

Aus der Klinik für Innere Medizin mit Schwerpunkt Nephrologie,  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

## DISSERTATION

Einfluss der großporigen Hämofiltration auf die Phagozytoseaktivität der  
polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten sowie die monozytäre TNF-  
alpha Ausschüttung bei Patienten mit septischen Multiorganversagen

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –  
Universitätsmedizin Berlin

von

Jens Rocktäschel

aus Zeulenroda

Gutachter: 1. Priv. - Doz. Dr. med. S. Morgera

2. Prof. Dr. med. U. Göbel

3. Prof. Dr. med. F. Keller

Datum der Promotion: 19.09.2008

Für meinen Großvater

sowie

Meinen Eltern

<b>Inhaltsverzeichnis</b>		<b>Seite</b>
	Abkürzungsverzeichnis	6
1.	Einleitung	7
1.1.	Die Sepsis	7
1.1.1.	Definition der Sepsis	7
1.1.2.	Die Sepsisdiagnosekriterien	9
1.1.3.	Die Stadieneinteilung der Sepsis	10
1.1.4.	Die Inzidenz sowie die Mortalität der Sepsis	10
1.2.	Das Multiorganversagen	11
1.3.	Das Akute Nierenversagen im septischen Geschehen	12
1.4.	Die Therapie der Sepsis im Rahmen des Multiorganversagens	14
1.5.	Die Phagozytose sowie die Rolle des Tumornekrosefaktors alpha	15
1.6.	Der Tumornekrosefaktor alpha im septischen Geschehen	17
2.	Problemstellung	18
2.1.	Zielstellung der Arbeit	19
3.	Material und Methoden	20
3.1.	Die Patienten	20
3.1.1.	Einschlusskriterien der Patienten	20
3.1.2.	Ausschlusskriterien der Patienten	21
3.1.3.	Abbruchkriterien	21
3.1.4.	Kriterien des Multiorganversagens	22
3.2.	Therapie und Design der Studie	23
3.2.1.	Die Intensivtherapie der Sepsis	23
3.2.2.	Die Therapie mittels kontinuierlicher veno-venöser Hämofiltration	24
3.2.3.	Design der Studie	26

3.3.	Blut - und Ultrafiltratentnahme	26
3.3.1	Blut - und Ultrafiltratentnahme der septischen Patienten	26
3.3.2.	Blut - und Ultrafiltratentnahme gesunder Probanden	27
3.4.	Methoden	28
3.4.1.	Der Phagozytostest	28
3.4.1.1.	Testprinzip	28
3.4.1.2.	Material und Reagenzien	29
3.4.2.	Durchführung	31
3.4.2.1.	PMNL - Phagozytoseaktivität bei septischen Patienten	31
3.4.2.2.	Stimulierbarkeit gesunder PMNL Zellen durch Ultrafiltrat septischer Patienten	32
3.4.2.3.	Die Bestimmung des Tumornekrosefaktor alpha im Ultrafiltrat	33
3.4.2.4.	Die Messung der Aktivierung des Tumornekrosefaktor alpha durch Ultrafiltrat in mononukleären Zellen	34
3.5.	Statistische Auswertung	35
4.	Ergebnisse	36
4.1.	Klinische und demographische Daten der Patienten vor Beginn der Studie	36
4.2.	Art der Sepsis sowie Infektionserreger	39
4.2.1.	Art der Sepsis	39
4.2.2.	Infektionserreger	39
4.3.	Hämodynamik	40
4.3.1.	Blutdruck, Herzfrequenz und Herzminutenvolumen	40
4.3.2.	Systemisch vaskulärer Widerstand, zentrale Venendruck und Körperkerntemperatur	41
4.3.3.	Katecholamine	43
4.4.	Diurese, Retentionsparameter und die Dauer der CVVH	44
4.5.	Parameter der Organdysfunktion	46

4.6.	Der Verlauf der CVVH sowie die 28 Tage Mortalität	47
4.7.	Score Werte	47
4.8.	Procalcitonin	49
4.9.	Protein und Albumin	50
4.9.1.	Substitution von Humanalbumin	51
4.10.	Gerinnungsparameter	52
4.10.1.	Antithrombin III sowie gefrorenes Frischplasma	55
4.11.	Phagozytose	56
4.11.1.	Phagozytoseaktivität der Patienten	56
4.11.2.	Auswirkung septischen Ultrafiltrates auf Vollblut gesunder Probanden	58
4.11.3.	Dosis-Wirkungsabhängigkeit zwischen Phagozytoserate und zugeführter Ultrafiltrationsmenge	59
4.12.	Tumornekrosefaktor alpha im Ultrafiltrat	61
4.12.1.	Immunmodulatorischer Effekt des Ultrafiltrates auf die Monozyten	62
4.12.2.	Auswirkungen septischen Ultrafiltrates auf die TNF- $\alpha$ Ausschüttung in Monozyten	62
4.12.3.	Ausschüttung von TNF- $\alpha$ mit Ultrafiltrat nach 12 h CVVH Therapie mittels großporiger Hämofiltrationsmembran	63
4.12.4.	Dosisabhängige Stimulation der Ausschüttung von TNF- $\alpha$ mittels Ultrafiltrates	64
5.	Diskussion	65
6.	Literaturverzeichnis	76
	Danksagung	88
	Erklärung an Eides Statt	89
	Lebenslauf	90
	Publikationsliste	91

**Abkürzungsverzeichnis**

APACHE-II-Score	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II Score
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome; Akutes respiratorisches distress Syndrom
AT III	Antithrombin III
CARS	Compensatory Anti-inflammatory Reaction Syndrome
CVVH	Continuous Veno-Venous Hemofiltration; kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay; enzymgekoppelter Festphasen – Immunassay
FITC	Fluorescein
FiO <sub>2</sub>	inspiratorische Sauerstoff-Konzentration
IE	Internationale Einheit
IL	Interleukin
kDa	Kilodalton
MAD	Mittlere arterielle Druck
MOV	Multiples Organversagen
MODS	Multiple Organ Dysfunction Score
NA	Noradrenalin
p	Signifikanzniveau
PaCO <sub>2</sub>	arterielle Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PaO <sub>2</sub>	arterielle Sauerstoffpartialdruck
PBM	peripheren Blutmonozyten
PMNL	Polymorphkernige neutrophile Leukozyten
PBS	Phosphate Buffered Solution; Phosphat gepufferte Kochsalzlösung
PcT	Procalcitonin
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
RPMI	Zellkulturmedien
SIRS	Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment – Score
SVRI	Systemic Vascular Resistance Index; systemischer vaskulärer Widerstands Index
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor alpha
TPZ	Thromboplastinzeit
UF	Ultrafiltrat
vs	Versus; gegen
ZVD	Zentrale Venendruck

## 1. Einleitung

### 1.1. Die Sepsis

#### 1.1.1. Definition der Sepsis

***"Kriton auf Thasos bekam, während er herum lief, starken Schmerz im Fuß, der von der großen Zehe ausging. Am gleichen Tag legte er sich nieder, bekam Kälteschauer und Übelkeit, dann wurde ihm wieder etwas wärmer, zur Nacht delirierte er. Am zweiten Tag bekam er eine rötliche Schwellung mit Spannung am ganzen Fuß und am Knöchel, schwarze Bläschen, heftiges Fieber, Raserei; etwas ungemischter, galliger Stuhl ging ab. Am zweiten Tag nach Ausbruch der Krankheit starb er".***

Schrieb Hippokrates um 410 v. Chr. in seinem Ersten Buch der *Epidemien* zu einem Patienten, welcher an einer Blutvergiftung litt <sup>1</sup>.

Dieser Bericht spiegelte schon damals, vor zirka 2400 Jahren, das Wissen um ein Fieber, welches den ganzen Körper befällt und meist tödlich endete, wider. Die Erkenntnisse über dieses Fieber haben im Laufe der Jahrhunderte zugenommen, ein komplexes Wissen über dieses Krankheitsbild ist entstanden, welches wir nach dem heutigen Stande der Wissenschaft wie folgt definieren:

Sepsis ist die Gesamtheit der lebensbedrohlichen klinischen Krankheitserscheinungen und pathophysiologischen Veränderungen als Reaktion auf die Aktion pathogener Keime und ihrer Produkte, die aus einem Infektionsherd in den Blutstrom eindringen, die großen biologischen Kaskadensysteme und spezielle Zellsysteme aktivieren und die Bildung und Freisetzung humoraler und zellulärer Mediatoren auslösen <sup>2</sup>.

Dieser Definition liegen fünf Mechanismen zugrunde<sup>3</sup>:

- das Vorliegen einer Infektionsquelle (*septischer Fokus*)
- die Invasion pathogener Keime und toxischer Keimprodukte (*Invasion*)
- die Bildung und Aktivierung von Mediatoren (*Mediatorenexplosion*)
- die Zellfunktionsstörung und/oder die Auslösung der Apoptose als Grundlage der Organschädigung (*Zellschädigung*)
- die Multiorgandysfunktion/-insuffizienz und Multiorganversagen als Endpunkt des septischen Prozesses. (*Multiorgandysfunktion und Multiorganversagen*)

Eine Sepsis entwickelt sich, wenn eine an sich adäquate Abwehrreaktion auf eine Infektion verstärkt wird und dann unkontrolliert abläuft.

Klinisch ist die Entstehung oft heimtückisch:

Veränderungen wie Fieber, Verwirrtheit, vorübergehende Hypotension, verminderte Urinausscheidung sowie eine Thrombozytopenie können auftreten. Unbehandelt können die Patienten ein akutes Lungen- oder Nierenversagen, Gerinnungsstörungen sowie schwere und nichttherapierbare Hypotension entwickeln<sup>4</sup>. Daneben stehen noch eine Reihe anderer klinischer Symptome und Veränderungen, die im Verlauf einer Sepsis in Erscheinung treten können wie unter anderem metabolische Veränderungen mit Laktatanstieg und/oder Hyperglykämie, Somnolenz als Zeichen einer Enzephalopathie oder die Ausbildung einer Polyneuropathie.

Auf Bone et al.<sup>5</sup> geht eine derzeitig anerkannte Stadieneinteilung der Sepsis zurück, die primär zwischen einer pro-inflammatorischen Lokalreaktion (SIRS) bzw. einer anti-inflammatorischen Lokalreaktion (CARS) unterscheidet. Diese Lokalreaktion wiederum führt über eine Kaskade zu einer systemischen Ausschüttung von pro-inflammatorischen – (SIRS) bzw. anti-inflammatorischen (CARS) Mediatoren (Zytokine, löslicher Rezeptoren sowie Faktoren etc.). Die so entstandenen verschiedenen Formen der Sepsis stehen sich durch ein Vorherrschen der anti-inflammatorischen, ein Überwiegen der pro-inflammatorischen Komponenten oder einer ausgeglichenen Reaktion beider gegenüber.

### 1.1.2. Die Sepsisdiagnosekriterien

In der Diagnose der Sepsis wird zwischen obligaten und fakultativen Kriterien unterschieden (Abbildung 1) <sup>2</sup>.

<b>obligate Sepsiskriterien</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Infektionsherd</li> <li>• Chirurgischer oder invasiver Eingriff innerhalb der letzten 24 Stunden</li> <li>• 4 der nachfolgenden 5 Kriterien               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Fieber (rektal &gt;38 °C) oder Hypothermie (rektal &lt;36 °C)</li> <li>○ Tachypnoe (Atemfrequenz &gt; 20/min) oder Hypokapnie (<math>P_aCO_2 &lt; 32</math> mm Hg)</li> <li>○ Tachykardie (Herzfrequenz &gt;90/min)</li> <li>○ Leukozytose (&gt;12000/mm<sup>3</sup>) oder Leukopenie (&lt; 4 000/mm<sup>3</sup>)</li> <li>○ Nachweis von zumindest einem Indikator inadäquater Organperfusion oder gestörter Organfunktion nach Ausschluss anderer Ursachen: Veränderung des mentalen Status (Somnolenz, Verwirrtheit, Lethargie) oder Hypoxämie (<math>P_aO_2 &lt; 75</math> mmHg bei Atmung von Raumluft) oder Laktatanstieg (&gt;1,6 mmol/l ) oder Diureserückgang (&lt; 30 ml/h) oder Blutdruckabfall (&lt; 90 mmHg systolisch oder Abfall &gt; 40 mmHg vom Ausgangswert )</li> </ul> </li> </ul>
<b>fakultative Sepsiskriterien</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• positive Blutkulturen (Erregernachweis)</li> <li>• positiver Limulustest (Endotoxinnachweis)</li> <li>• Thrombopenie (&lt;100.000/ mm<sup>3</sup>)</li> <li>• Thrombozytenabfall (30 % des Ausgangswertes)</li> <li>• AT-III-Erniedrigung (&lt; 70% der Norm)</li> </ul>

**Abbildung 1:** Obligate und fakultative Kriterien der Sepsis

Zu den genannten klinischen Parametern zur Identifizierung einer bakteriellen Infektion kommen eine Reihe von weiteren Parametern. So ist mit dem Procalcitonin (PcT) ein sehr sensibler und spezifischer Marker der schweren Sepsis und des septischen Schocks im klinischen Einsatz <sup>6</sup>. Die Konzentration des Procalcitonin korreliert mit der Schwere der mikrobiellen Infektion und ist damit prädisponiert zur Verlaufsbeurteilung und Therapiekontrolle einer Sepsis beziehungsweise eines Multiplen Organversagens (MOV) <sup>7</sup>. Weitere klinische Sepsismarker sind das Interleukin 6 (IL-6) sowie mit Einschränkung das C - reaktives Protein (CrP) <sup>106</sup>.

