozytenzahl. Bei sehr hohen Blutflussraten (>400ml/min) kommt es zu einer Leukozytose [90]. Außerdem beeinflusst der kapilläre Blutfluss den Thrombozytenschwund, wobei ein höherer Blutfluss in einem reduzierten Thrombozytenverlust resultiert [78]. Des Weiteren hängt die Elimination von Kreatinin und Harnstoff linear mit dem Blutfluss zusammen [91].

Auch die verschiedenen Filtermembranmaterialien (Polysulfon, Zellulose) haben Einfluss auf die Immunaktivierung [77]. Bei der Verwendung von großporigen Filtern (min. 55 kDa-Porengröße) konnte zudem sowohl klinisch als auch experimentell eine vermehrte Zytoklinelimination beobachtet werden [92,93]. Je größer die Filtrations- und Substitutionsrate gewählt werden, umso ausgeprägter ist die Filtration der Zytokine über die großporigen Membranen [94]. Des Weiteren könnte die Zufuhr der Antikoagulantien Heparin und Iloprost vor dem Filter eine mögliche folgende Filtration begünstigen.

In diesem Fall wurde ein Filter mit einem Cut-off von ca. 30 kDa gewählt. Dieser ist durchlässig für IL-6 (18-21 kDa), Iloprost (360 Da), Kreatinin (113 Da), Harnstoff (60 Da) und Heparin (3-9 kDa). sCD-14 (55 kDa), CRP (120 kDa) und Fibrinogen (340 kDa) haben ein zu großes Molekulargewicht und können diesen Filter nicht passieren.

Außerdem ist die Wahl der Zufuhr der Substitutionslösung im Prä- oder Postdilutionsverfahren zu betrachten, da diese einen Einfluss auf die Filterlaufzeit besitzt [95].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das gewählte Nierenersatzverfahren mit allen variablen Einflussgrößen eine Rolle für die Immunaktivierung und die bestimmten Parameter spielt.

Da diese Variablen aber für beide Gruppen gleicht gewählt wurden, ist ein spezieller Einfluss auszuschließen. Einziger Gruppenunterschied bleibt die Iloprosttherapie.

Um die Filtration der einzelnen Substanzen darstellen zu können, hätte eine Untersuchung des Filtrats und auch eine Aufarbeitung der Filter zusätzliche Informationen erbracht.

5.3 Studiendesign und Messprotokoll

5.3.1 Studiendesign

Die Patienten wurden auf zwei postoperativen Intensivstationen akquiriert. Durch die engen Einschlusskriterien handelt es sich um ein hoch selektioniertes Patientengut mit langer Akquisedauer.

Durch die vorangegangene Operation, könnte es bei diesem Patientengut bereits vor Studienbeginn zu einer Immunaktivierung gekommen sein. Dies würde zu einer Beeinflussung der immunologischen Parameter führen. Da dieses Charakteristikum des Patientenguts aber für beide Gruppen gleichermaßen zutrifft, erscheint dieser Umstand nicht als Manko.

Die Dosierung von Heparin während der Dialyse wurde an eine aPTT von 40-50s adaptiert. Diese Dosierung erscheint im Vergleich zu anderen Studien, wo aPTT-Werte zwischen 60-80s angestrebt werden, als eher konservativ [96]. Durch eine progressivere aPTT-Einstellung wären die, in dieser Studie im Vergleich kurzen Filterlaufzeiten, eventuell eher in dem Bereich vergleichbarer Studien angesiedelt. Da es sich in dieser Studie aber um ein stark blutungsgefährdetes Patientengut handelt, ist diese Zurückhaltung vertretbar. Im Zeitraum der Studie traten hier auch keine Blutungskomplikationen auf.

Auch die Iloprostdosierung erscheint im Vergleich zu aktuellen Studien als eher niedrig gewählt [3,52,97]. Bei einer Dosierung von 1 ng/kg KG/min sind laut Studienlage Plasmaspiegel von etwa 0,46 ± 0,08 ng/ml zu erwarten. Pharmakologische Studien zeigen, dass bei einer Plasmakonzentration von ca. 0,5 ng/ml die Thrombozytenfunktion zu 80% inhibiert wird [16]. Es ist also zu erwarten, dass die verwendete Dosierung von lloprost zu einer relevanten Thrombozytenfunktionshemmung geführt hat. Kritisch ist zu bemerken, dass eine höhere Iloprostdosierung den bereits gezeigten Effekt hätte verstärken können. Außerdem hätte eine höhere Dosierung eventuell zu nachweisbaren immunologischen Effekten geführt. Auch ein direkter Vergleich mit anderen Prostaglandinen, wie Prostazyklin wäre wünschenswert möglicherweise und aufschlussreich hinsichtlich immunologischer Modulationen gewesen.

Störfaktoren in dieser Studie könnten die Wechselwirkungen anderer Medikamente mit Iloprost und deren Beeinflussung des Immun- oder Gerinnungssystems gewesen sein. Darunter fallen zum Beispiel die Therapie mit Cortisonpräparaten (Hydrocortison), die zusätzliche AT-III-Substitution und gegebenenfalls die Antibiotikatherapie. Zugunsten der Stichprobengröße wurden diese Wechselwirkungen akzeptiert, da sie in beiden Gruppen gleichermaßen auftreten.

5.3.2 Messprotokoll

Die Messzeitpunkte wurden mit 6-stündigen Intervallen eng gewählt. Somit wurde eine engmaschige Überwachung möglich und auch kurzzeitig auftretende Schwankungen wurden registriert. Außerdem konnte durch diese häufige Kontrolle, die Antikoagulation mit Heparin zeitnah angepasst werden.

Die gewählten Parameter wurden dem Ziel der Studie angepasst. So wurden zur Einschätzung der immunologischen Situation die Plasmaspiegel von IL-6, sCD-14, Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl, CRP und Fibrinogen bestimmt.

Im Nachhinein erscheint im Vergleich mit anderen Studien eine Bestimmung von TNF- α sinnvoll, da dieser initiale Marker des septischen Geschehens zur Beurteilung einer antiinflammatorischen Therapie sehr etabliert ist. Außerdem ist TNF- α ein sehr schnell ansteigender Parameter, der bereits wenige Minuten nach Inflammation im peripheren Blut nachweisbar ist. Des Weiteren triggert TNF- α die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β , IL-6 und IL-8.

5.4 Laborparameter

5.4.1 **IL-6**

In dieser Studie konnte kein Einfluss der Iloprosttherapie auf den IL-6-Plasmaspiegel nachgewiesen werden. Sowohl die Ausgangswerte als auch die maximal erreichten IL-6-Werte der beiden Gruppen unterschieden sich nicht statistisch signifikant.

Bei IL-6 handelt es sich um ein Zytokin mit multiplen endokrinen, parakrinen und auch autokrinen Funktionen an verschiedenen Zielzellen. Die wichtigsten Funktionen sind die Induktion der finalen B-Zell-Differenzierung zu antikörperproduzierenden Plasmazellen Akute-Phase-Reaktion, und der womit IL-6 vorwiegend proinflammatorische Eigenschaften besitzt. Es ist außerdem ein sehr schnell ansteigender Inflammationsmarker [98-100]. Die Werte sinken innerhalb von 24 bis 48 Stunden wieder auf den Normalwert.

Auch als prognostischer Marker gewinnt IL-6 an Bedeutung [71,74]. So konnte in klinischen Untersuchungen gezeigt werden, dass ein hoher IL-6-Plasmaspiegel in der Sepsis mit verschlechtertem outcome und erhöhter Mortalität korreliert [101-103]. In einer klinischen Studie korreliert die Mortalität sogar besser mit dem IL-6-Plasmaspiegel als mit dem APACHE-Score [104].

In der Sepsis ist der IL-6-Plasmaspiegel aufgrund der ausgeprägten Immunaktivierung deutlich erhöht [105]. In dieser Studie war mit erhöhten IL-6-Spiegeln zu rechnen. Bei 5 Patienten der Kontrollgruppe und 6 Patienten in der Iloprostgruppe ist eine Sepsis als Ursache des akuten Nierenversagens bereits vor Studieneinschluss diagnostiziert worden. Des Weiteren waren in der Kontrollgruppe 5 Patienten und in der Iloprostgruppe 4 Patienten nach Herz-Lungenmaschine eingeschlossen, welche ebenfalls zu einer Aktivierung des Immunsystems führt.

Die IL-6-Spiegel lagen in dieser Studie bereits zu Beginn deutlich über dem Normwert von < 15 pg/ml (Kontrollgruppe 134,9 pg/ml; Iloprostgruppe 98,3 pg/ml) und zeigten noch deutlich höhere Maximalwerte (Kontrollgruppe 205,8 pg/ml; Iloprostgruppe 145,5 pg/ml).

Der Einfluss von Iloprost auf den IL-6-Plasmaspiegel ist noch nicht eindeutig geklärt. In vitro konnte an humanen Monozyten eine Verminderung der intrazellulären Produktion von IL-6 unter Iloprost nachgewiesen werden [22]. Klinisch zeigte eine Studie bei

Patienten mit paVK eine Verminderung des TNF-α-Spiegels unter Iloprosttherapie, wobei der IL-6-Plasmaspiegel jedoch unbeeinflusst blieb [20].

Im Rahmen dieser Studie stellt aber auch die Filtration des IL-6 durch die CVVH-Behandlung einen wichtigen Einflussfaktor dar. Die Filtration von Zytokinen im Rahmen der CVVH-Behandlung hängt wesentlich von dem verwendeten Filter ab. IL-6 hat ein Molekulargewicht von 18-22 kDa. Bei der Verwendung von großporigen Filtern konnte sowohl klinisch als auch tierexperimentell eine vermehrte Zytokinelimination beobachtet werden [92,93].