### 1.1.3. Die Stadieneinteilung der Sepsis

Nach der amerikanischen Konsensuskonferenz Gruppe ACCP/SCCM<sup>68</sup> unterteilt man in Sepsis, schwere Sepsis und septischen Schock (Abbildung 2).

<b>Sepsis</b>	<p>systemische Reaktion auf eine Infektion, charakterisiert durch zwei oder mehr der folgenden Symptome:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Körperkerntemperatur &gt; 38°C oder &lt; 36°C</li> <li>b. Herzfrequenz &gt; 90/min</li> <li>c. Atemfrequenz &gt; 20/min oder PaCO<sub>2</sub> &lt; 32 mm Hg (Spontanatmung)</li> <li>d. Leukozyten &gt; 12 000/mm<sup>3</sup> oder &lt; 4 000/mm<sup>3</sup>, oder &gt; 10% unreife (stabförmige) Formen</li> </ul>
<b>schwere Sepsis</b>	<p>Sepsis assoziiert mit Organdysfunktion, Minderperfusion oder Hypotonie; Minderdurchblutung und Durchblutungsstörungen können beinhalten eine Laktatazidose, Oligurie oder eine akute Änderung der Bewusstseinslage</p>
<b>septischer Schock</b>	<p><i>Septischer Schock;</i> Sepsis-induzierter Schock mit Hypotonie trotz adäquater Volumensubstitution, einhergehend mit Durchblutungsstörungen</p> <p><i>refraktärer septischer Schock:</i> septischer Schock ohne rasches Ansprechen auf intravenöse Volumengabe (z.B. 500 ml Plasmaexpander in 30 min) und Vasopressoren (z.B. Dopamin &gt; 10 µg/kgKG/min)</p>

**Abbildung 2:** Stadieneinteilung der Sepsis

### 1.1.4. Die Inzidenz sowie die Mortalität der Sepsis

Die Inzidenz der Sepsis wird in Nordamerika mit 0,3 % auf die Gesamtpopulation und mit 2,26 % auf alle entlassenen Patienten aus dem Krankenhaus angegeben<sup>8,107</sup>. In unseren Breiten geht man von einer Inzidenz von zirka 0,5 % aus<sup>9</sup>. Das Auftreten einer Sepsis bei Patienten auf einer Intensivstation liegt aufgrund der erhöhten Infektionsgefahr kritisch kranker Patienten, mit zirka 10-11 %, höher<sup>8,10</sup>. Die Mortalität bei Patienten mit Sepsis liegt bei zirka 30-40 %, mit steigender Tendenz bei älteren Patienten<sup>11</sup>. Bei Patienten im septischen Schock liegt die Mortalität bei bis zu 80 %<sup>10,11,12</sup>. In einer Meta - Analyse konnte eine leichte Reduktion der Mortalität bei Patienten mit septischen Schock über die letzten 40 Jahre gezeigt werden, bei zugleich veränderter Prävalenz der Erreger<sup>13</sup>.

## 1.2. Das Multiorganversagen

Das gleichzeitige oder in rascher Abfolge auftretende Versagen von zwei oder mehr vitalen Organsystemen bezeichnet man als Multiorganversagen<sup>14</sup>. Diesem Versagen geht in aller Regel eine Organinsuffizienz voraus. Sind mehrere Organe von dieser Insuffizienz betroffen, spricht man von einem Multiorgandysfunktionssyndrom. Eine Anwendung des Begriffes Multiorgandysfunktionssyndrom ist in der klinischen Praxis oft schwierig, da Organinsuffizienz und Organversagen verschiedener Organsysteme gleichzeitig vorliegen können. Die häufigste Ursache für die Entwicklung eines Multiorgandysfunktionssyndrom bei kritisch kranken Patienten ist die bakterielle Sepsis<sup>15</sup>. Das Multiorgandysfunktionssyndrom zeigt sich bei zirka 30 % der Patienten mit Sepsis, kann aber auch bei Traumapatienten, Patienten mit akuter Pankreatitis sowie anderen Krankheiten wie systemischen Vaskulitiden auftreten<sup>16</sup>. Die am häufigsten betroffenen Organe sind die Lungen mit einem akutem Lungenversagen, das Herz-Kreislaufsystem mit einer kardiozirkulatorischen Insuffizienz sowie die Nieren mit einem akutem Nierenversagen. Schließlich kann die bei einer Sepsis in der Anfangsphase auftretende Organinsuffizienz in ein manifestes Organversagen übergehen. Die Pathogenese der Organdysfunktion im Rahmen einer Sepsis ist multifaktoriell und nur unvollständig verstanden. Die Gewebhypoperfusion sowie Hypoxie spielen hierbei eine dominante Rolle<sup>17</sup>. Ferner scheinen Zytokine in diesem Krankheitsprozess einen wesentlichen Anteil zu haben. So erhöhen TNF- $\alpha$  und andere Zytokine die Ausschüttung von Stickstoffmonoxid (NO) im Verlauf einer Sepsis und führen zu einer erhöhten vaskulären Instabilität sowie wahrscheinlich zu einer direkten myokardialen Depression und somit zu einer Organinsuffizienz<sup>17</sup>.

Die Prognose des Multiorganversagens ist von verschiedenen Faktoren wie dem Alter des Patienten, dem Schweregrad der Erkrankung sowie der Grundkrankheit abhängig. Ein erhöhtes Alter ist mit einer eindeutig erhöhten Mortalität bei intensivpflichtigen Patienten belegt<sup>18</sup>. Ferner steigt die Mortalität bei Versagen von drei Organsystemen gleichzeitig auf über 90 % an<sup>19</sup>. Die Faktoren, welche das Entstehen eines Multiorganversagens fördern und unterhalten, sind multifaktoriell und gestalten eine Therapie oft schwierig. Trotz deutlich verbesserten Therapiemöglichkeiten über die letzten Jahre, bleibt die Mortalität des Multiorganversagens bei einer Sepsis hoch.

### 1.3. Das akute Nierenversagen im septischen Geschehen

Das akute Nierenversagen ist eine häufige und ernste Komplikation bei kritisch kranken Patienten. Viele septische Patienten entwickeln im Rahmen eines Multiorganversagens auch ein akutes Nierenversagen mit der Notwendigkeit der Nierenersatztherapie. Zu den Risikofaktoren für die Entwicklung eines akuten Nierenversagens zählen ein erhöhtes Alter, eine vorhandene Infektion, eine chronische Krankheit oder der Ausfall eines anderen Organs<sup>20,21,22,23</sup>.

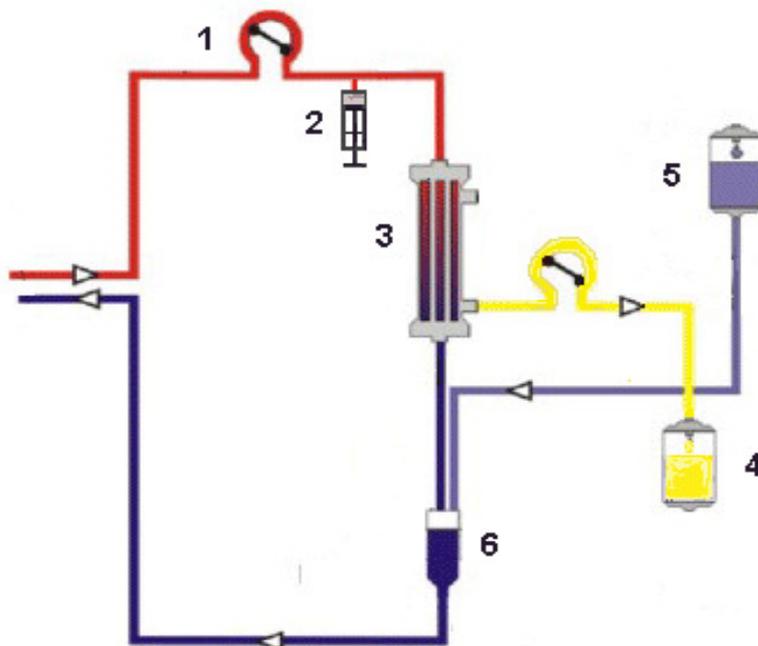
Eine Sepsis, speziell der septische Schock, ist eine Hauptursache für das Auftreten eines akuten Nierenversagens<sup>24</sup>. Es kann als ein oligurisches (Urinausscheidung < 400 ml/24h) oder ein nonoligurisches (Urinausscheidung > 400 ml/24h) Nierenversagen in Erscheinung treten, wobei Patienten mit einem nonoligurischem Nierenversagen eine bessere Prognose haben<sup>23,25,26</sup>. Die Prävalenz des akuten Nierenversagens in der Sepsis schwankt zwischen 9 % und 40 %<sup>27</sup>. Die Mortalität des akuten Nierenversagens wird mit 35 % - 38 % ohne ein weiteres Organversagen angegeben<sup>28,29,30</sup>. Bei einem Multiorganversagen steigt die Mortalität sogar auf bis zu 72 % - 79 % an<sup>28,29,30</sup>.

Ätiologisch spielt die systemische Hypotension, welche zu einer Minderperfusion der Nieren führt, eine aber nicht entscheidende Rolle im septischen akuten Nierenversagen<sup>31</sup>. Intrarenale Vasokonstriktion, ausgelöst durch ein Ungleichgewicht an vasodilatatorischen sowie vasokonstriktorisches Substanzen, führen zu einer Abnahme des renalen Blutflusses<sup>32</sup>. Diese Veränderungen scheinen die äußere Medulla vorherrschend zu beeinflussen.

Um die Pathophysiologie des akuten Nierenversagens während einer Sepsis zu verstehen, sind in den letzten Jahren eine Reihe von experimentellen Arbeiten durchgeführt worden. So zeigen glomeruläre Mesangiumzellen in den Nieren von Ratten nach Stimulation mit Endotoxin eine erhöhte lokale Ausschüttung von TNF- $\alpha$ <sup>33</sup>. Folgt dieser TNF- $\alpha$  Ausschüttung eine direkte Stimulation mit Lipopolysacchariden kommt es zur Apoptose der glomerulären Endothelzellen<sup>34</sup>. Überdies hinaus übt eine passive Immunisierung für TNF einen schützenden Einfluss auf die glomerulären Endothelzellen nach intravenöser Applikation von Endotoxin in Rhesusaffen aus und konnte eine letale Sepsis verhindern<sup>35</sup>. Ferner konnte Cunningham et al. TNF als einen Schlüsselmediator im akuten Nierenversagen während Endotoxämie durch seinen TNF

Rezeptor-1 an den Nieren von knock - out Mäusen nachweisen <sup>36</sup>. Diese Arbeiten verdeutlichen die Bedeutung der Mediatoren nicht nur im Verlauf einer Sepsis, vielmehr den maßgeblichen Einfluss von TNF bei der Entstehung des akuten Nierenversagens im septischen Geschehen.

Die Therapie des akuten Nierenversagens sollte die zugrundeliegenden Ursachen beheben sowie ein gestörtes Gleichgewicht des Volumen- und Elektrolythaushaltes der Patienten beseitigen. Im akuten Nierenversagen sind Nierenersatzverfahren, im speziellen die kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration, (CVVH) (Abbildung 3) das Mittel der Wahl zur Behebung eines Volumenüberschusses, einer Hyperkämie, einer metabolischen Azidose sowie Symptomen und Zeichen einer schweren Urämie <sup>37</sup>. Mit der CVVH ist eine schonende und kreislaufstabile Möglichkeit gegeben, harnpflichtige Substanzen zu entfernen, die Volumensubstitution zu kontrollieren, Einfluss auf den Säure - Basen - Elektrolyt - Haushalt sowie die Temperatur der Patienten zu nehmen. Des weiteren ist es möglich, die parenterale Ernährung mit einer ausgeglichenen Harnstoffbilanz durchzuführen sowie die Zufuhr von Medikamenten über die CVVH zu steuern ohne zusätzlichen Volumeneffekt.



**Abbildung 3.** Prinzip der CVVH: Das Blut wird über einen venösen doppelläufigen Katheter entnommen und mittels Rollerpumpen (1) durch einen Hämofilter (3) geleitet. Vor Einfluss des Blutes in den Filter wird Heparin (2) zugeführt. Im Hämofilter wird das Blut gefiltert, es entsteht das „Filtrat“(4). Das gefilterte Blut wird zusammen mit einer Substitutionsflüssigkeit (5) über einen zweiten Schenkel des Katheters (6) dem Körper zurückgeführt.

#### 1.4. Die Therapie der Sepsis im Rahmen des Multiorganversagens

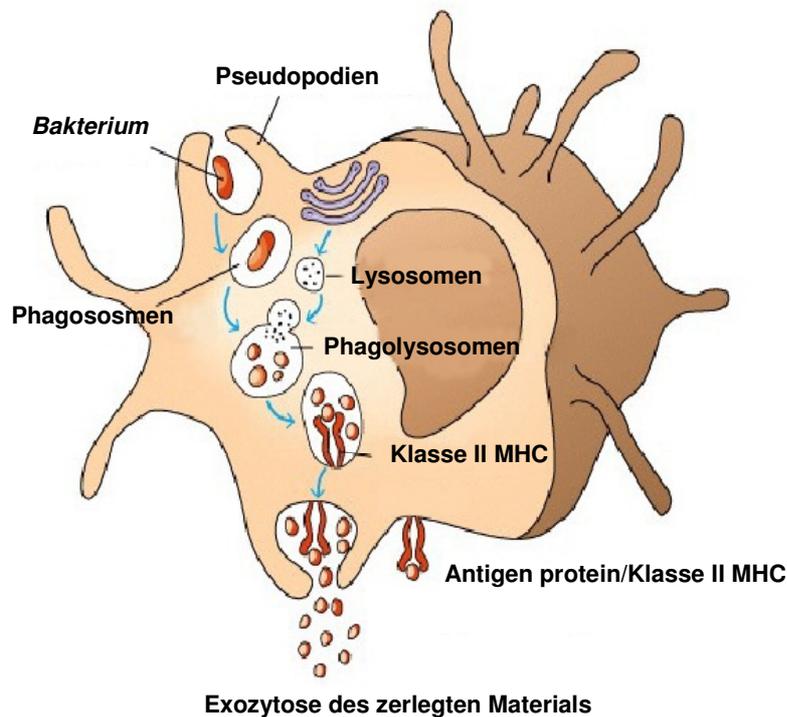
Die Therapie der Sepsis besteht aus einer frühzeitig eingeleiteten<sup>38</sup> sowie einer kausal ausgerichteten Therapie<sup>39</sup>. Zu den prompt eingeleiteten Therapien gehören eine zielgerichtete Kreislauftherapie mit Volumenersatz<sup>40</sup> beziehungsweise im septischen Schock der frühzeitige Einsatz von Katecholaminen zur Aufrechterhaltung eines adäquaten Perfusionsdruckes sowie eine adäquate Antibiotikatherapie<sup>41,110-112</sup>. Im Falle eines Organversagens ist der frühzeitige supportive Ersatz der einzelnen Organsysteme erforderlich<sup>42</sup>. Die kausal ausgerichtete Therapie beinhaltet unter anderem eine chirurgische Herdsanierung sowie eine supportive Therapie<sup>39</sup>. Supportive Maßnahmen bestehen aus einer intensivierten Insulintherapie<sup>43</sup> sowie im speziellen mit dem Einsatz von einzelnen Präparaten dem aktivierten Protein C<sup>44</sup> mit nachgewiesenem positiven Effekt im schweren septischen Verlauf. Eine niedrig dosierte Hydrocortisontherapie ist in der Therapie der Sepsis ebenfalls mit positiven Effekten belegt<sup>45</sup> und wird empfohlen.

Weitere therapeutische Maßnahmen bestehen aus einer lungenprotektiven Beatmung<sup>46</sup> mit Vermeidung von Beatmungsspitzenrücken über 30 cm H<sub>2</sub>O sowie niedrigen Atemzugvolumina (6 ml/kg Standardkörpergewicht) bei beatmeten Patienten. Spurenelemente wie Selen stehen derzeit in der wissenschaftlichen Diskussion in der Sepsistherapie und scheinen einen Überlebensvorteil für Patienten herbeizuführen<sup>47</sup>.

### 1.5. Die Phagozytose sowie die Rolle des Tumornekrosefaktors alpha

Ein wichtiger Mechanismus zur Abwehr pathogener Keime (u.a. Bakterien) in unserem Organismus ist die Phagozytose. Dieser Abwehrmechanismus wird durch Makrophagen und Monozyten sowie neutrophile Granulozyten (Polymorphkernige neutrophile Leukozyten = PMNL) über mehrere Schritte realisiert.

Die Phagozytose von Bakterien wird über zwei wesentliche Systeme vermittelt. Zum einen, die Adhäsion über die spezifischen membranständigen Fc - Immunglobulin - fragmente (IgG) mit Hilfe von Antikörpern und zum anderen wird sie über die unspezifische Komplement - Reaktion auf ihrer Oberfläche C3b des Körpers vermittelt. Die Aktivierung der Makrophagen und Monozyten erfolgt durch die Bindung von Bakterienendotoxin an den Endotoxinrezeptor. Durch die Adsorption sowie die Ingestion wird das Bakterium in ein Phagosom eingeschlossen (Abbildung 4). Die anschließende Fusion von Lysosomen mit dem Phagosom bringt hydrolytische Verdauungsenzyme sowie Myeloperoxidase in den Phagolysosomen ein. Der eingeleitete bakterientötende Mechanismus (Verdauung) endet mit der Zerstörung des Bakteriums und der Exozytose des zerstörten Bakteriummaterials. Über ein Histokompatibilitätsantigen Klasse II (MHC= major histocompatibility complex) wird das Antigen des Bakteriums anderen Zellen (T-Zellen) präsentiert (Abbildung 4). Weiterhin produzieren die Makrophagen und Monozyten selbst proinflammatorische Zytokine (unter anderem TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1), Komplementkomponenten sowie proteolytische Enzyme, welche die Entzündungsreaktion im Körper unterhalten. Aber auch entzündungshemmende Stoffe wie Transforming-Growth-Faktor- $\beta$  werden von Makrophagen in die Blutbahn sezerniert. Diese Vielzahl von Stoffen beeinflussen wiederum eine Menge anderer inflammatorischer Prozesse wie die Endothelaktivierung, die Granulozytenaktivierung sowie die Produktion von Akut-Phase-Proteinen. Somit kommt den Makrophagen und Monozyten eine wesentliche Rolle in der Immunreaktion des menschliche Körpers zu.



**Abbildung 4:** Zeitliche Darstellung der Phagozytose eines Bakteriums  
 (nach Kuby, Immunology, 4th ed, von Richard A. Goldsby,  
 Barbara A. Osborne, Thomas J. Kindt ISBN: 0716733315)

Eine eingeschränkte Funktion der Makrophagen und Monozyten sowie den PMNL kann zu einer Infektion mit Bakterien oder Pilzen führen<sup>48</sup>. Die schwerste Form einer solchen Infektion ist die Sepsis bzw. der septische Schock, welche nicht selten letal enden. Eine Reihe von Tier-, als auch Patienten-Studien belegen, dass die Aktivität der peripheren PMNL, im speziellen die Phagozytose, eine zentrale Rolle im Prozess der Inflammation darstellt<sup>49,50</sup>. So steigt die Phagozytose während einer bakteriellen Infektion an, um nach überstandener Infektion zur Ausgangslage zurückzukehren<sup>49,50</sup>. Dieser Regulationsmechanismus der gesteigerten Phagozytose scheint über Zytokine, im einzelnen TNF- $\alpha$  und Interleukin-1, gesteuert zu werden<sup>51</sup>.

## 1.6. Der Tumornekrosefaktor alpha im septischen Geschehen

Wenn sich aus einer lokalen eine systemische Infektion entwickelt und Zeichen einer Sepsis auftreten, läuft eine Reaktionskaskade im menschlichen Organismus ab. Es kommt zur vermehrten Freisetzung von chemotaktischen Substanzen aus neutrophilen Granulozyten sowie Makrophagen, induziert durch bakterielles Endotoxin bzw. Lipopolysaccharid<sup>52</sup>. Diese Substanzen, im speziellen Zytokine, welche normalerweise auf den Ort der lokalen Entzündung beschränkt sind, werden in den Kreislauf ausgeschwemmt und führen zu den Symptomen des septischen Schockes. Eines dieser Zytokine, TNF- $\alpha$ , wird als ein zentraler Mediator während der Immunregulation und den pathophysiologischen Veränderungen im Sepsissyndrom angesehen<sup>53</sup>. Die biologische Form des aktiven TNF- $\alpha$  besteht aus einem Trimer, welcher aus drei Molekülen TNF- $\alpha$  (à 17kDa) zusammengesetzt ist<sup>54</sup>. Andere Zytokine, wie IL-1, arbeiten synergistisch mit TNF- $\alpha$  und stimulieren die Ausschüttung anderer Mediatoren unter anderem IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, und Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), welche ebenfalls an der Entstehung und Unterhaltung einer Sepsis und des septischen Schockes beteiligt sind.

Die Plasmakonzentration von TNF- $\alpha$  ist sowohl bei gram - negativen als auch bei gram - positiven Infektionen erhöht<sup>56,57</sup>. Eine Überproduktion von TNF- $\alpha$  und IL-6 ist mit einer zunehmenden Schwere der Erkrankung sowie einer erhöhten Sterblichkeit bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischen Schock in Zusammenhang gebracht worden<sup>55,58,59</sup>. Des weiteren konnte in tierexperimentellen Studien an Mäusen mit Multiorgandysfunktionssyndrom ein verbessertes Überleben mit TNF- $\alpha$  – Antikörpern gezeigt werden<sup>60</sup>. Jedoch blieben klinische Studien bei septischen Patienten mit diesem Therapieansatz bisher ohne Erfolg<sup>61,62</sup>.

## 2. Problemstellung

Die Sepsis ist trotz enormer Fortschritte in der intensivmedizinischen Behandlung schwerst kranker Patienten nach wie vor mit einer hohen Sterblichkeit verbunden, vor allem im Zusammenhang mit dem Auftreten eines Multiorganversagens<sup>10,11,12</sup>. Eine Vielzahl von Patienten mit Sepsis und Multiorganversagen entwickeln ein akutes Nierenversagen, welches den Einsatz einer Nierenersatztherapie erfordert. Einen kausalen Zusammenhang bei der Entwicklung einer Sepsis und dem akutem Nierenversagen scheinen Mediatoren, insbesondere Zytokine (unter anderem TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1) zu spielen<sup>36</sup>. Die hämodynamischen sowie immunologischen Veränderungen im Körper während einer Sepsis, mitverursacht durch die zirkulierenden Mediatoren, sind bis heute nur unvollständig verstanden. Die spezifische als auch unspezifische Immunabwehr, vor allem durch Granulozyten sowie Monozyten gesteuert, scheinen einen Anteil an den Abwehrmechanismen in der Sepsis zu haben. Eine erhöhte Phagozytoseaktivität von neutrophilen Granulozyten sowie Makrophagen in der Sepsis unterliegen unter anderem zytokin-gesteuerten Mechanismen<sup>49,50,51</sup>. Könnte es gelingen, mit einem Verfahren Einfluss auf dieses System der löslichen Mediatoren zu nehmen, ist damit eventuell eine Möglichkeit gegeben den Sepsisverlauf positiv zu verändern. Eine Variante diese Mediatoren zu beeinflussen, könnte der Einsatz der Nierenersatztherapie mit Hilfe einer neuen Hämofiltrationsmembran sein.