IL-6 kann also im Rahmen einer CVVH-Behandlung abfiltriert werden. Die IL-6-Plasmaspiegel werden dabei unterschiedlich beeinflusst. Bei einigen Studien wurden durch CVVH unbeeinflusste, konstante IL-6-Plasmaspiegel beobachtet [106] und in einigen Studien zeigten sich auch verminderte IL-6-Plasmaspiegel unter CVVH-Behandlung [107-109].

Fasst man diese Ergebnisse zusammen, so scheint IL-6 im Rahmen einer CVVH-Therapie abfiltriert zu werden. Der Plasmaspiegel kann deshalb während eines infektiösen Geschehens stabil bleiben oder auch sinken. Eine Beeinflussung des IL-6-Spiegels durch die CVVH-Therapie ist auch für die vorliegende Studie anzunehmen, so dass der unveränderte Plasmaspiegel von IL-6 auch unter proinflammatorischen Bedingungen zu erklären ist. Um den Einfluss von Iloprost auf den IL-6-Plasmaspiegel genauer zu untersuchen wären also weiterführende Untersuchungen zum Beispiel mit der Messung des IL-6-Spiegel in der Filtratflüssigkeit sinnvoll.

5.4.2 sCD-14

In dieser Studie konnte kein Einfluss der Iloprosttherapie auf den sCD-14-Plasmaspiegel nachgewiesen werden. Sowohl die Ausgangswerte als auch die maximal erreichten sCD-14-Werte der beiden Gruppen unterschieden sich nicht statistisch signifikant.

CD-14 fungiert als membranständiger Lipopolysaccharidrezeptor (mCD-14) und kommt vor allem auf Monozyten, Makrophagen und Granulozyten vor. sCD-14, als lösliche Isoform des Rezeptors, zirkuliert als Plasmaprotein in der Blutbahn.

In der Pathophysiologie der Endotoxinämie und Sepsis spielt sCD-14 eine entscheidende Rolle [111] und wurde im Rahmen von Studien bereits als Marker in der Sepsistherapie verwendet [112].

In dieser Studie wurde bei 5 Patienten in der Kontrollgruppe und bei 6 Patienten der Iloprostgruppe eine Sepsis als Ätiologie des akuten Nierenversagens diagnostiziert. Für sCD-14 gibt es keinen festgelegten Referenzbereich. Daher erfolgt meist ein Vergleich mit den Werten gesunder Bezugspersonen. Im Vergleich zu bisherigen Studien waren die Ausgangswerte der sCD-14-Plasmaspiegel waren bei allen Patienten erhöht (Kontrollgruppe 98,9 ng/ml; Iloprostgruppe 87,8 ng/ml), was für einen stattgehabten Endotoxinkontakt spricht. Im Verlauf stiegen die sCD-14-Spiegel beider Gruppen gleichmäßig an (Maximalwerte Kontrollgruppe 119,4 ng/ml; Iloprostgruppe 123,3 ng/ml), was eine progrediente Inflammationssituation anzeigt.

Zur Aktivierung des CD-14-Rezeptors auf Monozyten und Makrophagen ist vermutlich ein prolongierter LPS-Kontakt von mindestens 30 min notwendig. Zunächst kommt es zu einem schnellen sCD-14-Anstieg innerhalb von 3 bis 6 Stunden. Dies erklärt sich wahrscheinlich über eine initiale Abgabe von mCD-14 aus der Monozytenmembran als sCD-14 in den Kreislauf. Die Expression von mCD-14 ist für bis zu 15h nach LPS-Kontakt leicht reduziert. Nach einer Inkubationszeit von ca. 48 h kommt es dann zu einer stark erhöhten mCD-14-Expression an der Monozytenmembran [113]. Über erhöhte sCD-14-Plasmaspiegel kann auch auf das Ausmaß des LPS-Kontakts geschlossen werden. In der vorliegenden Studie scheint die Inkubationszeit mit LPS bzw. der Fremdoberfläche des Dialysesystems ausreichend für eine sCD-14-Ausschüttung gewesen zu sein. Da die mediane Beobachtungszeit in der Kontrollgruppe bei 44 h (11-82 h) und in der

Iloprostgruppe 44 h (24-72 h) betrug, scheint auch die verspätete Phase der mCD-14-Induktion erfasst worden zu sein.

Im Rahmen der chronischen Niereninsuffizienz mit Dialysepflichtigkeit ist sCD-14 als Ausdruck einer repetitiven LPS-Exposition dauerhaft erhöht [114]. Aber auch bei einer begonnenen CVVH-Therapie wird ein erhöhter sCD-14-Plasmaspiegel beobachtet. Dieser ist außerdem von der verwendeten Filtermembran abhängig. So kann eine großporige Filtermembran (min. 55 kDa-Porengröße) zu einer erhöhten sCD-14-Clearance (Molekulargewicht sCD-14 53kDa) und damit einem verminderten sCD-14-Plasmaspiegel führen. Außerdem scheinen unterschiedliche Membranmaterialien (Polysulfon, Zellulose) die Monozyten verschieden stark zu aktivieren und damit auch den Plasma-sCD-14-Spiegel zu beeinflussen [77]. In die vorliegende Studie wurden keine chronischen Dialysepatienten eingeschlossen, weshalb keine chronische Fremdoberflächenexposition bzw. kein repetitiver LPS-Kontakt vorliegt. Ein Einfluss der verwendeten Filtermembranen auf die Immunaktivierung ist prinzipiell möglich. Dies wurde aber in dieser Studie durch einheitliche Filter in bei allen Patienten und allen Dialysen ausgeschlossen.

Der Einfluss von Iloprost oder anderen Prostaglandinen auf den sCD-14-Plasmaspiegel ist bisher noch wenig untersucht. Deshalb konnte im Vorfeld nur gemutmaßt werden, dass die immunmodulierenden Eigenschaften der Prostaglandine, und damit auch Iloprost, einen Einfluss auf den sCD-14-Plasmaspiegel haben könnten.

In dieser Studie konnte kein Einfluss der Iloprosttherapie auf den sCD-14-Plasmaspiegel Über den Beobachtungszeitraum nachgewiesen werden. stiegen die sCD-14-Plasmaspiegel beiden in Gruppen an. was zu dem prolongiertem der Inflammationssituation passt. Eine Fremdoberflächenkontakt und genauere Betrachtung, insbesondere bezüglich des möglichen Iloprosteffekts, wäre hier möglich gewesen, wenn man eine Verknüpfung des sCD-14-Spiegels Plasmaproteingehalt vorgenommen hätte, da so nicht auszuschließende Abweichungen infolge großer Volumenumsätze vermieden worden wären [76].

5.4.3 Leukozyten

Nach Adjustierung der Leukozytenzahlen an den Ausgangswert gab es zwischen beiden Gruppen keinen statistisch signifikanten Unterschied im zeitlichen Verlauf (p > 0,05).

Die Leukozytenzahl ist ein wichtiger Parameter zur Beurteilung der Infektsituation eines Organismus, zum Beispiel im Verlauf einer Sepsis [115]. In Infektsituationen werden korrelierend mit dem erhöhten IL-6-Plasmaspiegel Adhäsionsmoleküle an Neutrophilen induziert. Es kommt damit zu einer Aktivierung, Adhäsion und Migration der zirkulierenden Leukozyten [116]. Tierexperimentell konnte am Sepsismodell der Ratte unter Iloprosttherapie eine verminderte Leukozytenaktivierung und -adhärenz nachgewiesen werden [30]. Auch in vitro konnte gezeigt werden, dass Iloprost die Leukozyten-Endothel-Interaktion über vermindert exprimierte Adhäsionsmoleküle (ICAM-1, ELAM-1) negativ beeinflusst [29].

Zur Veränderung der Leukozytenzahl unter aNV und CVVH gibt es bisher wenige Untersuchungen. Zunächst hat die verwendete Filtermembran einen entscheidenden Einfluss auf die Leukozytenzahl. Unterschiedliche Filtermembranen aktivieren abhängig von ihrer Biokompatibilität das Komplementsystem verschieden stark. Zwischen der Komplementaktivierung und der Leukozytenzahl besteht dabei ein direkter Zusammenhang. Je extremer die Komplementaktivierung auftritt, desto stärker ist die anschließende Leukopenie ausgeprägt [117]. Außerdem kann es durch Mikroaggregation und Adhäsion am Filter zu einer Leukopenie kommen [118].

Der kapilläre Blufluss scheint ebenfalls einen Einfluss auf die Leukozytenzahl zu haben. So konnte gezeigt werden, dass es bei einem hohen Blutfluss von 400 ml/min, unabhängig von der verwendeten Filtermembran, zu einer Leukozytose kommt [90].

Zum Cisplatin induzierten, akuten Nierenversagen gibt es eine Studie, die eine Erhöhung der Zytokinspiegel von IL-1β, IL-18 und IL-6 sowie eine vermehrte Neutrophilenakkumulation im Gewebe zeigen konnte [119].

Die mediane Leukozytenzahl lag in der Kontrollgruppe bei 21/nl (18-26/nl) und in der Iloprostgruppe bei 21/nl (16-27/nl). Damit handelt es sich bei einem Referenzbereich von 4,5-11/nl um stark erhöhte Werte, die auf eine ausgeprägte Inflammationssituation hindeuten.

Zusammenfassend scheint für die erhöhten Leukozytenzahlen in dieser Studie in erster Linie die Inflammationssituation bei Sepsis verantwortlich zu sein. Wie bereits beschrieben wurde bei 5 Patienten in der Kontrollgruppe und bei 6 Patienten der Iloprostgruppe eine Sepsis diagnostiziert. Konkurrierend hierzu wirkt das antiinflammatorische Iloprost, welches aber in dieser Studie keinen signifikanten Einfluss auf die Leukozytenzahlen zeigt.