Mit Hilfe der Nierenersatztherapie konnte eine Verbesserung der kardiovaskulären Hämodynamik bei septischen Patienten erreicht werden<sup>63,64,65</sup>. Eine Elimination von löslichen Mediatoren im Blut von Patienten ist mit den derzeitigen gebräuchlichen Verfahren nicht möglich. Eine Veränderung des Blutspiegels an Zytokinen konnte bisher nicht gezeigt werden<sup>66</sup>. Dies ist auf die Molekulargröße der Zytokine zurückzuführen, welche deutlich über der Durchlässigkeit der derzeit angewendeten Hämofiltrationsmembranen liegt. So besteht TNF- $\alpha$  aus einem Trimer zu je 17 kDa Größe und die derzeit gebräuchlichen Membranen besitzen einen Cut-off point von zirka 40 kDa Durchmesser, so dass eine Elimination nicht möglich ist.

Tierexperimentelle Studien konnten mit Hilfe eines größeren Porendurchmessers der Hämofiltrationsmembran (>50 kDa) unter der CVVH Therapie ein verlängertes Überleben an septischen Schweinen nachweisen<sup>67</sup>. Ob dieses Modell auch auf den Menschen übertragbar ist und ob dieser Effekt zirkulierenden Mediatoren, welche durch das Verfahren eliminiert worden sind, erreicht worden ist, muss durch den klinischen Einsatz eruiert werden.

## 2.1. Zielstellung der Arbeit

Im Rahmen der Therapie einer Sepsis bei Patienten mit Multiorganversagen, vergesellschaftet mit einem akutem Nierenversagen, steht die Behandlung mit der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration. Durch die Einführung einer großporigen Hämofiltrationsmembran mit einem Porendurchmesser von zirka 60 kDa, wird diese im Vergleich zu einer derzeit gebräuchlichen CVVH - Membran (Porendurchmesser von zirka 30 kDa) klinisch untersucht. Im Vordergrund steht die sichere Anwendung der neuen CVVH Therapie in einer Pilotstudie.

Die vorliegende Arbeit soll unter anderem Antworten auf folgende Fragen finden:

1. Hat die neue Therapie einen immunmodulatorischen Effekt mit Einfluss auf die Phagozytoseaktivität von neutrophilen Granulozyten sowie Makrophagen im Blut der Patienten ?
2. Ist eine sichere Anwendung der neuen großporigen Hämofiltrationsmembran an septischen Patienten möglich ?
3. Lässt sich eine Mediatorenelimination, im speziellen eine Elimination von TNF- $\alpha$  mit Hilfe der neuen Hämofiltrationsmembran nachweisen ?
4. Werden immunmodulatorische Faktoren über den Hämofilter eliminiert und haben diese einen biologischen Effekt ?

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1. Die Patienten**

Die zuständige Ethikkommission bestätigte die Studie für Untersuchungen an Patienten der Universitätsklinik Charité der Humboldt-Universität zu Berlin.

Für die vorliegende prospektive klinische Studie wurden 32 Patienten auf den Intensivstationen der Universitätsklinik Charité Mitte mit Sepsis und akutem Nierenversagen im Rahmen eines Multiorganversagen im Zeitraum vom 01.11.1998 bis zum 31.05.2001 rekrutiert.

Die Sepsisdiagnose wurde bei nachgewiesenem oder klinisch vermutetem Infektionsfokus und Zuhilfenahme der Kriterien der ACCP/SCCM Consensus Conference<sup>68</sup> gestellt. Ein multiples Organversagen lag bei einem Ausfall von mindestens zwei Organsystemen vor<sup>69</sup>, einschließlich eines akuten Nierenversagens. Die rekrutierten Patienten wurden in zwei Gruppen eingeteilt, die sich nur hinsichtlich ihrer Therapie, des akuten Nierenversagens, der CVVH - Membran unterschieden:

Gruppe I: Patienten mit der Standard Hämofiltrationsmembran Polyflux-11 (Standardtherapie),

Gruppe II: Patienten mit der großporigen Hämofiltrationsmembran P1-SH.

##### **3.1.1. Einschlusskriterien der Patienten**

Die Diagnose Sepsis wurde bei allen Patienten nach der ACCP/SCCM Konsens Konferenz<sup>68</sup> gestellt.

Zwei oder mehr der folgenden Symptome sind durch eine mikrobielle Infektion (Anhalt für einen Infektionsherd oder nachgewiesene Bakteriämie) bedingt :

1. Körpertemperatur: > 38 °C oder < 36 °C
2. Herzfrequenz: > 90/min
3. Tachypnoe (Atemfrequenz > 20/min bei Spontanatmung )  
oder Hyperventilation PaCO<sub>2</sub> <32 mm Hg
4. Leukozyten: > 12000 /mm<sup>3</sup> oder < 4000 /mm<sup>3</sup>, oder > 10 % unreife Formen.

Es wurden nur Patienten im Alter von über 18 und unter 80 Jahren in die Studie eingeschlossen. Zur Erfassung des Erkrankungsstatus diente der APACHE-II-Score<sup>71</sup>, die Glasgow Koma Skala wurde bei allen anlagosedierten Patienten nicht berücksichtigt. Zur Beurteilung des Krankheitsverlaufes der Patienten über den Zeitraum der Studie wurde der Multiple Organ Dysfunktion Score (MODS) sowie der „Sequential Organ Failure Assessment“ – Score (SOFA - Score) als Verlaufsparemeter berechnet<sup>72,73</sup>.

### **3.1.2. Ausschlusskriterien der Patienten**

Das Vorliegen folgender Kriterien auf den Intensivstationen galt als Ausschlusskriterium:

- keine Einwilligungserklärung des Patienten oder des eingesetzten Betreuers
- Teilnahme an einer anderen Studie
- Patienten unter 18 und über 80 Jahren
- vorbestehende terminale Niereninsuffizienz
- schwere Hypoproteinämie (Plasma - Albumin < 1,8g/dl)
- Immunsuppression nach Transplantation
- Schwangerschaft.

### **3.1.3. Abbruchkriterien**

Bei Vorliegen folgender Kriterien wurde die Studie bei den Patienten abgebrochen:

- Auftreten schwerer unerwünschter Nebenwirkungen, die auf das Studiendesign zurückzuführen sind
- Darbietung von Begleiterkrankungen, die eine Weiterbehandlung mit einem Nierenersatzverfahren verhindern bzw. den Tod des Patienten
- Erholung der Nierenfunktion, über 24 Stunden keine Notwendigkeit der Nierenersatztherapie mit einer ausgeglichen Bilanz bei akzeptablen Retentionswerten.

### 3.1.4. Kriterien des Multiorganversagens

Das akute Nierenversagen im Rahmen des Multiorganversagens wurde wie folgt definiert <sup>70</sup>:

- eine positive Flüssigkeitsbilanz infolge einer Oligo - Anurie (<0,5 ml/kg/h) trotz Aufrechterhaltung eines ausreichenden arteriellen Mitteldruckes, Auffüllung des Volumenstatus und fehlende Wirksamkeit von Diuretika
- Harnstoffkonzentration im Blut > 150-200 mg/dl
- Harnstoffwertverdopplung des Ausgangswertes oder täglicher Kreatinin-Anstieg > 0,5 - 2mg/dl
- Kaliumkonzentration im Blut > 6 mmol/l aufgrund der Oligo - Anurie.

Weitere diagnostische Kriterien des Organversagens waren:

Akutes Lungenversagen	Hypoxämie (PaO <sub>2</sub> unter Altersnorm bei Atmung von Raumluft), pathologischer radiologischer Befund im Thoraxbild, Beatmungstherapie erforderlich
Herzversagen, Kreislaufschock	Hypotension trotz adäquater Volumengabe mit einem persistierenden systolischen Blutdruck < 90 mmHg oder Abfall von 40 mmHg vom Ausgangswert bei Ausschluss anderer Ursachen => Katecholamine zur Stabilisierung erforderlich
Akutes Leberversagen	Anstieg des Serumbilirubin > 2 mg/dl oder Erhöhung der Transaminasen > zweifache der Norm
Gastrointestinale Stressblutung	Endoskopisch diagnostizierte Erosionen oder Ulzera bzw. Bluttransfusion erforderlich

Disseminierte intravasale Gerinnung	Abfall der Thrombozytenzahl (Thrombozytopenie oder rascher Abfall um $150.000/\text{mm}^3$ ), Abfall der Fibrinogenkonzentration (Hypofibrinogenämie oder rascher Abfall um $> 150 \text{ mg/dl}$ ), mindestens zwei pathologische plasmatische Gerinnungstests, (Quick-Wert, partielle Thromboplastinzeit, Thrombinzeit, Faktoren II, V, X).
-------------------------------------	---

## **3.2. Therapie und Design der Studie**

### **3.2.1. Die Intensivtherapie der Sepsis**

Die Sepsistherapie basierte auf den Richtlinien der Gesellschaft für Intensivmedizin (SCCM) <sup>74</sup>. Sie beinhaltet eine kalkulierte bzw. gezielte Antibiotikatherapie, eine mögliche Sanierung des Sepsisherdes, eine Beatmungstherapie, Volumen- und ggf. Katecholamintherapie, eine supportive Therapie sowie der frühzeitige Einsatz einer Nierenersatztherapie im Falle eines Nierenversagens im speziellen der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration (CVVH).

Bei allen Patienten wurde ein invasives hämodynamisches Monitoring mittels zentralen Venenkatheters und einer arteriellen Blutdruckmessung durchgeführt. Alle relevanten Parameter wie der Blutdruck, die Herzfrequenz, das Herzminutenvolumen, der systemisch vaskuläre Widerstandsindex, der zentrale Venendruck, die Körpertemperatur sowie der Verbrauch von Katecholaminen wurden dokumentiert. Die Parameter der Organdysfunktion, der Sauerstoffpartialdruck im Blut sowie die benötigten Sauerstoffkonzentrationen, ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ), für die Leber das Serumbilirubin, für das hämatologische System die Thrombozytenanzahl und für die Nieren die Serumkonzentrationen des Kreatinins sowie des Harnstoffes, sind ebenfalls festgehalten worden. Weiterhin erfolgte die Erfassung aller demographischen Daten, die Art der Sepsis sowie die Infektionsparameter der Patienten.

### 3.2.2. Die Therapie mittels kontinuierlicher veno-venöser Hämofiltration

Alle Patienten wurden mit einem kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltrationssystem (BM 25 der Firma Baxter, München, Deutschland) (Prinzip Abbildung 3) behandelt. Der Gefäßzugang wurde über einen Doppellumenkatheter (Sheldon Katheter) in Form eines zentralen Venenkatheters (Vena Jugularis interna oder Vena femoralis) realisiert. Der Blutfluss wurde mit 200 ml/min konstant gehalten. Das Hämofiltrationsvolumen betrug 1,0 Liter pro Stunde, zuzüglich des Filtrationsvolumens. Als Substitutionsflüssigkeit wurde eine bikarbonatgepufferte Substitutlösung (Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Germany) im Postdilutionsmodus angewandt. Zur Antikoagulation des extrakorporalen Kreislaufes wurde low dose pre-filter Heparin (500 IU/h) eingesetzt. Im Falle einer Thrombosierung des Hämofilters oder des Systems ist der gesamte extrakorporale Kreislauf erneuert worden. In der Gruppe I (Standardtherapie) kam ein Polyamid-Hämofilter (PF11 S) mit einem Cut-Off point von zirka 30 kDa (Polyflux 11 S, dampfsterilisiert, Firma Gambro, Hechingen, Deutschland ) zum Einsatz.

Ein neu entwickelter Polyamid-Hämofilter mit einem Cut-Off point von zirka 60 kDa (P1-SH, dampfsterilisiert, Firma Gambro, Hechingen, Deutschland) wurde in der Gruppe II verwendet (siehe Abbildung 5). Diese großporige Hämofiltrationsmembran ist für den Einsatz bei Patienten im akuten Nierenversagen entwickelt worden (weitere technische Daten siehe Tabelle 1).

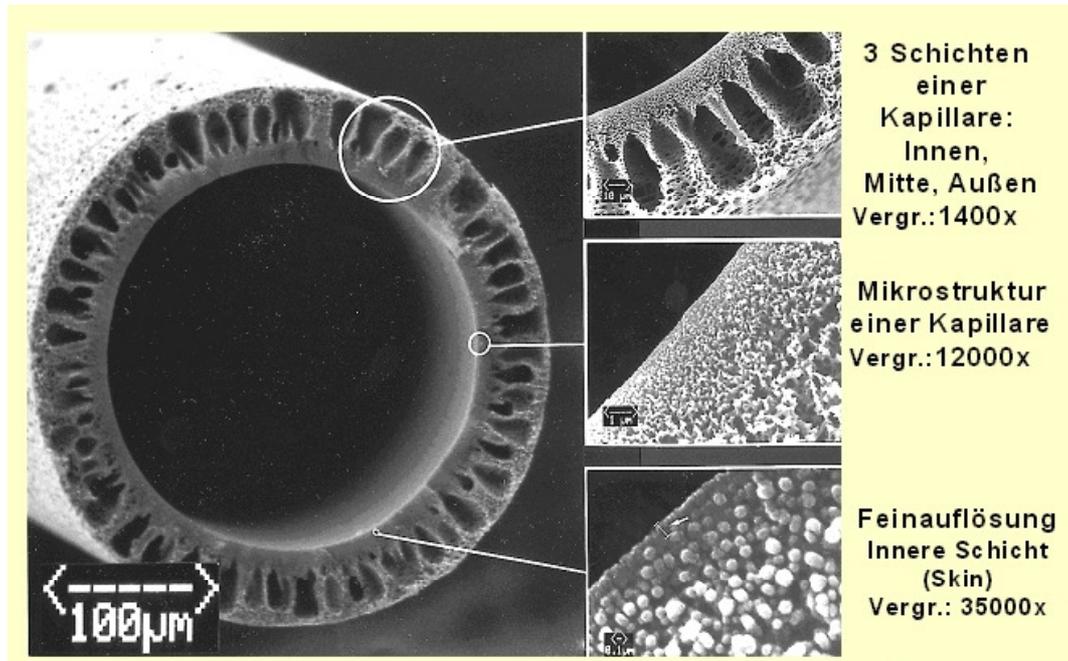


**Abbildung 5:** Neuer Hämofilter P1-SH

Hämofiltrationsmembran	P1-SH	PF11 S
Effektive Membranoberfläche (m <sup>2</sup> )	0,6	1,1
Kapillarenabmessungen :		
Wandstärke (µm)	50	50
Innendurchmesser (µm)	215	215
Porendurchmesser zirka (nm)	10	6
Ultrafiltrationskoeffizient (ml/h*mmHg)	47	52
in vitro cut off zirka (kD)	100	35

**Tabelle 1:** P1-SH sowie technische Daten der beiden verwendeten Hämofiltrationsmembranen

Der Hämofilter P1-SH zeichnet sich durch einen größeren Porendurchmesser, der höhermolekulare Substanzen bis zu einem Gewicht von zirka 60 kDa filtrierte, aus (Aufbau siehe Abbildung 6).

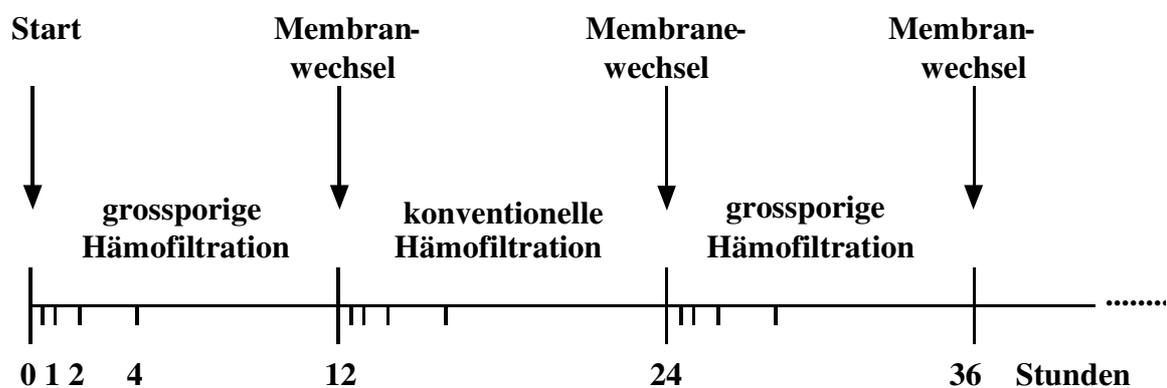


**Abbildung 6.** Aufbau der großporige Hämofiltrationsmembran unter dem Rasterelektronenmikroskop

Es erfolgte eine kontinuierliche Registrierung der Diurese, der Retentionsparameter und die Dauer der CVVH über den Zeitraum der Studie. Die Serumkonzentrationen von Protein und Albumin im Blut sowie die Konzentrationen im Ultrafiltrat, deren Verlust über den Hämofilter und die gegebenenfalls durchgeführten Substitution, wurden ebenfalls bei allen rekrutierten Patienten dokumentiert.

### 3.2.3. Design der Studie

Die Studie ist als prospektive, klinisch kontrollierte Einzel-Center-Studie durchgeführt worden. Die Dauer der CVVH - Behandlung im Rahmen der Studie war auf fünf Tage festgesetzt. In der Gruppe II wurde nach 12 Stunden CVVH - Behandlung mit der großporigen Hämofiltrationsmembran, auf eine Standard Hämofiltrationsmembran (Polyflux-11), gewechselt (Abbildung 7). Wiederum nach 12 Stunden erfolgte ein erneuter Wechsel auf die großporiger Hämofiltrationsmembran PSH-1 (Abbildung 7).



**Abbildung 7:** Zeitlicher Verlauf des Wechsels der Hämofiltrationsmembran in der Gruppe II

In der konventionellen Gruppe I fand alle 24 Stunden ein Wechsel der Hämofiltrationsmembran ( Polyflux-11 ) statt. Die Hämofiltrationslösung wurde auf 24 Liter pro Tag eingestellt. Patienten die nach den 5 Tagen CVVH -Therapie eine weitere Ersatztherapie benötigten, sind mit der Standard Hämofiltrationsmembran weiterbehandelt worden. Eine Beobachtung aller Studienpatienten erfolgte bis zur Krankenhausentlassung. Für das Überleben der Patienten wurde die 28 Tage Mortalität verwendet.

## 3.3. Blut - und Ultrafiltratentnahme

### 3.3.1. Blut - und Ultrafiltratentnahme der septischen Patienten

An allen 5 Tagen der Studie wurde zu den Zeitpunkten vor Anschluss der CVVH nach einer halben, einer, zwei, vier und zwölf Stunden Blut entnommen, um ein

kontinuierliches Monitoring über alle klinisch relevanten Parameter zu erhalten. Zusätzlich zu den genannten Werten erfolgte eine ausführliche Dokumentation der Gerinnungsparameter. Folgende Gerinnungswerte sind erfasst, die Thromboplastinzeit (TPZ), die partielle Thromboplastinzeit (PTT), der Faktor II (zirka 69 kDa), der Faktor V (zirka 300 kDa) und der Faktor VIII (zirka 280 kDa) sowie das Protein C (zirka 62 kDa), das Protein S und das Antithrombin III (Abbildung 17). Die Proben für die Untersuchungen erhielt das Labor innerhalb einer halben Stunde. Für spätere Untersuchungen wurden Ultrafiltratproben zu den Zeitpunkten null, einer halben, einer, zwei, vier und zwölf Stunden aus dem extrakorporalen Kreislauf entnommen und bei minus 80 °C tiefgefroren. Von allen Patienten erfolgte eine Blutentnahme jeweils 10 ml mittels Citrat-Monovetten sowie 5 ml mittels EDTA - Monovetten aus dem extrakorporalem Kreislauf unmittelbar vor Beginn der CVVH, am dritten sowie am fünften Tag. Eine Weiterverarbeitung des Blutes im Labor entsprechend den Funktionstests war an den jeweiligen Tagen der Studie gewährleistet.

### **3.3.2. Blut -und Ultrafiltratentnahme gesunder Probanden**

Zur Evaluierung und Vergleichbarkeit der Versuche wurden gesunden Probanden Vollblut, direkt vor Verarbeitung der Proben im Labor entnommen. Die Probanden durften keine klinischen Symptome eines Infekts aufweisen und keinerlei Medikamente innerhalb der letzten 4 Wochen eingenommen haben. Des weiteren haben wir drei gesunden Probanden, um Ultrafiltratproben zu gewinnen, unter ärztlicher Aufsicht hämofiltriert. Eine Antikoagulation erfolgte mit 3000 IE Heparin intravenös. Als Gefäßzugang verwendeten wir die rechte und linke Vena basilica, um eine Rezirkulation zu verhindern. Nach zehn minütiger Standard-Hämofiltration sind Ultrafiltratproben abgefüllt worden. Anschließend tauschten wir die Standard Hämofiltrationsmembran gegen die großporeige Hämofiltrationsmembran aus. Es schloss sich eine zehnminütige Auswasch - Phase mit erneuter Entnahme von Ultrafiltratproben an. Die Ultrafiltrate wurden zur experimentellen Verarbeitung bei minus 80° Celsius tiefgefroren.

### **3.4. Methoden**

#### **3.4.1. Der Phagozytostest**

Für den Phagozytostest wurde das Phagozytosekitset von der Firma Orpegen verwendet und nach der Anleitung des beigefügten Protokolls vorgegangen. Der Test erlaubt die quantitative Bestimmung der Phagozytoseaktivität in heparinisierten Vollblut mittels Fluorescein (FITC) markierter Escherichia coli (E .coli) Bakterien.

##### **3.4.1.1. Testprinzip**

Für den Test wurde heparinisiertes Vollblut mit FITC-markierten E.coli Bakterien bei 37°C für 10 Minuten inkubiert. Die Kontrollproben sind für die gleiche Zeit auf Eis gelagert (diese sollten später keine oder nur geringe Phagozytoseaktivität aufweisen). Die Fluoreszenz wird von eventuell an der Zellaußenwand anhaftenden FITC E.coli Bakterien über eine Quenching – Solution ausgelöscht, so dass nur das FITC Signal von den phagozytierten Bakterien übrigbleibt.

Eine Beeinflussung der Fluoreszenz der internalisierten FITC E.coli Bakterien durch die Quenching - Solution war nicht gegeben. Nach zwei Waschschrinen mit der Washing – Solution, sind die noch vorhandenen Erythrozyten mittels Lysing – Solution lysiert und die Zellen nochmals gewaschen worden. Es erfolgte die Zugabe der DNA – Staining – Solution und die Auszählung der Proben unter einem Fluoreszenzmikroskop.

Für die Untersuchungen der Phagozytose bei gesunden Probanden erhielten die Vollblutproben eingefrorenes Ultrafiltrat der septischen Patienten in aufsteigender Konzentration, um anschließend für sechs Stunden bei 37°C inkubiert zu werden. Anschließend wurde auch bei diesen Proben die Phagozytose unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgezählt.

### 3.4.1.2. Material und Reagenzien

Eine genaue Auflistung der Materialien, Geräte sowie Reagenzien, der experimentellen Versuchen sind in den Tabelle 2 sowie Tabelle 3 aufgeführt.