Der Einfluss von Filtermembran und kapillärem Blutfluss ist für diese Studie nicht relevant, da die Dialysebehandlung in beiden Gruppen mit denselben Filtern und Parametern durchgeführt wurde.

5.4.4 Thrombozyten

Die Kontrollgruppe zeigte im Verlauf einen signifikant stärkeren Abfall der Thrombozytenzahl gegenüber der Iloprostgruppe (p = 0.012).

Thrombozyten werden durch Demarkation aus Megakaryoblasten freigesetzt. Nach Aktivierung der Thrombozyten, z. B. durch Kontakt mit Fremdoberflächen, kommt es zur Adhäsion und Aggregation. Außerdem sind die Thrombozyten durch ihren Gehalt an Phospholipiden (Plättchenfaktor 3) an der plasmatischen Gerinnung beteiligt.

Im Rahmen der Sepsis kommt es durch Inflammation zur Thrombozytenaktivierung. In der Folge kann eine disseminierte intravasale Gerinnung auftreten. Diese verursacht Mikrozirkulationsstörungen, welche Organdysfunktionen auslösen können. Außerdem können die Thrombozyten durch Zytokin- und Wachtstumsfaktorenfreisetzung direkt an Inflammationsreaktionen beteiligt sein [120]. Außerdem kommt es in der Sepsis zu einer Thrombozytendysfunktion mit verminderter Aggregationsfähigkeit [121].

Auch durch Dialysetherapien wird die Thrombozytenzahl und –funktion beeinflusst. Im Rahmen der kontinuierlichen Hämofiltration wird häufig ein Thrombozytenabfall beobachtet. Der tägliche Thrombozytenverlust wird dabei auf bis zu 625 x 10⁹ Zellen geschätzt. Beeinflusst wird der Thrombozytenschwund durch den kapillären Blutfluss, wobei ein höherer Blutfluss in einem reduzierten Thrombozytenverlust resultiert [78]. Unter chronischer Hämofiltration oder -dialyse kommt es außerdem zu einer Plättchendysfunktion mit verminderter Aktivität durch rezidivierenden Fremdoberflächenkontakt [79]. Auch eine verminderte Thrombopoese kann bei chronischem Nierenversagen zu einer Thrombozytopenie führen [122].

Die Gabe von Prostazyklin führt zu einer verminderten GP IIb-IIIa- und P-Selektin-Expression auf aktivierten Thrombozyten und damit zu geringerer Thrombozyten-Leukozyten-Aggregation [80].

Iloprost wirkt als "common pathway"-Inhibitor hemmend auf alle Aktivierungsstadien der Thrombozyten. Nach Bindung an den Prostaglandinrezeptor (PGI2-Rezeptor) auf der Thrombozytenoberfläche kommt es über eine komplexe Signalvermittlung intrazellulär zur Verminderung der Exposition fibrinogenbindender Rezeptoren auf Oberfläche der Thrombozyten und zu verminderter Actin-Myosin-Kontraktion [36].

In dieser Studie war ein signifikant verminderter Thrombozytenabfall unter Iloprosttherapie festzustellen. Die notwendige Iloprostdosis (0,5-2 ng/kg KG/min) zum Erreichen einer signifikanten Hemmung der Thrombozytenfunktion wurde in dieser Studie angestrebt. Aus der Literatur ist zu entnehmen, dass eine Dosierung von 1ng/kg KG/min zu einer Hemmung der Thrombozytenfunktion ausreichend sei [16]. In dieser Studie konnte jedoch keine Wirkung von Iloprost auf die Thrombozytenfunktion gezeigt werden [183]. Ein verminderter Verbrauch der Thrombozyten in der Gerinnung durch Thrombozytenfunktionshemmung scheidet also als Ursache für den verringerten Thrombozytenabfall in dieser Studie aus.

Der verminderte Thrombozytenabfall scheint vielmehr auf die immunologischen Effekte des Iloprost zurückzuführen zu sein. Wie auch Prostazyklin bewirkt Iloprost durch eine verminderte GPIIb-IIIa- und P-Selektin-Expression auf aktivierten Thrombozyten eine geringere Thrombozyten-Leukozyten-Aggregation. Die Faktoren, die zu einer Aktivierung der Thrombozyten führen sind in beiden Gruppen gleichartig. So sind die Sepsisinzidenz, die verwendete Dialysefiltermembran und der kapilläre Blutfluss in beiden Gruppen identisch. Der abhängige Faktor, welcher zum unterschiedlichen Verlauf der Thrombozytenzahlen führt, ist lediglich die Iloprosttherapie.

5.4.5 CRP

Die maximalen CRP-Werte unterschieden sich zwischen beiden Gruppen nicht signifikant.

CRP als das klassische Akute-Phase-Protein ist ein empfindlicher, aber unspezifischer Indikator bei allen akuten Inflammationsreaktionen. Somit wird CRP wie auch das Prokalzitonin als Verlaufsparameter bei Patienten mit SIRS oder Sepsis eingesetzt [123].

Bei Patienten, die chronisch dialysepflichtig sind, ist das CRP ein sensitiver Marker für die kardiovaskuläre Mortalität. So konnte klinisch gezeigt werden, dass bei einem CRP-Wert >0,62 mg/dl die kardiovaskuläre Mortalität signifikant erhöht ist [124]. Der CRP-Spiegel wird außerdem vom Volumenumsatz während der Dialyse und der verwendeten Filtermembran beeinflusst [125]. In einer klinischen, prospektiven Studie über zwei Jahre konnte gezeigt werden, dass bei chronischen Dialysepatienten ein erhöhter CRP-Wert mit einer signifikant erhöhten Mortalität vergesellschaftet ist [126].

Unter prolongierter Iloprostgabe konnte bei Patienten mit Sklerodermie eine Verminderung des CRP-Plasmaspiegels beobachtet werden [127].

Durch die CVVH-Behandlung und hohe Sepsisinzidenz lagen in dieser Studie vermehrt Inflammationssituationen vor. Mit Werten von 16,6 mg/dl (11,5–27,6 mg/dl) in der Kontrollgruppe und 11,4 mg/dl (6,5–17,9 mg/dl) in der Iloprostgruppe liegen die maximalen CRP-Werte in dieser Studie denn auch erwartungsgemäß weit über dem Referenzbereich von <0,5 mg/dl.

Ein Einfluss von Iloprost auf den CRP-Wert war in dieser Studie nicht nachweisbar.

Mit einem Molekülgewicht von 120.000 Dalton kann CRP nicht über die CVVH abfiltriert werden. Eine Verfälschung der CRP-Werte durch Filtration im Rahmen der CVVH-Behandlung ist damit ausgeschlossen.

5.4.6 Fibrinogen

Die Ausgangswerte und die Overall-Werte der Fibrinogen-Plasmaspiegel zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

Fibrinogen gehört zur Gruppe der Akute-Phase-Proteine. Bei entzündlichen Reaktionen kommt es zu einer starken Erhöhung des Fibrinogenspiegels im Plasma. Dazu spielt Fibrinogen eine zentrale Rolle in der Blutgerinnung. Durch diese Doppelrolle erklärt sich die Schlüsselstellung von Fibrinogen im Rahmen von SIRS und Sepsis. Fibrinogen kann auch als prognostischer Marker zur Mortalität in der Sepsis verwandt werden [128].

Auch im Rahmen des akuten Nierenversagens kommt der Fibrinogen-Plasmaspiegel als prognostischer Parameter in betracht. Wang et al konnten zeigen, dass bei Patienten mit akutem Nierenersagen der Fibrinogen-Plasmaspiegel ein prognostisch nutzbarer Parameter ist. Dabei wies ein Fibrinogen-Plasmaspiegel von <300 mg/dl eine 61% Sensitivität und 96% Spezitivität in Bezug auf die Mortalität auf [129]. Außerdem wurde gezeigt, dass der Fibrinogenspiegel keinen Einfluss auf die Filterlaufzeit im Rahmen einer Dialyse besitzt [130].

Eine klinische Beeinflussung des Fibrinogen-Plasmaspiegels durch Iloprost konnte bisher nicht nachgewiesen werden [131]. In einem experimentellen extrakorporalen Kreislauf konnte jedoch gezeigt werden, dass durch Iloprost das Fibrinogen-Abbauprodukt Fibrinopeptid A vermindert anfällt [132].

Im Rahmen dieser Studie wäre es möglich gewesen, dass der Fibrinogenspiegel durch die immunmodulatorischen Eigenschaften von Iloprost vermindert wird. Dies konnte jedoch nicht nachgewiesen werde. Ursache hierfür könnte die zentrale Stellung von Fibrinogen im komplexen und eng verwobenen Zytokinsystem von Sepsis und Gerinnung sein, das durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst wird.

5.4.7 Weitere erfasste Parameter

5.4.7.1 Filterlaufzeit

Die mediane Filterlaufzeit in der Iloprostgruppe war mit 14 h (13-26 h) signifikant länger als in der Kontrollgruppe mit 10 h (4-12 h); p = 0,004.

Die klinische Bedeutung der Filterlaufzeit liegt vor allem in der Frequenz der Filterwechsel, die für den Patienten jeweils einen erheblichen Blutverlust und damit eine nicht zu vernachlässigende hämodynamische Belastung bedeuten. Außerdem stellt ein hochfrequenter Filterwechsel einen erhöhten Personalbedarf, sowie ein erhebliches ökonomisches Problem durch beträchtlich gesteigerten Materialbedarf dar.

Zu den individuellen Ursachen der Filterverschlüsse in dieser Studie kann keine Aussage gemacht werden. Ätiologisch können sowohl das Filterclotting (Mikrothromben verstopfen die Filterkapillaren) als auch das Clogging (Sedimentation von korpuskulären Blutbestandteilen, insbesondere von Erythrozyten, als Ursache der Kapillarverstopfung) eine Rolle spielen. Diese Phänomene werden in der Literatur derzeit diskutiert [133]. Hier wäre eine weitere Untersuchung der Filter wünschenswert gewesen. Für Prostaglandine, und hier auch für Iloprost, ist eine Verbesserung der rheologischen Eigenschaften von Erythrozyten nachgewiesen [134]. Dieser Effekt könnte wesentlich zu Verlängerung der Filterlaufzeiten beigetragen haben.

Um die Filterlaufzeit zu verlängern und zu optimieren, hat man bereits zahlreiche Untersuchungen durchgeführt. Dazu wurden verschiedene Antikoagulantien, Filtermembranen, Gefäßzugänge und differenzierte Dialyseschemata mit beispielsweise wechselnden Blutflussraten verwendet. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde eine Antikoagulation mit Heparin in beiden Untersuchungsgruppen durchgeführt. Diese wurde mittels der aPTT kontrolliert und auf ca. 40-50s eingestellt. Statistisch gab es hinsichtlich der aPTT-Einstellung keinen Gruppenunterschied. Auch die ACT stellt einen potenten Marker zur Kontrolle der Antikoagulation dar [130]. In der vorliegenden Studie wurde die ACT ebenfalls gemessen und es wurde kein statistisch signifikanter Gruppenunterschied gefunden. Dabei lagen die ACT-Werte jedoch niedriger als in vergleichbaren Studien mit längeren Filterlaufzeiten [11].

Im Vergleich zu anderen Studien wurden in dieser Untersuchung trotz vergleichbarer Antikoagulation (aPTT) überraschend kurze Filterlaufzeiten gemessen. Besonders die

Filterlaufzeiten der Kontrollgruppe waren deutlich kürzer, als die in anderen Studien beschriebenen Werte von 14 und 24 Stunden [11,135,136]. Ursachen für diese vergleichsweise kurzen Filterlaufzeiten liegen möglicherweise in der im Vergleich zu anderen Studien recht konservativen Dosierung des Heparins mit einer Ziel-aPTT von 40-50s. Außerdem wurden in dieser Studie alle beobachteten Filterlaufzeiten in die Berechnung integriert. So gingen auch Laufzeiten ein, die durch vorzeitigen Abbruch (zum Beispiel CT-Transport, OP, etc.) nicht den primären Endpunkt der Filterokklusion erreichten. Diese wurden zur statistischen Auswertung war zensiert, wirken sich im Endergebnis aber kürzend auf das Gesamtergebnis aus. Außerdem wurden in diese Studie viele Patienten nach OP mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine eingeschlossen. dem Herz-Lungen-Bypass kommt es häufig zu einer systemischen inflammatorischen Antwort und in der Folge zu verkürzten Filterlaufzeiten [137].

Hinsichtlich der Antikoagulation bildet die Iloprostgabe also den einzigen Unterschied zwischen den Gruppen. Schon in früheren Studien wurden Prostazyklin und Prostaglandin I₂ zur Antikoagulation im Rahmen der CVVH-Therapie eingesetzt. Kozek-Langenecker untersuchte den Einsatz von Prostaglandinen bei extrakorporalen Verfahren und konnte für Iloprost eine Verlängerung der Filterlaufzeit zeigen [97]. Auch Brierley konnte eine Verlängerung der Filterlaufzeit unter Iloprostgabe (2ng/kg KG/min) im Rahmen einer CAVHD-Behandlung nachweisen [3].

5.4.7.2 **AT III**

Die AT III-Werte in beiden Gruppen unterschieden über den Studienverlauf nicht signifikant voneinander.

Physiologisch inhibiert AT III die Serinproteasen Thrombin und Faktor Xa. Schon eine leichte Verminderung der AT III Aktivität verursacht dabei ein Ungleichgewicht mit gesteigerter Thrombophilie und Thrombemboliegefährdung.

Die Blutgerinnung ist ein eng geregeltes System. Physiologischerweise stehen der Gerinnungsaktivierung über den intrinsischen und extrinsischen Weg drei Systeme der Gerinnungsinhibition entgegen. AT III, Protein C und Gewebefaktor-Inhibitor (Tissue Factor pathway inhibitor) stehen als Gerinnungsinhibitoren in einem physiologischen Gleichgewicht zur Gerinnungsaktivierung.

Besonders im Rahmen von SIRS und Sepsis sind die Systeme von Inflammation und Gerinnung eng miteinander verbunden. Dabei aktiviert eine Inflammationsreaktion nicht nur die Gerinnung. Auch das aktivierte Gerinnungssystem kann eine Inflammationsreaktion auslösen [138].

Zu Beginn einer Inflammationsreaktion werden Gerinnung und Fibrinolyse gleichermaßen aktiviert. Bei fortschreitender Sepsis wird das fibrinolytische System jedoch durch Plasminogenaktivator-Inhibitor herunterreguliert. Ein Hauptmechanismus zur Aktivierung der Gerinnung im Rahmen der Sepsis besteht in dieser Herunterregulation der körpereigenen antikoagulatorischen Systeme, wie zum Beispiel dem AT III-System. Außerdem kommt es zum Verbrauch von AT III und Protein C. Die AT III-Plasmaspiegel sind damit auch ein Prädiktor für die Mortalität in der Sepsis [139].

Die Gerinnung spielt dabei nicht nur in ihrer extremsten Form, der disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC), eine entscheidende Rolle im klinischen Verlauf der Sepsis. Auch in weniger ausgeprägter Form ist die pathologisch aktivierte Gerinnungskaskade ein Faktor in der Pathogenese von Organversagen [140].

AT III wird bereits seit einiger Zeit als Konzentrat im Rahmen der Sepsistherapie substituiert. Darunter kommt es jedoch nicht nur zur Regulation der Hyperkoagulablität und Hyperinflammation. Es wurden auch antiinflammatorische Effekte unter AT III Substitution beobachtet. So konnte eine reduzierte IL-6-Produktion und ein vermindertes

Leukozytenrolling am Endothel beobachtet werden [141]. Der zugrunde liegende Mechanismus dabei ist eine durch AT III gesteigerte Prostazyklinmetabolitenfreisetzung (6-keto-PGF $_{1\alpha}$) aus dem Endothel sowie eine Verminderung der Level von TNF $_{\alpha}$ und anderen proinflammatorischen Zytokinen. Dadurch kommt es PGI $_{2}$ -vermittelt zu einer Inhibierung der Leukozytenaktivierung [142].

Im Rahmen der CVVH-Behandlung kommt es durch Fremdoberflächenkontakt zur Gerinnungsaktivierung. Der AT III-Plasmaspiegel bleibt jedoch durch die CVVH unbeeinflusst [130].

Der Zusammenhang zwischen Iloprosttherapie und dem AT III- Plasmaspiegel wurde bisher vornehmlich bei paVK-Patienten untersucht. Dabei wurde nach Iloprosttherapie ein Anstieg der AT III-Plasmaspiegel beobachtet. Kurzfristig wurde der Effekt einem verminderten AT III-Verbrauch und mittelfristig einer Herunterregulierung von Faktor VII zugeschrieben [131].

In dieser Arbeit konnte kein Einfluss von Iloprost auf den AT III-Plasmaspiegel nachgewiesen werden. Hinsichtlich der Infektsituation und der Gerinnungsaktivierung durch die CVVH-Behandlung waren beide Gruppen vergleichbar. Der vorbeschriebene AT III-Spiegel steigernde Effekt von Iloprost ist hier nicht nachzuweisen. Möglicherweise sind in dieser Studiensituation die Effekte des eng verwobenen Netzwerks von Inflammation und Gerinnung zu vielfältig um den Einzeleffekt von Iloprost darzustellen.

5.4.7.3 **D-Dimere**

Es fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied der D-Dimer-Werte zwischen den beiden Gruppen.

D-Dimere sind Fibrinspaltprodukte, die bei der Spaltung von vernetztem Fibrin durch Faktor XIIIa entstehen. Sie treten physiologisch in geringer Konzentration im Plasma auf und zeigen damit die kontinuierliche Kontrolle der Hämostase durch Gerinnungsfaktoren und das Fibrinolysesystem an. Erhöhte Werte dienen als Aktivierungsmarker der Hämostase.

Im Rahmen der Sepsis werden stark erhöhte D-Dimer-Werte beobachtet. Ursache ist die bereits oben beschriebene Gerinnungsaktivierung durch Inflammationsreaktionen bis zur disseminierten intravasalen Gerinnung [138,143].

Auch unter CVVH-Behandlung kommt es zur Gerinnungsaktivierung durch Kontakt mit Fremdoberflächen. Dadurch kommt es bei Dialysepatienten zu erhöhten D-Dimer-Werten [144].

Der Einfluss von Iloprost auf die D-Dimere wurde bisher vorwiegend an Patienten mit paVK untersucht. Dabei zeigte sich eine signifikante Reduktion des D-Dimer-Werts nach Iloprostinfusion [145].

Zusammenfassend lässt sich bezüglich dieser Studie sagen, dass kein Iloprosteffekt auf den D-Dimer-Wert nachweisbar war. Auch hier spielen wahrscheinlich die vielfältigen Einflüsse aus Inflammations- und Gerinnungssystem zusammen.

5.4.7.4 Retentionswerte

Die Kreatinin- und Harnstoffwerte der Gruppen unterschieden sich nicht statistisch signifikant voneinander.