ABKÜRZUNG	BEZEICHNUNG	EIGENSCHAFTEN	FIRMA
FITC markierte E. Coli	Fluorescein (FITC) markierter, opsonierte Escherichia coli	Stamm: Wildtyp, 625000 Stück /ml	ORPEGEN Pharma Heidelberg, D
LOT 2187	Quenching Solution (blaue Reagenzlösung)	Unterdrückung der Fluoreszenz der außen angehafteten Bakterien	ORPEGEN Pharma Heidelberg, D
LOT 2273	DNA – Staining – Solution (pinke Reagenzlösung)	Zum Ausschluß von Aggregationseffekten von Bakterien und Zellen	ORPEGEN Pharma Heidelberg, D
LOT 3180	Lysing Solution (zur Verdünnung 1:10 mit aqua bidest )	Zur Lysierung der Erythrozyten	ORPEGEN Pharma Heidelberg, D
LOT 2268	Washing – Solution (Salz zum Herstellen der Lösung )	Flascheninhalt in 1000 ml aqua bidest	ORPEGEN Pharma Heidelberg, D
Tube PCR	PCR - Röhrchen	0,5ml - 50ml	Eppendorf AG, Hamburg, D
PBS	Phosphat gepufferte Kochsalzlösung	Endotoxinfrei steril	PAA Lab., Linz, AUT
Pipetten	Eppendorf Reference	1µl – 1000µl	Eppendorf AG, Hamburg, D
TNF-α ELISA	Kommerziell erhältliches Cytoset Testkit mit:	Streptavidin-Peroxidase-Konjugat, Detektions- und Fänger-Antikörper, Tetramethylbenzidin	Biosource, Ratingen, D

**Tabelle 2a:** Materialien, Substanzen sowie Reagenzien für die experimentellen Laboruntersuchungen

ABKÜRZUNG	BEZEICHNUNG	EIGENSCHAFTEN	FIRMA
FCS	hitzeinaktiviertes fetales Kälberserum	Endotoxinfrei,	GIBCO, UK
Ficoll Paque	Dichtegradientenlösung zur Isolierung von PBMC	Endotoxin < 0,12 EU/ml	Amersham Biotech, Uppsala, SWE
VLE RPMI 1640	Very low endotoxin Zellkulturmedium	Endotoxin < 0,01 EU/ml + steril	Biochrom KG, Berlin, D
LIPPOLYSACC HARID	Lipopolysaccharid	E. coli 055:B5 endotoxin	BioWhittaker, Verviers, Belgium
<p>Nährvollmedium = 500 ml RPMI + 50 ml FCS mit 1% Glutamin (5 ml / 2 mmol/l) + 1% Penicillin, Streptomycin (100 µg/ml)</p>			

**Tabelle 2b:** Materialien, Substanzen sowie Reagenzien für die experimentellen Laboruntersuchungen

GERÄTE	FUNKTION	FIRMA
Cell House 200	Brutschrank, 37°C sowie 5% CO <sub>2</sub>	Heto-Holten, Allerød, Dänemark
Lamin Air HB 2448	Sterilbank	Heraeus, Hanau, D
Megafuge 2.0 R	Zentrifuge	Heraeus Instruments, Osterode, D
Leica DMIC	Lichtmikroskop (Fluoreszenz)	Leica Mikroskopie und Systeme GmbH, Wetzlar, D
Cell Dyn CD 3500	Zellzählautomat, Sonderkanal zur Zählung von isolierten Zellen in Zellkultur	Abott Diagnostika GmbH, Wiesbaden-Delkenheim, D
ELISA-Reader MRX	Absorptionsmessgerät mit Auswerte-Software Biolinx 2.20	Dynatech Laboratories and Medical Products unlimited, Chentilly, USA
Vortex-Genie 2	Mischgerät für Chemikalien und Zellkulturen	Scientific Industries, NY, USA

**Tabelle 3:** Geräte für die experimentellen Laboruntersuchungen

### 3.4.2. Durchführung

#### 3.4.2.1. PMNL - Phagozytoseaktivität bei septischen Patienten

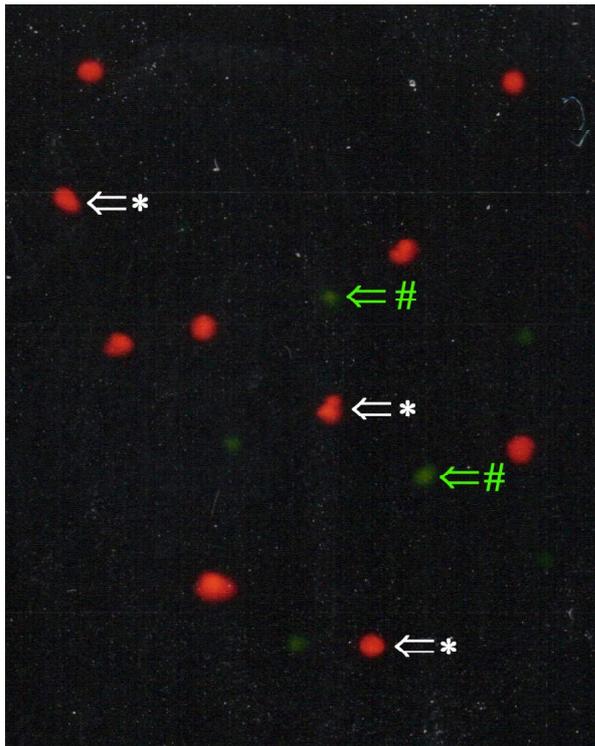
Allen Patienten ist unmittelbar vor der Hämofiltrationsbehandlung, nach 60 sowie nach 96 Stunden Vollblut für die Untersuchungen der Phagozytoseaktivität abgenommen worden.

In drei 2 ml Eppendorfftube wurden je 100 µl heparinisiertes Vollblut pipetiert, welches anschließend für mindestens 10 Minuten im Eisbad stand. Die FITC-markierten gevortexten E.coli Bakterien sind je nach Leukozytenzahl der Patienten mit PBS verdünnt worden, so dass das Verhältnis E.coli zu Leukozyten = 15:1 betrug. Es wurden 20 µl dieser Mischung zu jeder Blutprobe hinzugefügt. Von den gevortexten Proben waren zwei für 10 Minuten bei 37 °C, sowie eine (Kontrollprobe) für 10 Minuten auf Eis inkubiert.

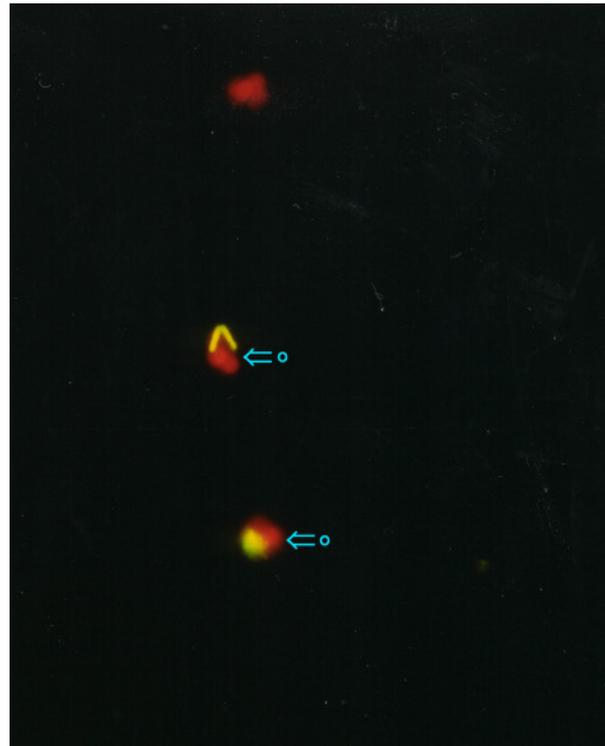
Nach der Inkubation sind alle 3 Proben auf Eis gelegt worden, um die Phagozytose zu stoppen. Danach erfolgte die Zugabe von je 100 µl Quenching – Solution. Zu jeder erneut gevortexten Tube wurden zirka 2 ml Washing – Solution hinzugefügt und durch Schütteln gemischt. Die Zellen wurden bei 4°C für 5 Minuten und 250 G abzentrifugiert und der Überstand verworfen.

Dieser Waschschrift wiederholte sich. Das Zentrifugat mit Zellen erhielt 2 ml Lysing – Solution. Alle drei Proben inkubierten wiederum bei Raumtemperatur (21 °C) für 20 Minuten. Anschließend erfolgte eine dritte Abzentrifugation der Proben für 5 Minuten bei 4°C und 250 G.

Der Überstand wurde ebenfalls verworfen, 3 ml Washing Solution hinzugefügt und nochmals 5 Minuten bei 250 G und 4°C zentrifugiert. Danach wurden 100 µl DNA Staining – Solution dem Zentrifugat zugegeben, gevortext und 10 Minuten im Dunkeln auf Eis inkubiert. Es erfolgte eine anschließende Auszählung der Proben unter dem Fluoreszenzmikroskop (Abbildung 8 sowie Abbildung 9), wobei die phagozytierten Zellen sowie die nicht phagozytierten Zellen gezählt und die Leukozytenzahl des Patienten prozentual von der Anzahl der nicht phagozytierten Zellen abgezogen wurden. Die Phagozytoserate konnte anschließend in Prozent errechnet und die Phagozytoserate der Kontrolle abgezogen werden. Mindestens 100 Zellen von zwei unterschiedlichen Personen sind in beiden Proben und der Kontrolle ausgezählt worden.



**Abbildung 8:** \*Zellen sowie # FITC markierte E. coli vor der Phagozytose unter dem Fluoreszenzmikroskop



**Abbildung 9:** ° FITC markierte phagozytierte E.coli in den Zellen unter dem Fluoreszenzmikroskop

### 3.4.2.2. Stimulierbarkeit gesunder PMNL Zellen durch Ultrafiltrat septischer Patienten

Um die Fähigkeit des Ultrafiltrates septischer Patienten auf die Phagozytoseaktivität gesunder PMNL Zellen im Vollblut von gesunden Probanden zu testen, ist dem Vollblut von gesunden Probanden Ultrafiltrat beigemischt worden. Dieser Versuch erforderte eingefrorene Ultrafiltrate, 30 Minuten nach Anschluss der CVVH. Sowohl von der großporigen Hämofiltrationsmembran, (Gruppe II) als auch von der Standard Hämofiltrationsmembran (Gruppe I) wurden Ultrafiltrate verwendet. Als Kontrolle sind dem Vollblut PBS in derselben Menge wie dem Ultrafiltrat hinzugefügt worden. Die Proben inkubierten für 6 Stunden mit Ultrafiltrat bei 37 °C, ohne Zusatz von E. coli.

Für diesen Testansatz sind von vier gesunden Probanden 5 ml Vollblut mittels Heparin - Monovette abgenommen worden. In je 300 µl Gesamtvolumen wurden 100µl Vollblut und je 25µl, 50µl, 100µl sowie 200µl Ultrafiltrat von septischen Patienten gemischt und entsprechend der Gesamtmenge mit PBS aufgefüllt. Der Versuch erfolgte im Doppelansatz.

Es wurden Ultrafiltrate von vier Patienten mit großporiger Hämofiltrationsmembran verwendet. Der gleiche Ansatz wurde mit Ultrafiltrat entnommen, im Behandlungszyklus mit der Standard Hämofiltrationsmembran in exakt denselben Konzentrationen parallel bei diesen Patienten durchgeführt.

Des weiteren wurden 200 µl Ultrafiltrat, von hämofiltrierte gesunden Probanden, auf Vollblut Gesunder gegeben, 6 Stunden bei 37°C inkubiert und die Phagozytoseaktivität in gleicher beschriebener Weise bestimmt. Um spezifische Bluteffekte auszuschließen wurden die Versuche mit vier weiteren septischen Patienten jeder Gruppe sowie vier Probanden wiederholt. Die Patienten fungierten als eigene Kontrolle, indem das Ultrafiltrat der Standard Hämofiltrationsmembran und nach Anschluss der großporigen Hämofiltrationsmembran eine halbe Stunde später untersucht wurden. So konnte ein patientenspezifischer Effekt ausgeschlossen werden. Nach Inkubation ist der Phagozytostest, wie beschrieben, mit entsprechend angepasster Anzahl der Bakterien an die Leukozytenzahl, durchgeführt worden. Die Phagozytoseaktivität wurde anschließend unter dem Fluoreszenzmikroskop nach Abzug der Lymphozytenanzahl bestimmt.

#### **3.4.2.3. Die Bestimmung des Tumornekrosefaktor alpha im Ultrafiltrat**

Die TNF- $\alpha$  Konzentrationen im Ultrafiltrat wurden mit einem kommerziell erhältlichen Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA-) Testkits (Tabelle 2a) bestimmt. Diese Assays beruhen auf dem „Sandwich-Prinzip“ und benutzen einen gereinigten Fängerantikörper sowie einen biotinylierten Detektionsantikörper in einem Avidin-Horseradish Peroxidase System. Die Farbreaktionsmessung erfolgte in einem automatisierten Micro-Titerplatten Spektrometer (Tabelle 3) bei einer Wellenlänge von 450 nm. Die Standardkurven wurden unter Verwendung von TNF- $\alpha$  entsprechend den Empfehlungen des Herstellers erzeugt. Die intraassay Variabilität lag für TNF- $\alpha$  bei 3 %. Laut Hersteller gab es für den ELISA weder eine Interaktion auf TNF- $\alpha$ -Spaltprodukte noch eine Kreuzreaktivität mit anderen Zytokinen, wie IL-1,2,4,8,10.