Kreatinin entsteht auf nichtenzymatischem Wege beim Abbau von Kreatin und Kreatinphosphat. Es wird vollständig durch glomeruläre Filtration eliminiert und ist somit ein wichtiger Parameter zur Beurteilung der Nierenfunktion. Harnstoff ist das Endprodukt des Protein- und Aminosäurestoffwechsels. Die Ausscheidung erfolgt über den Urin. Aufgrund dessen ist auch der Plasmaharnstoffspiegel prädestiniert als Parameter für die Beurteilung der Nierenfunktion.

Die Kreatinin- und Harnstoffwerte werden in der Sepsis vor allem durch das häufige Auftreten eines akuten Nierenversagens beeinflusst. Außerdem spielt die zeitweise katabole Stoffwechsellage eine Rolle.

Die verschiedenen Nierenersatzverfahren haben die Eliminierung der harnpflichtigen Substanzen zum Ziel. So sollen Kreatinin und Harnstoff möglich vollständig abfiltriert werden. Die Effizienz mit der dies geschieht hängt deutlich vom verwendeten Dialyseverfahren ab. So konnte gezeigt werden, dass unter den kontinuierlichen Nierenersatzverfahren die CVVHD der CVVHF mit postdilution mode deutlich überlegen ist [95]. Der kapilläre Blutfluss hängt außerdem linear mit der Elimination von Kreatinin und Harnstoff zusammen [91].

Im Rahmen dieser Studie wurde in beiden Gruppen das gleiche Nierenersatzverfahren eingesetzt. Die Gruppen unterschieden sich signifikant in den gemessenen Filterlaufzeiten. Dies hätte in der Iloprostgruppe zu einer gesteigerten Effizienz der Elimination von Harnstoff und Kreatinin führen können. Ein solcher Gruppenunterschied war jedoch nicht feststellbar. Außerdem konnte keine signifikante Reduktion der Plasmaspiegel von Kreatinin und Harnstoff über den Studienverlauf nachgewiesen werden.

Zusammenfassend kann in dieser Studie kein Einfluss der Iloprostgabe oder Filterlaufzeitenverlängerung durch Iloprost auf die Elimination von Kreatinin und Harnstoff gezeigt werden.

<u>6</u> Zusammenfassung

6.1 Einleitung und Herleitung der Aufgabenstellung

Trotz der Fortschritte der Forschung in der Medizin weisen Sepsis und septisches Multiorganversagen eine unverändert hohe Letalität auf. Auf operativen Intensivstationen ist die Sepsis derzeit weiter die häufigste Todesursache [82]. Im Rahmen der Sepsis tritt häufig ein akutes Nierenversagen mit der Indikation für ein Nierenersatzverfahren auf. Besonders bei kritisch kranken und hämodynamisch instabilen Patienten kommt die kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration zum Einsatz. Um eine Aktivierung der Blutgerinnungskaskade mit folgender Thrombenbildung bei Fremdoberflächenkontakt zu vermeiden, wird bei der CVVH, wie bei jedem extrakorporalen Kreislauf, eine Antikoagulation notwendig. Standardregime ist hierbei die systemische Heparinisierung. Diese gestaltet sich bei blutungsgefährdeten und instabilen Patienten oft schwierig. Außerdem nimmt die Inzidenz der heparininduzierten Thrombozytopenie (HIT) zu. Das macht die Bedeutung alternativer Antikoagulationsverfahren deutlich. Prostaglandine, wie Prostazyklin und Iloprost, wurden schon im Rahmen verschiedener extrakorporaler Kreisläufe eingesetzt. Durch ihre vielfältigen immunmodulatorischen und antikoagulatorischen Eigenschaften bieten sie sich für den Einsatz im Rahmen der CVVH-Therapie bei septischen Patienten an. Die Untersuchung des Einflusses von im Inflammationsparameter Rahmen der CVVH-Behandlung bei Intensivpatienten mit akutem Nierenversagen stand im Mittelpunkt dieser Arbeit.

6.2 Methodik

In der vorliegenden klinischen Pilotstudie wurden 20 kritisch kranke Patienten mit akutem Nierenversagen untersucht. Ziel war es, den Einfluss des stabilen Prostazyklinanalogons Iloprost auf verschiedene immunologische Parameter (IL-6, sCD-14, Leukozyten, Thrombozyten, CRP und Fibrinogen) im Rahmen einer CVVH-Behandlung zu untersuchen. Die Patienten wurden in zwei Untersuchungsgruppen randomisiert. Die Kontroll- und die Iloprostgruppe erhielten eine Antikoagulation mit Heparin. Die Iloprostgruppe erhielt zusätzlich 1ng/kg KG/min Iloprost. Es wurde eine CVVH-Therapie durchgeführt und in regelmäßigen Abständen wurden Blutproben entnommen. Die Filterlaufzeiten, AT III-Aktivität, D-Dimer-Spiegel und Retentionswerte wurden erfasst.

6.3 Ergebnisse

In der Iloprostgruppe konnte über den Beobachtungszeitraum ein signifikant verminderter Thrombozytenabfall nachgewiesen werden. Außerdem zeigte sich eine signifikant verlängerte Filterlaufzeit in der Iloprostgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bezüglich der Parameter IL-6, sCD-14, Leukozyten, CRP, Fibrinogen, AT III, D-Dimere und der Retentionswerte konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden werden.

6.4 Schlussfolgerung

In dieser Studie konnte ein durch lloprosttherapie signifikant verminderter Thrombozytenabfall bei Patienten mit Inflammation während der CVVH nachgewiesen werden. Dieser Effekt ist bedeutsam, da es bei Patienten mit Sepsis regelmäßig zu Thrombozytenabfällen in Folge einer Thrombozytenaktivierung relevanten mit konsekutiver Aggregation kommt. Außerdem treten Thrombozytenabfälle häufig im Zusammenhang auf. Die mit einer CVVH-Therapie Verminderung des Thrombozytenabfalls scheint auf die immunologischen **Effekte** des lloprost zurückzuführen zu sein, da in parallel durchgeführten Thrombozytenfunktionstests kein Einfluss von Iloprost auf die Thrombozytenfunktion nachgewiesen werden konnte [146]. So bewirkt lloprost wie auch Prostazyklin zum Beispiel durch eine verminderte GPIIb-IIIaund P-Selektin-Expression auf aktivierten Thrombozyten eine geringere Thrombozyten-Leukozyten-Aggregation.

Betrachtet man die potenziell günstigen Effekte von Iloprost bei Sepsis und Organversagen (klinisch und experimentell nachgewiesene antiinflammatorische Wirkungen, Schutz der Thrombozyten, relativ geringes Risiko für Blutungskomplikationen, relativ gute Steuerbarkeit der Wirkung, günstige Beeinflussung der rheologischen Eigenschaften von Erythrozyten, Verlängerung der Filterlaufzeit bei der CVVH), so könnte Iloprost zur zusätzlichen Antikoagulation insbesondere bei septischen Patienten mit akutem Nierenversagen indiziert sein. Diese Indikation könnte insbesondere dann gesehen werden, wenn andere Standard-Antikoagulationsregime kontraindiziert sind (z.B. Zitratantikoagulation bei akutem Leberversagen). Hierzu sind jedoch noch weitere klinische Untersuchungen, beispielsweise mit höheren Dosen von Iloprost, notwendig.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Neuhaus TJ, Goetschel P, Schmugge M, et al. Heparin-induced thrombocytopenia type II on hemodialysis: switch to danaparoid. Pediatr Nephrol 2000;14:713-6.
- 2 Schneider T, Heuer B, Deller A, et al. Continuous haemofiltration with r-hirudin (lepirudin) as anticoagulant in a patient with heparin induced thrombocytopenia (HIT II). Wien Klin Wochenschr 2000;112:552-5.
- 3 Brierley JK, Hutchinson A. Prolongation of filter life in continuous arteriovenous haemodialysis. Intensive Care Med 1991;17:187-8.
- 4 Vargas HO, Kox WJ, Spies C. Anticoagulation in continuous renal replacement therapy. Contrib Nephrol 2004;144:308-16.
- 5 Amanzadeh J, Reilly RF, Jr. Anticoagulation and continuous renal replacement therapy. Semin Dial 2006;19:311-6.
- 6 Fassbinder W. Experience with the GENIUS hemodialysis system. Kidney Blood Press Res 2003;26:96-9.
- 7 Jaichenko J, Schustack A, Abraham D, et al. Regional heparinization facilitates safe hemodialysis and/or hemofiltration in the critically ill patient. Am J Clin Pathol 1987;87:556-7.
- 8 Martel N, Lee J, Wells PS. Risk for heparin-induced thrombocytopenia with unfractionated and low-molecular-weight heparin thromboprophylaxis: a meta-analysis. Blood 2005;106:2710-5.
- 9 Gabutti L, Marone C, Colucci G, et al. Citrate anticoagulation in continuous venovenous hemodiafiltration: a metabolic challenge. Intensive Care Med 2002;28:1419-25.
- 10 Chuang P, Parikh C, Reilly RF. A case review: anticoagulation in hemodialysis patients with heparin-induced thrombocytopenia. Am J Nephrol 2001;21:226-31.
- 11 Vargas HO, von Heymann C, Lipps M, et al. Hirudin versus heparin for anticoagulation in continuous renal replacement therapy. Intensive Care Med 2001;27:673-9.
- 12 Hein OV, von Heymann C, Morgera S, et al. Protracted bleeding after hirudin anticoagulation for cardiac surgery in a patient with HIT II and chronic renal failure. Artif Organs 2005;29:507-10.
- 13 Hein OV, von Heymann C, Diehl T, et al. Intermittent hirudin versus continuous heparin for anticoagulation in continuous renal replacement therapy. Ren Fail 2004;26:297-303.

- 14 Balik M, Waldauf P, Plasil P, et al. Prostacyclin versus citrate in continuous haemodiafiltration: an observational study in patients with high risk of bleeding. Blood Purif 2005;23:325-9.
- 15 Langenecker SA, Felfernig M, Werba A, et al. Anticoagulation with prostacyclin and heparin during continuous venovenous hemofiltration. Crit Care Med 1994;22:1774-81.
- 16 Krause W, Krais T. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the prostacyclin analogue iloprost in man. Eur J Clin Pharmacol 1986;30:61-8.
- 17 Ogawa Y, Tanaka I, Inoue M, et al. Structural organization and chromosomal assignment of the human prostacyclin receptor gene. Genomics 1995;27:142-8.
- 18 Abramovitz M, Adam M, Boie Y, et al. The utilization of recombinant prostanoid receptors to determine the affinities and selectivities of prostaglandins and related analogs. Biochim Biophys Acta 2000;1483:285-93.
- 19 Hossmann V, Auel H, Rucker W, et al. Prolonged infusion of prostacyclin in patients with advanced stages of peripheral vascular disease: a placebo-controlled cross-over study. Klin Wochenschr 1984;62:1108-14.
- 20 Di Renzo M, Pieragalli D, Meini S, et al. lloprost treatment reduces TNF-alpha production and TNF-RII expression in critical limb ischemia patients without affecting IL6. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2005;73:405-10.
- 21 Gao IK, Scholz P, Boehme MW, et al. A 7-day oral treatment of patients with active rheumatoid arthritis using the prostacyclin analog iloprost: cytokine modulation, safety, and clinical effects. Rheumatol Int 2002;22:45-51.
- 22 Czeslick EG, Simm A, Grond S, et al. Inhibition of intracellular tumour necrosis factor (TNF)-alpha and interleukin (IL)-6 production in human monocytes by iloprost. Eur J Clin Invest 2003;33:1013-7.
- 23 Eisenhut T, Sinha B, Grottrup-Wolfers E, et al. Prostacyclin analogs suppress the synthesis of tumor necrosis factor-alpha in LPS-stimulated human peripheral blood mononuclear cells. Immunopharmacology 1993;26:259-64.
- 24 Zhou W, Hashimoto K, Goleniewska K, et al. Prostaglandin I2 analogs inhibit proinflammatory cytokine production and T cell stimulatory function of dendritic cells. J Immunol 2007;178:702-10.
- 25 Shinomiya S, Naraba H, Ueno A, et al. Regulation of TNFalpha and interleukin-10 production by prostaglandins I(2) and E(2): studies with prostaglandin receptor-deficient mice and prostaglandin E-receptor subtype-selective synthetic agonists. Biochem Pharmacol 2001;61:1153-60.
- 26 Raychaudhuri B, Malur A, Bonfield TL, et al. The prostacyclin analogue treprostinil blocks NFkappaB nuclear translocation in human alveolar macrophages. J Biol Chem 2002;277:33344-8.

- 27 Luttmann W, Herzog V, Matthys H, et al. Modulation of cytokine release from mononuclear cells by prostacyclin, IL-4 and IL-13. Cytokine 1999;11:127-33.
- 28 Luttmann W, Herzog V, Virchow JC, Jr., et al. Prostacyclin modulates granulocyte/macrophage colony-stimulating factor release by human blood mononuclear cells. Pulm Pharmacol 1996;9:43-8.
- 29 Della BS, Molteni M, Mocellin C, et al. Novel mode of action of iloprost: in vitro down-regulation of endothelial cell adhesion molecules. Prostaglandins Other Lipid Mediat 2001;65:73-83.
- 30 Lehmann C, Konig JP, Dettmann J, et al. Effects of iloprost, a stable prostacyclin analog, on intestinal leukocyte adherence and microvascular blood flow in rat experimental endotoxemia. Crit Care Med 2001;29:1412-6.
- 31 Aronoff DM, Peres CM, Serezani CH, et al. Synthetic prostacyclin analogs differentially regulate macrophage function via distinct analog-receptor binding specificities. J Immunol 2007;178:1628-34.
- 32 Levitt MA, Lefer AM. Anti-shock properties of the prostacyclin analog, iloprost, in traumatic shock. Prostaglandins Leukot Med 1986;25:175-85.
- 33 Bursch W, Taper HS, Somer MP, et al. Histochemical and biochemical studies on the effect of the prostacyclin derivative iloprost on CCl4-induced lipid peroxidation in rat liver and its significance for hepatoprotection. Hepatology 1989;9:830-8.
- 34 Gorman RR, Bunting S, Miller OV. Modulation of human platelet adenylate cyclase by prostacyclin (PGX). Prostaglandins 1977;13:377-88.
- 35 Tateson JE, Moncada S, Vane JR. Effects of prostacyclin (PGX) on cyclic AMP concentrations in human platelets. Prostaglandins 1977;13:389-97.
- 36 Jaschonek K, Faul C, Schmidt H, et al. Desensitization of platelets to iloprost. Loss of specific binding sites and heterologous desensitization of adenylate cyclase. Eur J Pharmacol 1988;147:187-96.
- 37 Schror K, Darius H, Matzky R, et al. The antiplatelet and cardiovascular actions of a new carbacyclin derivative (ZK 36 374)--equipotent to PGI2 in vitro. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1981;316:252-5.
- 38 Fisher CA, Kappa JR, Sinha AK, et al. Comparison of equimolar concentrations of iloprost, prostacyclin, and prostaglandin E1 on human platelet function. J Lab Clin Med 1987;109:184-90.
- 39 Yardumian DA, Mackie IJ, Brennan EC, et al. Platelet function studies during and after infusions of ZK 36374, a stable prostacyclin analogue, to healthy volunteers. Haemostasis 1986;16:20-6.
- 40 Musial J, Wilczynska M, Sladek K, et al. Fibrinolytic activity of prostacyclin and iloprost in patients with peripheral arterial disease. Prostaglandins 1986;31:61-70.

- 41 Barnes PJ, Liu SF. Regulation of pulmonary vascular tone. Pharmacol Rev 1995;47:87-131.
- 42 Schermuly RT, Pullamsetti SS, Breitenbach SC, et al. Iloprost-induced desensitization of the prostacyclin receptor in isolated rabbit lungs. Respir Res 2007;8:4.
- 43 Marasciulo FL, Montagnani M, Potenza MA. Endothelin-1: the yin and yang on vascular function. Curr Med Chem 2006;13:1655-65.
- 44 Machherndl S, Kneussl M, Baumgartner H, et al. Long-term treatment of pulmonary hypertension with aerosolized iloprost. Eur Respir J 2001;17:8-13.
- 45 Dormandy JA. Prostanoid drug therapy for peripheral arterial occlusive disease--the European experience. Vasc Med 1996;1:155-8.
- 46 Kaukinen S, Ylitalo P, Pessi T, et al. Hemodynamic effects of iloprost, a prostacyclin analog. Clin Pharmacol Ther 1984;36:464-9.
- 47 Belch JJ, Greer I, McLaren M, et al. The effects of intravenous ZK36-374, a stable prostacyclin analogue, on normal volunteers. Prostaglandins 1984;28:67-77.
- 48 Bek M, Nusing R, Kowark P, et al. Characterization of prostanoid receptors in podocytes. J Am Soc Nephrol 1999;10:2084-93.
- 49 Angeli P, Gatta A, Caregaro L, et al. Effects of iloprost, a prostacyclin analog derivative, on renal plasma flow, renal function, and renin-aldosterone system in humans. Clin Pharmacol Ther 1988;44:211-6.
- 50 Grant SM, Goa KL. Iloprost. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in peripheral vascular disease, myocardial ischaemia and extracorporeal circulation procedures. Drugs 1992;43:889-924.
- 51 Turney JH, Williams LC, Fewell MR, et al. Platelet protection and heparin sparing with prostacyclin during regular dialysis therapy. Lancet 1980;2:219-22.
- 52 Fiaccadori E, Maggiore U, Rotelli C, et al. Continuous haemofiltration in acute renal failure with prostacyclin as the sole anti-haemostatic agent. Intensive Care Med 2002;28:586-93.
- 53 Martin W, Spyt T, Thomas I, et al. Quantification of extracorporeal platelet deposition in cardiopulmonary bypass: effects of ZK 36374, a prostacyclin analogue. Eur J Nucl Med 1989;15:128-32.
- 54 Watson HR, Belcher G, Brierley JK, et al. Iloprost in cardiopulmonary bypass procedures. Agents Actions Suppl 1992;37:346-53.
- 55 Cottrell ED, Kappa JR, Stenach N, et al. Temporary inhibition of platelet function with iloprost (ZK36374) preserves canine platelets during extracorporeal membrane oxygenation. J Thorac Cardiovasc Surg 1988;96:535-41.