#### **3.4.2.4. Die Messung der Aktivierung des Tumornekrosefaktor alpha durch Ultrafiltrat in mononukleären Zellen**

Die Mononukleare Zellengewinnung aus Vollblut wurde nach der Ficoll-Dichtegradientenzentrifugation realisiert. Die benötigten 10 ml Citrat-Blut sind mit 10 ml Phosphat gepufferter Kochsalzlösung (PBS) verdünnt worden. Es erfolgte eine Aufschichtung von je 10 ml dieser Mischung auf 4 ml Ficoll-Lösung in einem 14 ml Tube. Diese beiden Röhrchen zentrifugierten bei 2800 Umdrehungen/Minute für 20 Minuten bei 21 °C. Der hierbei entstandene Ring in der Mitte des Röhrchens enthielt die mononukleären Zellen und wurde mittels Pasteurpipette aus beiden Tubes abgenommen. Nach Auffüllung mit PBS in einem neuen Tube zentrifugierten die Zellen erneut bei 1800 U für 5 Minuten bei 21 °C in der Megafuge. Der Überstand wurde verworfen und das am Boden haftende Zellpellet gewortext sowie in 1 ml Nährvollmedium aufgenommen. Um die in der Lösung enthaltende Zellkonzentration zu erfahren, wurden 50 µl der Lösung mit 250 µl PBS in einem 2ml Eppendorftube verdünnt und in einem Zelldyn gemessen. Für die Aktivierungsexperimente sind jeweils 200µl und 400µl Ultrafiltrat der Patienten mit 300 µl der Zellsuspension sowie RPMI gemischt worden, um eine Zellkonzentration von  $1.2 \times 10^6$  Zellen/ml zu erreichen. Nach Inkubation für 6 Stunden bei 37 °C sowie 5 % CO<sub>2</sub> wurde der Ansatz zur TNF-α Analyse mittels ELISA (Cytoset; Biochrom) gemessen. Alle Experimente wurden in einem dreifachen Ansatz durchgeführt. Um die individuelle Ansprechbarkeit der mononukleären Zellen zu überprüfen, wurde eine Dosis-Wirkungskurve für Lipopolysaccharid stimuliertes TNF- α mit einer Range von 0 bis 500 EU/ml Lipopolysaccharid (E. coli 055:B5 Endotoxin; BioWhittaker, Verviers, Belgium) verwendet. Als Kontrolle diente jeweils ein Ansatz mit Ultrafiltrat, welches von gesunden Probanden gewonnen wurde. Die tatsächliche aktive TNF-α Ausschüttung könnte durch eine bereits vorhandene TNF-α Konzentration im Ultrafiltrat beeinflusst werden. Aus diesem Grund wurde die TNF-α Konzentration in den Ultrafiltraten vor Beginn gemessen.

Um spezifische Bluteffekte der Proben auszuschließen, fungierten die einzelnen Patienten als Eigenkontrolle, indem das Ultrafiltrat von einer Standard Hämofiltrationsmembran sowie von einer großporigen Hämofiltrationsmembran des selben Patienten verwendet wurde. Die verwendeten Ultrafiltrate für diese Versuche wurden 30 Minuten nach Anschluss der CVVH gewonnen.

### 3.5. Statistische Auswertung

Die Statistische Auswertung erfolgte mit einem Statistikprogramm (SPSS, SPSS Inc., Chicago, Illinois, Release 11.0). Die Daten sind als Median, Fünfundzwanzigste sowie Fünfundsechzigste Perzentilen (Interquartile) aufgeführt. Die graphische Darstellung wurde unter Verwendung von Box-Whisker plots ohne Berücksichtigung von Extremwerten realisiert. Ein  $p < 0,05$  wurde als statistisch signifikant angesehen. Mit Hilfe des Chi-Quadrat Tests ist der Zusammenhang zweier kategorialer Merkmale bzw. die Homogenität zweier Stichproben bezüglich eines kategorialen Merkmals überprüft worden ( $p_1$ ). Waren die Daten nicht normal verteilt, kam ein nicht-parametrischer Test zur Anwendung. Nicht normal verteilte, unabhängige Stichproben sind mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ( $p_2$ ) ausgewertet worden. Zur Untersuchung von Gruppenunterschieden bei Messwiederholungen nicht normal verteilter Stichproben erfolgte eine nicht parametrische Varianzanalyse longitudinaler Daten nach Brunner <sup>105</sup> ( $p_3$ ). Zum Nachweis eines vom Ausgangswert unabhängigen, therapiespezifischen Effekts wurden hier die Differenzen zum Ausgangswert gebildet. Nicht normal verteilte Daten wurden bei mehrfach wiederholten Messungen mit dem Friedman-Test ( $p_4$ ) sowie bei abhängige Daten mit dem Wilcoxon-Rangsummen-Test ( $p_7$ ) verglichen. Die metrischen Daten sind mit Hilfe von Histogrammen und Q-Q-Plots auf Normalverteilung untersucht worden. Bei Normalverteilung zweier unabhängiger Stichproben wurde ein zweiseitiger T-Test für unabhängige Stichproben ( $p_5$ ) bzw. bei gepaarten Stichproben ein zweiseitiger T-Test für gepaarte Stichproben ( $p_6$ ) durchgeführt, um Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen. Eine genaue Darstellung aller Ergebnisse ist aus Übersichtsgründen nicht möglich. Es erfolgte deshalb die Darstellung beispielhaft ausgewählter Zeitpunkte in den Tabellen sowie Abbildungen.

## **4. Ergebnisse**

32 Patienten mit einem akuten Nierenversagen im Rahmen eines septischen Multiorganversagens sind in die Studie rekrutiert worden. Alle Patienten befanden sich zum Zeitpunkt des Studienbeginns im septischen Schock, waren sediert, beatmungssowie katecholaminpflichtig. Es erfolgte eine Aufteilung der Patienten in zwei Gruppen, die sich hinsichtlich ihrer Therapie der kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration, im speziellen der Hämofiltrationsmembran, unterschieden. Je ein Patient pro Studiengruppe wurde aus der Studie ausgeschlossen, da ein Nichteinhalten des Studienprotokolls vorlag. Beide Patienten fielen aus der statistischen Analyse, so dass insgesamt 30 Patienten, 14 Patienten in der Gruppe I und 16 Patienten in der Gruppe II in die Auswertung eingingen.

### **4.1. Klinische und demographische Daten der Patienten vor Beginn der Studie**

Der Vergleich zwischen dem Alter der Patienten in beiden Gruppen ergab keinen signifikanten Unterschied (Gruppe II 66 (58-73), Gruppe I 65 (58-71);  $p_1=0,55$ ). Im Verhältnis der Geschlechtsverteilung in beiden Gruppen gab es ebenfalls keinen Unterschied (Gruppe II 16 (12 männlich/ 4 weiblich), Gruppe I 14 (11 männlich/ 3 weiblich);  $p_1=0,637$ ). Insgesamt wurden mehr Männer in beiden Gruppen rekrutiert. In Bezug auf die Grunderkrankungen der Patienten waren keine Signifikantien ersichtlich (Tabelle 4). Auch die Schwere der Erkrankungen, unter Berücksichtigung des Apache-II-Scores, waren zum Aufnahmezeitpunkt der Patienten auf den Intensivstationen sowie zum Zeitpunkt des Studienbeginnes in beiden Gruppen vergleichbar (Tabelle 4).

<b>Parameter</b>	<b>Gruppe I</b>	<b>Gruppe II</b>	
<b>Demographische Daten</b>	Standard Membran	Großporige Membran	
<b><i>APACHE-II-Score (Punkte)</i></b>			<b>p<sub>2</sub>-Wert</b>
<b>ITS-Aufnahme</b>	27 (23-35)	29 (21-31)	<b>0,86</b>
<b>Studienbeginn</b>	28 (23-29)	28 (25-30)	<b>0,34</b>
<b><i>Grunderkrankungen</i></b>			<b>p<sub>1</sub>-Wert</b>
<b>Herzklappendysfunktion und -ersatz</b>	1	2	<b>0,464</b>
<b>KHK mit aortokoronarem Bypass</b>	5	3	<b>0,48</b>
<b>Polytrauma</b>	0	1	<b>0,341</b>
<b>Gelenk-Totalendoprothese</b>	0	1	<b>0,341</b>
<b>Pneumonie</b>	2	1	<b>0,886</b>
<b>Nekrotisierende Pankreatitis</b>	2	2	<b>0,886</b>
<b>Gastrointestinale Karzinome</b>	3	5	<b>0,48</b>
<b>Urothelkarzinom</b>	1	1	<b>0,922</b>

**Tabelle 4:** Demographische Daten vor Beginn der Studie, Apache-II-Score sowie Grunderkrankungen der Patienten in beiden Gruppen

Vor Beginn der Studie unterschieden sich die Gruppen nicht signifikant in Bezug auf Blutdruck, Herzfrequenz, Temperatur, zentralen Venendruck, Albumingehalt im Plasma, Thromboplastinzeit, Kreatininkonzentration, Harnstoffkonzentration im Blut, Urinausscheidung sowie die Leukozytenzahl (Tabelle 5). In den immunologischen Parametern wie den DR-Monozyten, den CD 86 Monozyten, sowie der Procalcitoninkonzentration im Blut waren in beiden Gruppen vor Beginn der Therapie keine Unterschiede festzustellen (Tabelle 5). Auch in den erhobenen Score Werten, dem Multiple Organ Dysfunction Score sowie dem SOFA - Score unterschieden sich die beiden Gruppen vor Beginn der Therapie nicht (Tabelle 5).

Variablen	Gruppe I			Gruppe II			p <sub>2</sub> -Wert
	Median	Standard Membran		Median	Großporige Membran		
		25. Perzentile	75. Perzentile		25. Perzentile	75. Perzentile	
<b>Blutdruck</b> (mmHg)	<b>68,5</b>	64,25	76,75	<b>77,5</b>	65,5	98,25	<b>0,142</b>
<b>Puls</b> (min)	<b>105</b>	91,5	111	<b>95,5</b>	84	109,75	<b>0,498</b>
<b>Temperatur</b> (C°)	<b>37</b>	36,775	37,8	<b>36,95</b>	36,425	38,375	<b>0,886</b>
<b>ZVD</b> (mmHg)	<b>14</b>	8,75	17	<b>14</b>	11	17	<b>0,983</b>
<b>Albumin</b> (mg/dl)	<b>2,45</b>	2,2825	2,7725	<b>2,68</b>	2,205	3,005	<b>0,215</b>
<b>TPZ</b> (%)	<b>69</b>	47,5	92,25	<b>77,5</b>	58,25	90,5	<b>0,728</b>
<b>Kreatinin</b> (mg/dl)	<b>2,25</b>	1,26	2,855	<b>2,1</b>	1,33	3,58	<b>0,856</b>
<b>Harnstoff</b> (mg/dl)	<b>146</b>	75	183	<b>151</b>	80,5	187,5	<b>0,88</b>
<b>Urin</b> (ml/12 h)	<b>112</b>	4	730	<b>427,5</b>	40	657,5	<b>0,329</b>
<b>Leukozyten</b> (pro ml)	<b>16100</b>	11440	25550	<b>13410</b>	10567,5	23575	<b>0,65</b>
<b>DR-Monozyten</b>	<b>28</b>	20	49	<b>40</b>	31	55,5	<b>0,331</b>
<b>CD-86</b>	<b>36</b>	20	57	<b>48</b>	28	61	<b>0,424</b>
<b>SOFA Score</b>	<b>10,5</b>	9,8	12,3	<b>9,5</b>	7,5	12,3	<b>0,423</b>
<b>MODS</b>	<b>7</b>	6	8,25	<b>6</b>	4,25	8	<b>0,334</b>
<b>Procalcitonin</b> (pg/ml)	<b>6332,5</b>	1004	29474	<b>6004,5</b>	3814	17599,5	<b>0,899</b>

**Tabelle 5:** Klinische Parameter vor Beginn der Studie in beiden Gruppen

## 4.2. Art der Sepsis sowie Infektionserreger

### 4.2.1. Art der Sepsis

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Art der Sepsis in beiden Gruppen (Tabelle 6). Mit sechs Patienten in Gruppe I sowie fünf Patienten in Gruppe II waren die Pneumonien die häufigste Ursache der Sepsis, jedoch ohne signifikanten Gruppenunterschied (Tabelle 6).

Art der Sepsis	Gruppe I	Gruppe II	p <sub>1</sub> -Wert
	Standard Membran	Großporige Membran	
<b>Pneumonie</b>	5	4	<b>0,739</b>
<b>Peritonitis</b>	2	5	<b>0,273</b>
<b>Mediastinitis</b>	1	1	<b>0,922</b>
<b>Pankreatitis</b>	1	1	<b>0,922</b>
<b>Abszess</b>	1	1	<b>0,922</b>
<b>Cholecystitis</b>	1	1	<b>0,922</b>
<b>Katheterinfektion</b>	0	1	<b>0,341</b>
<b>Urosepsis</b>	1	1	<b>0,922</b>
<b>Endokarditis</b>	2	1	<b>0,464</b>

**Tabelle 6:** Verteilung der Art der Sepsis in beiden Gruppen

### 4.2.2. Infektionserreger

Es war eine gleichmäßige Verteilung grampositiver sowie gramnegativer Erreger in beiden Gruppen nachweisbar (Tabelle 7). Bei jeweils zwei Patienten in jeder Gruppe ließen sich Hefen (*Candida albicans*) feststellen. Eine Mehrfachinfektion trat bei drei Patienten in jeder Gruppe auf. Ein positiver Erregernachweis konnte bei je 10 Patienten in jeder Gruppe geführt werden (Tabelle 7).