- 56 Faybik P, Bacher A, Kozek-Langenecker SA, et al. Molecular adsorbent recirculating system and hemostasis in patients at high risk of bleeding: an observational study. Crit Care 2006;10:R24.
- 57 Herbelin A, Urena P, Nguyen AT, et al. Elevated circulating levels of interleukin-6 in patients with chronic renal failure. Kidney Int 1991;39:954-60.
- 58 Herbelin A, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Influence of uremia and hemodialysis on circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha. Kidney Int 1990;37:116-25.
- 59 Roccatello D, Menegatti E, Alfieri V, et al. Intradialytic cytokine gene expression. Blood Purif 1998;16:30-6.
- 60 Schindler R, Lonnemann G, Shaldon S, et al. Transcription, not synthesis, of interleukin-1 and tumor necrosis factor by complement. Kidney Int 1990;37:85-93.
- 61 Tarakcioglu M, Erbagci AB, Usalan C, et al. Acute effect of hemodialysis on serum levels of the proinflammatory cytokines. Mediators Inflamm 2003;12:15-9.
- 62 Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, et al. Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. Kidney Int 2004;65:1357-65.
- 63 Bologa RM, Levine DM, Parker TS, et al. Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 1998;32:107-14.
- 64 Bellomo R, Tipping P, Boyce N. Continuous veno-venous hemofiltration with dialysis removes cytokines from the circulation of septic patients. Crit Care Med 1993;21:522-6.
- 65 Schaefer RM, Paczek L, Heidland A. Cytokine production by monocytes during haemodialysis. Nephrol Dial Transplant 1991;6 Suppl 2:14-7.
- 66 Rysz J, Banach M, Cialkowska-Rysz A, et al. Blood serum levels of IL-2, IL-6, IL-8, TNF-alpha and IL-1beta in patients on maintenance hemodialysis. Cell Mol Immunol 2006;3:151-4.
- 67 Malaponte G, Bevelacqua V, Fatuzzo P, et al. IL-1beta, TNF-alpha and IL-6 release from monocytes in haemodialysis patients in relation to dialytic age. Nephrol Dial Transplant 2002;17:1964-70.
- 68 Himmelfarb J, Le P, Klenzak J, et al. Impaired monocyte cytokine production in critically ill patients with acute renal failure. Kidney Int 2004;66:2354-60.
- 69 Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. Biochem J 1990;265:621-36.
- 70 Bone RC. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation. Crit Care Med 1996;24:163-72.

- 71 Damas P, Ledoux D, Nys M, et al. Cytokine serum level during severe sepsis in human IL-6 as a marker of severity. Ann Surg 1992;215:356-62.
- 72 Massignon D, Lepape A, Bienvenu J, et al. Coagulation/fibrinolysis balance in septic shock related to cytokines and clinical state. Haemostasis 1994;24:36-48.
- 73 Oka Y, Murata A, Nishijima J, et al. Circulating interleukin 6 as a useful marker for predicting postoperative complications. Cytokine 1992;4:298-304.
- 74 Steinmetz HT, Herbertz A, Bertram M, et al. Increase in interleukin-6 serum level preceding fever in granulocytopenia and correlation with death from sepsis. J Infect Dis 1995;171:225-8.
- 75 Frey EA, Miller DS, Jahr TG, et al. Soluble CD14 participates in the response of cells to lipopolysaccharide. J Exp Med 1992;176:1665-71.
- 76 Rosch M, Helm M, Strecker W, et al. [Liberation of soluble CD14 (sCD 14) in plasma of trauma patients]. Unfallchirurg 1997;100:805-10.
- 77 Kawabata K, Nakai S, Miwa M, et al. Changes in Mac-1 and CD14 expression on monocytes and serum soluble CD14 level during push/pull hemodiafiltration. Nephron 2002;90:273-81.
- 78 Mulder J, Tan HK, Bellomo R, et al. Platelet loss across the hemofilter during continuous hemofiltration. Int J Artif Organs 2003;26:906-12.
- 79 Boldt J, Menges T, Wollbruck M, et al. Continuous hemofiltration and platelet function in critically ill patients. Crit Care Med 1994;22:1155-60.
- 80 Kozek-Langenecker SA, Spiss CK, Michalek-Sauberer A, et al. Effect of prostacyclin on platelets, polymorphonuclear cells, and heterotypic cell aggregation during hemofiltration. Crit Care Med 2003;31:864-8.
- 81 American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992;20:864-74.
- 82 Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, et al. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. Intensive Care Med 2007;33:606-18.
- 83 Bellomo R, Parkin G, Love J, et al. Management of acute renal failure in the critically ill with continuous venovenous hemodiafiltration. Ren Fail 1992;14:183-6.
- 84 Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, et al. APACHE II: a severity of disease classification system. Crit Care Med 1985;13:818-29.
- 85 Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP, et al. APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system. Crit Care Med 1981;9:591-7.

- 86 Le Gall JR, Loirat P, Alperovitch A, et al. A simplified acute physiology score for ICU patients. Crit Care Med 1984;12:975-7.
- 87 Schramm JC, Neveling D, Muhr G. [Prognostic parameters in acute lung failure (ARDS) in multi-trauma patients]. Unfallchirurg 1990;93:573-7.
- 88 Krauss T, Schunkert H. [Management of hypertension (ESC Guideline 2007/DHL Guideline 2008)]. Herz 2009;34:15-20.
- 89 Halter J, Steinberg J, Fink G, et al. Evidence of systemic cytokine release in patients undergoing cardiopulmonary bypass. J Extra Corpor Technol 2005;37:272-7.
- 90 Kjellstrand P, Jacobson SH, Skroder R, et al. Leukocyte overshoot: a new sign of bioincompatibility in fast hemodialysis. ASAIO Trans 1990;36:M314-M316.
- 91 Gilbert RW. Blood flow rate effects in continuous venovenous hemodiafiltration on blood urea nitrogen and creatinine reduction. Nephrol Nurs J 2000;27:503-6, 531.
- 92 Uchino S, Bellomo R, Goldsmith D, et al. Super high flux hemofiltration: a new technique for cytokine removal. Intensive Care Med 2002;28:651-5.
- 93 Lambermont B, Delanaye P, Dogne JM, et al. Large-pore membrane hemofiltration increases cytokine clearance and improves right ventricular-vascular coupling during endotoxic shock in pigs. Artif Organs 2006;30:560-4.
- 94 Morgera S, Slowinski T, Melzer C, et al. Renal replacement therapy with high-cutoff hemofilters: Impact of convection and diffusion on cytokine clearances and protein status. Am J Kidney Dis 2004;43:444-53.
- 95 Parakininkas D, Greenbaum LA. Comparison of solute clearance in three modes of continuous renal replacement therapy. Pediatr Crit Care Med 2004;5:269-74.
- 96 Monchi M, Berghmans D, Ledoux D, et al. Citrate vs. heparin for anticoagulation in continuous venovenous hemofiltration: a prospective randomized study. Intensive Care Med 2004;30:260-5.
- 97 Kozek-Langenecker SA. Anticoagulation with prostaglandins during extracorporeal circulation. Wien Klin Wochenschr 1999;111:129-40.
- 98 Kellum JA, Kong L, Fink MP, et al. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the Genetic and Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) Study. Arch Intern Med 2007;167:1655-63.
- 99 Jiang J, Tian K, Chen H, et al. Kinetics of plasma cytokines and its clinical significance in patients with severe trauma. Chin Med J (Engl) 1997;110:923-6.
- 100 Liaw YS, Yu CJ, Wu HD, et al. Comparison of inflammatory cytokine concentration and physiologic parameters in septic shock. J Formos Med Assoc 1997;96:685-90.

- 101 Gebhard F, Pfetsch H, Steinbach G, et al. Is interleukin 6 an early marker of injury severity following major trauma in humans? Arch Surg 2000;135:291-5.
- 102 Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. Ann Intern Med 1993;119:771-8.
- 103 Sullivan JS, Kilpatrick L, Costarino AT, Jr., et al. Correlation of plasma cytokine elevations with mortality rate in children with sepsis. J Pediatr 1992;120:510-5.
- 104 Patel RT, Deen KI, Youngs D, et al. Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intra-abdominal sepsis. Br J Surg 1994;81:1306-8.
- 105 Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJ, et al. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis. Blood 1989;74:1704-10.
- 106 Klouche K, Cavadore P, Portales P, et al. Continuous veno-venous hemofiltration improves hemodynamics in septic shock with acute renal failure without modifying TNFalpha and IL6 plasma concentrations. J Nephrol 2002;15:150-7.
- 107 Heering P, Grabensee B, Brause M. Cytokine removal in septic patients with continuous venovenous hemofiltration. Kidney Blood Press Res 2003;26:128-34.
- 108 Heering P, Morgera S, Schmitz FJ, et al. Cytokine removal and cardiovascular hemodynamics in septic patients with continuous venovenous hemofiltration. Intensive Care Med 1997;23:288-96.
- 109 Dahaba AA, Elawady GA, Rehak PH, et al. Procalcitonin and proinflammatory cytokine clearance during continuous venovenous haemofiltration in septic patients. Anaesth Intensive Care 2002;30:269-74.
- 110 Peng Y, Yuan Z, Li H. Removal of inflammatory cytokines and endotoxin by veno-venous continuous renal replacement therapy for burned patients with sepsis. Burns 2005;31:623-8.
- 111 Lazarov S, Balutsov M, Ianev E. [The role of bacterial endotoxins, receptors and cytokines in the pathogenesis of septic (endotoxin) shock]. Vutr Boles 2000;32:33-40.
- 112 Yaegashi Y, Shirakawa K, Sato N, et al. Evaluation of a newly identified soluble CD14 subtype as a marker for sepsis. J Infect Chemother 2005;11:234-8.
- 113 Landmann R, Knopf HP, Link S, et al. Human monocyte CD14 is upregulated by lipopolysaccharide. Infect Immun 1996;64:1762-9.
- 114 Nockher WA, Scherberich JE. Monocyte cell-surface CD14 expression and soluble CD14 antigen in hemodialysis: evidence for chronic exposure to LPS. Kidney Int 1995;48:1469-76.
- 115 Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts--rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. Bratisl Lek Listy 2001;102:5-14.

- 116 Rosenbloom AJ, Pinsky MR, Bryant JL, et al. Leukocyte activation in the peripheral blood of patients with cirrhosis of the liver and SIRS. Correlation with serum interleukin-6 levels and organ dysfunction. JAMA 1995;274:58-65.
- 117 Wegmuller E, Montandon A, Nydegger U, et al. Biocompatibility of different hemodialysis membranes: activation of complement and leukopenia. Int J Artif Organs 1986;9:85-92.
- 118 Jeren-Strujic B, Antos M, Jeren-Beus T, et al. [Kinetics of leukocytes in patients on hemodialysis]. Acta Med lugosl 1989;43:275-86.
- 119 Faubel S, Lewis EC, Reznikov L, et al. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL)-1beta, IL-18, IL-6, and neutrophil infiltration in the kidney. J Pharmacol Exp Ther 2007;322:8-15.
 - 120 Levi M. Platelets in sepsis. Hematology 2005;10 Suppl 1:129-31.
- 121 Boldt J, Menges T, Wollbruck M, et al. Platelet function in critically ill patients. Chest 1994;106:899-903.
- 122 Gafter U, Bessler H, Malachi T, et al. Platelet count and thrombopoietic activity in patients with chronic renal failure. Nephron 1987;45:207-10.
- 123 Rey C, Los AM, Concha A, et al. Procalcitonin and C-reactive protein as markers of systemic inflammatory response syndrome severity in critically ill children. Intensive Care Med 2007;33:477-84.
- 124 Racki S, Zaputovic L, Mavric Z, et al. C-reactive protein is a strong predictor of mortality in hemodialysis patients. Ren Fail 2006;28:427-33.
- 125 Panichi V, Rizza GM, Taccola D, et al. C-reactive protein in patients on chronic hemodialysis with different techniques and different membranes. Biomed Pharmacother 2006;60:14-7.
- 126 Chauveau P, Level C, Lasseur C, et al. C-reactive protein and procalcitonin as markers of mortality in hemodialysis patients: a 2-year prospective study. J Ren Nutr 2003;13:137-43.
- 127 Riemekasten G, Jepsen H, Burmester GR, et al. [lloprost administration over 21 days as an effective therapy in systemic scleroderma--case report and review of the literature]. Z Rheumatol 1998;57:118-24.
- 128 Lissalde-Lavigne G, Combescure C, Muller L, et al. Simple coagulation tests improve survival prediction in patients with septic shock. J Thromb Haemost 2008;6:645-53.
- 129 Wang IK, Wang ST, Lin CL, et al. Early prognostic factors in patients with acute renal failure requiring dialysis. Ren Fail 2006;28:43-9.
- 130 Stefanidis I, Hagel J, Frank D, et al. Hemostatic alterations during continuous venovenous hemofiltration in acute renal failure. Clin Nephrol 1996;46:199-205.

- 131 Ferlito S, Bonomo T, Costa R, et al. [Modification of some prothrombotic indices after treatment with iloprost in arterial disease patients]. Minerva Cardioangiol 1996;44:645-8.
- 132 Korn RL, Fisher CA, Stenach N, et al. lloprost reduces procoagulant activity in the extracorporeal circuit. J Surg Res 1993;55:433-40.
- 133 Unger JK, Haltern C, Dohmen B, et al. Albumin and hydroxyethyl starch 130 kDa/0.4 improve filter clearance and haemocompatibility in haemo- and plasmafiltration--an in vitro study. Nephrol Dial Transplant 2005;20:1922-31.
- 134 Korbut RA, Adamek-Guzik T, Madej J, et al. Endothelial secretogogues and deformability of erythrocytes. J Physiol Pharmacol 2002;53:655-65.
- 135 Tan HK, Baldwin I, Bellomo R. Continuous veno-venous hemofiltration without anticoagulation in high-risk patients. Intensive Care Med 2000;26:1652-7.
- 136 Baldwin I, Tan HK, Bridge N, et al. Possible strategies to prolong circuit life during hemofiltration: three controlled studies. Ren Fail 2002;24:839-48.
- 137 Asimakopoulos G. Systemic inflammation and cardiac surgery: an update. Perfusion 2001;16:353-60.
- 138 Levi M, van der PT, Buller HR. Bidirectional relation between inflammation and coagulation. Circulation 2004;109:2698-704.
- 139 Mammen EF. Antithrombin III and sepsis. Intensive Care Med 1998;24:649-50.
- 140 Mammen EF. Antithrombin: its physiological importance and role in DIC. Semin Thromb Hemost 1998;24:19-25.
- 141 Levi M, Schouten M, van der PT. Sepsis, coagulation, and antithrombin: old lessons and new insights. Semin Thromb Hemost 2008;34:742-6.
- 142 Mizutani A, Okajima K, Uchiba M, et al. Antithrombin reduces ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats by inhibiting leukocyte activation through promotion of prostacyclin production. Blood 2003;101:3029-36.
- 143 Kim GY, Park SY, Yoon HJ, et al. [Investigation of hemostatic changes in patients with sepsis]. Korean J Lab Med 2007;27:157-61.
- 144 Salobir B, Sabovic M, Zupan IP, et al. Platelet (dys)function and plasma plasminogen levels in hemodialysis patients. Ther Apher Dial 2008;12:133-6.
- 145 Ferlito S, Di Salvo MM, Attanasio L, et al. Plasma prothrombotic markers after a short- and middle term treatment with iloprost in arteriopathic patients with critical limb ischemia. Panminerva Med 1994;36:76-9.
- 146 Birnbaum J, Spies CD, Klotz E, et al. lloprost for additional anticoagulation in continuous renal replacement therapy--a pilot study. Ren Fail 2007;29(3):271-7.

DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte Frau Professor Dr. Claudia Spies, Direktorin der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin am Campus Charité Mitte und Campus Virchow Klinikum, für die freundliche Überlassung des Themas und die uneingeschränkte Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit danken.

Mein unermesslicher Dank gilt Herrn PD Dr. Jürgen Birnbaum, meinem ersten wissenschaftlichen Mentor. Im Rahmen dieser Dissertation und vieler weiterer Projekte vermittelte er mir die Grundzüge wissenschaftlichen Arbeitens. Für seine intensive Förderung meines Promotionsvorhabens und seine unermüdliche Unterstützung beim Verfassen dieser Arbeit bin ich ihm zutiefst dankbar. Als Mensch wurde er mir darüber hinaus ein guter Freund und stetiges Vorbild.

Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Professor Dr. Christian Lehmann für die konstruktive Kritik und den fortwährenden, hervorragenden wissenschaftlichen Kontakt.

Ebenso danke ich Frau Tania Schink, die mir mit viel Geduld bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse beiseite stand.

Frau Barbara Egerer danke ich herzlich für ihre Hilfe bei der biochemischen Bestimmung der Laborparameter.

Vielen Dank auch an meine Doktorandenkollegen Frau Mona Grund und Herrn René Saalmann für die gute Zusammenarbeit. Ein ebenso großer Dank geht an das Team der Intensivstationen 101i und 103i für ihre freundliche Unterstützung.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir das Medizinstudium ermöglichten und mir mit ihrer liebevollen Erziehung viel Kraft gaben, sowie meiner Schwester Anne, für ihre andauernde Unterstützung.

Meinem lieben Freund Alexander Teubel, der mich stets motivierte und anspornte, danke ich aus tiefstem Herzen dafür, dass er immer an mich geglaubt hat.

LEBENSLAUF

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

PUBLIKATIONSLISTE

Originalarbeiten

- 1. Birnbaum J, Klotz E, Spies CD, Hein OV, Mallin K, Kawka R, Ziemer S, Lehmann C. The combinations C1 esterase inhibitor with coagulation factor XIII and N-acetylcysteine with tirilazad mesylate reduce the leukocyte adherence in an experimental endotoxemia in rats. Clin Hemorheol Microcirc. 2008;40(3):167-76.
- 2. Birnbaum J, Klotz E, Spies CD, Mueller J, Vargas Hein O, Feller J, Lehmann C. Impact of combined C1 esterase inhibitor/coagulation factor XIII or N-acetylcysteine/tirilazad mesylate administration on leucocyte adherence and cytokine release in experimental endotoxaemia. J Int Med Res. 2008 Jul-Aug;36(4):748-59.
- 3. Birnbaum J, Lehmann Ch, Klotz E, Hein OV, Blume A, Jubin F, Polze N, Luther D, Spies CD. Effects of N-acetylcysteine and tirilazad mesylate on intestinal functional capillary density, leukocyte adherence, mesenteric plasma extravasation and cytokine levels in experimental endotoxemia in rats. Clin Hemorheol Microcirc. 2008;39(1-4):99-111.
- 4. Birnbaum J, Spies CD, Klotz E, Hein OV, Morgera S, Schink T, Ziemer S, Grund MS, Saalmann R, Kox WJ, Lehmann C. Iloprost for additional anticoagulation in continuous renal replacement therapy--a pilot study. Ren Fail. 2007;29(3):271-7.
- 5. Birnbaum J, Klotz E, Spies CD, Lorenz B, Stuebs P, Hein OV, Grundling M, Pavlovic D, Usichenko T, Wendt M, Kox WJ, Lehmann C. Effects of dopexamine on the intestinal microvascular blood flow and leukocyte activation in a sepsis model in rats. Crit Care. 2006;10(4):R117.

Reviews

Birnbaum J, Klotz E, Bogusch G, Volk T. Electrical nerve stimulation for plexus and nerve blocks. Anaesthesist. 2007 Nov;56(11):1155-62.

Lehrbücher

Birnbaum J, Albrecht R. Ultraschallgestützte Regionalanästhesie. Springer, Berlin; Auflage: 1 (4. Oktober 2007)

ERKLÄRUNG AN EIDES STATT

"Ich, Edda Klotz, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: "Der Einfluss des stabilen Prostazyklinanalogons Iloprost auf immunologische Parameter im Rahmen der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration" selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe."

Berlin, den 07.06.2010

Edda Klotz