Mikroorganismen im Blut bzw. am Fokus	Gruppe I	Gruppe II	p <sub>1</sub> -Wert
	Standard Membran	Großporige Membran	
Grampositive Erreger	6	5	0,51
Gramnegative Erreger	5	6	0,919
<b>Candida albicans</b>	2	2	0,886
<b>Staphylokokkus aureus</b>	2	2	0,886
<b>Enterokokken</b>	2	3	0,743
<b>Streptokokkus pneumoniae</b>	2	0	0,118
<b>Escherichia coli</b>	1	3	0,351
<b>Enterobacter</b>	3	2	0,513
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	1	0	0,277
<b>Klebsiellen</b>	0	1	0,341
<b>Mehrfachinfektion</b>	3	3	0,855
<b>Erregernachweis</b>	10 (71%)	10 (63%)	0,605

**Tabelle 7:** Erregerspektrum, Mehrfachinfektionen sowie Erregernachweis in beiden Gruppen

### 4.3. Hämodynamik

#### 4.3.1. Blutdruck, Herzfrequenz und Herzminutenvolumen

Die neue Therapie wurde gut toleriert auch in Bezug auf die kardiovaskuläre Hämodynamik der Patienten. Der Blutdruck zeigte keine starken Veränderungen in beiden Gruppen während drei Tagen CVVH Therapie (Tabelle 8). Die Herzfrequenz hielt sich in der Gruppe II konstant, wogegen in der Gruppe I ein nicht signifikanter Abfall zu verzeichnen war (Tabelle 8). In Bezug auf das Herzminutenvolumen ergaben sich keine Gruppenunterschiede sowie keine signifikanten Veränderungen innerhalb einer Gruppe (Tabelle 8). In der Gruppe I waren keine zusätzlichen Gaben von Katecholaminen zur unterstützenden hämodynamischen Therapie notwendig (Tabelle 10).

Variablen	Zeit in Stunden	Gruppe I			Gruppe II			p <sub>3</sub> -Wert
		Standard Membran		Großporige Membran				
		Median	Perzentile 25. 75.		Median	Perzentile 25. 75.		
<b>MAD</b> in mmHg	0	<b>68,5</b>	64,3	76,8	<b>77,5</b>	65,5	98,3	<b>0,23</b>
	12	<b>72,5</b>	67,5	79,5	<b>80</b>	67,8	87,3	
	24	<b>66</b>	62,5	81,5	<b>70,5</b>	66	84	
	48	<b>70</b>	60	79	<b>78,5</b>	69	85,3	
	60	<b>67</b>	61	75	<b>72</b>	63	81	
	72	<b>74</b>	59,8	84,3	<b>83,5</b>	65,3	88,8	
<b>p<sub>4</sub>- Wert</b>		<b>0,721</b>			<b>0,119</b>			
<b>Herzfrequenz</b> pro Minute	0	<b>105</b>	91,5	111	<b>95,5</b>	84	109,8	<b>0,52</b>
	12	<b>97,5</b>	85	109	<b>105</b>	80	117	
	24	<b>100</b>	77,5	111	<b>96,5</b>	84	115	
	48	<b>91</b>	69,8	108	<b>92</b>	77	96	
	60	<b>96</b>	80,5	118,5	<b>93</b>	83	104	
	72	<b>95</b>	78,3	100	<b>96</b>	83	107	
<b>p<sub>4</sub>- Wert</b>		<b>0,082</b>			<b>0,186</b>			
<b>HMV</b> in L/min	0	<b>5,9</b>	4,3	8	<b>6</b>	4	7,8	<b>0,56</b>
	12	<b>6</b>	4,3	7,9	<b>8,5</b>	6,1	9,7	
	24	<b>5,5</b>	4,5	8,8	<b>6,6</b>	5,2	7,6	
	48	<b>5,8</b>	5,2	6,4	<b>6,4</b>	5,1	7,9	
	60	<b>4,9</b>	3,5	7,4	<b>6,2</b>	4,6	8,5	
	72	<b>5,1</b>	4,6	9,1	<b>5,2</b>	4,5	5,9	
<b>p<sub>4</sub>- Wert</b>		<b>0,397</b>			<b>0,463</b>			

**Tabelle 8:** Hämodynamische Parameter: MAD, Herzfrequenz sowie Herzminutenvolumen über 72 Stunden in beiden Gruppen

#### 4.3.2. Systemisch vaskulärer Widerstand, zentrale Venendruck und Körperkerntemperatur

Zu Beginn sowie im Verlauf der Studie bestand kein signifikanter Gruppenunterschied in Bezug auf den systemisch vaskulären Widerstandsindex. Der zentrale Venendruck war zu Beginn der Therapie in beiden Gruppen gleich und veränderte sich nicht wesentlich innerhalb von 72 Stunden in beiden Gruppen (Tabelle 9).

Die Körperkerntemperatur zeigte zu Beginn keinen Gruppenunterschied. Im Verlauf fiel die Temperatur in der Gruppe 2 signifikant ab (Tabelle 9). Nach 72 Stunden war jedoch kein Gruppenunterschied der Körperkerntemperatur erkennbar, (Tabelle 9).

Variablen	Zeit in Stunden	Gruppe I			Gruppe II			p <sub>s</sub> - Wert
		Standard Membran		Großporige Membran				
		Median	Perzentile 25. 75.		Median	Perzentile 25. 75.		
<b>SVRI</b> in dyn	0	<b>1865</b>	1407	2210	<b>1674</b>	1001	2672	<b>0,33</b>
	12	<b>1768</b>	1241	2010	<b>1331</b>	1148	1769	
	24	<b>1705</b>	1004	2018	<b>1748</b>	1165	2200	
	48	<b>1987</b>	1090	2874	<b>1444</b>	1193	1623	
	60	<b>1526</b>	1001	2026	<b>1701</b>	1074	2117	
	72	<b>1869</b>	1002	2248	<b>1934</b>	1005	2356	
<b>p<sub>s</sub>- Wert</b>		<b>0,66</b>			<b>0,59</b>			
<b>ZVD</b> in mmHg	0	<b>14</b>	8,8	17	<b>14</b>	11	17	<b>0,94</b>
	12	<b>15</b>	10,5	18,5	<b>14,5</b>	10,3	16,8	
	24	<b>13,5</b>	10,3	16,8	<b>12,5</b>	7,3	17,3	
	48	<b>13</b>	9,5	18	<b>12,5</b>	8,8	15	
	60	<b>11</b>	8,5	16	<b>13,5</b>	7,8	16	
	72	<b>11,5</b>	10,3	18,8	<b>11,5</b>	8,8	16	
<b>p<sub>s</sub>- Wert</b>		<b>0,769</b>			<b>0,797</b>			
<b>Temperatur:</b> in °C	0	<b>37</b>	36,8	37,8	<b>36,95</b>	36,4	38,4	<b>0,53</b>
	12	<b>36,9</b>	36,3	37,1	<b>37,1</b>	36,5	38,1	
	24	<b>37</b>	36,4	37,3	<b>37,25</b>	36,7	38,3	
	48	<b>36,65</b>	36,3	37,2	<b>37</b>	36,5	37,3	
	60	<b>37</b>	36,2	37,3	<b>37,75</b>	36,5	38,2	
	72	<b>36,5</b>	36,1	37,5	<b>36,8</b>	35,9	37,5	
<b>p<sub>s</sub>- Wert</b>		<b>0,346</b>			<b>0,024</b>			

**Tabelle 9:** Systemische vaskulärer Widerstandsindex, ZVD sowie Körperkerntemperatur im Verlauf in beiden Gruppen während der Studie

### 4.3.3. Katecholamine

Die Katecholaminzufuhr, vorrangig Noradrenalin, vor Beginn der CVVH Therapie unterschied sich in beiden Gruppen nicht (Tabelle 10). Im Verlauf sanken in beiden Gruppen die benötigten Noradrenalingaben. Die Reduktion der Noradrenalingaben fiel in der großporigen Hämofiltrationsgruppe im Vergleich zur Standard Gruppe I signifikant ab. (Tabelle 10) Ein signifikanter Gruppenunterschied war jedoch zu keinem Zeitpunkt messbar. Es wurden in beiden Gruppen nur in geringem Umfang auch andere Katecholamine wie Dobutamin, Dobexamin sowie Adrenalin verabreicht, so dass eine Auswertung für diese Katecholamine nicht möglich war.

	Zeit in h	Gruppe I			Gruppe II			p <sub>3</sub> - Wert
		Standard Membran			Großporige Membran			
		Median	Perzentile		Median	Perzentile		
		25	75		25	75		
Noradrenalin in µg/kg/min	0	<b>0,32</b>	0,3	0,6	<b>0,265</b>	0,075	0,575	<b>0,68</b>
	12	<b>0,4</b>	0,275	0,6	<b>0,185</b>	0,0625	0,675	
	24	<b>0,35</b>	0,25	0,65	<b>0,125</b>	0,0575	0,625	
	48	<b>0,2</b>	0,15	0,525	<b>0,06</b>	0,003	0,6	
	60	<b>0,2</b>	0,135	0,475	<b>0,065</b>	0	0,45	
	72	<b>0,1</b>	0,055	0,4	<b>0,04</b>	0	0,5	
p <sub>2</sub> - Wert		<b>0,053</b>			<b>0,016</b>			

**Tabelle 10:** Noradrenalingaben in beiden Gruppen über 72 Stunden

#### 4.4. Diurese, Retentionsparameter und Dauer der CVVH

Bei allen Patienten bestand vor Beginn der Studie ein akutes Nierenversagen mit erhöhten Retentionswerten sowie einer verminderten Diurese. Eine Übersicht über die Dauer der CVVH sowie den Krankheitsverlauf ab Studienbeginn geben die beiden Tabellen 11 sowie 12 für die jeweiligen Gruppen wider.

Patienten	CVVH-Zyklen	Grund für Beenden der CVVH	Krankheitsverlauf ab Studienbeginn
1	5	Kurs komplett	Überlebt
2	5	Kurs komplett	Verstorben Tag 19
3	5	Kurs komplett	Verstorben Tag 18
4	5	Kurs komplett	Überlebt
5	3	Verstorben	Verstorben Tag 4
6	5	Kurs komplett	Verstorben Tag 26
7	3	Verstorben	Verstorben Tag 4
8	3	Nierenerholung	Verstorben Tag 26
9	3	Verstorben	Verstorben Tag 4
10	3	Nierenerholung	Überlebt
11	3	Verstorben	Verstorben Tag 4
12	5	Kurs komplett	Überlebt
13	5	Kurs komplett	Verstorben Tag 17
14	3	Nierenerholung	Überlebt

**Tabelle 11:** CVVH Zyklen, Grund für Beendigung der CVVH Therapie sowie Krankheitsverlauf in der Standard-Hämodilutionsgruppe (Überlebt = 28 Tage Überleben)

Die Diurese, 12 Stunden vor Studienbeginn, war nicht signifikant unterschiedlich in beiden Gruppen (Gruppe I (160 ml((55/445) vs. Gruppe II (325ml(135/503);  $p_5=0,56$ ). Die vor Studienbeginn gemessenen Harnstoffkonzentrationen (Gruppe I (165,5 mg/dl(147/177) vs. Gruppe II (164 mg/dl (152/193,5);  $p_5=0,88$ ) sowie die Kreatininkonzentrationen (Gruppe I (2,25 mg/dl (1,26/2,86) vs. Gruppe II (2,1 mg/dl (1,33/3,58);  $p_5=0,86$ ) waren in beiden Gruppen vergleichbar.

Patienten	CVVH-Zyklen	Grund für Beenden der CVVH	Krankheitsverlauf ab Studienbeginn
1	5	Kurs komplett	Überlebt
2	4	Verstorben	Verstorben Tag 4
3	3	Nierenerholung	Verstorben Tag 6
4	2	Nierenerholung	Überlebt
5	3	Nierenerholung	Verstorben Tag 17
6	3	Verstorben	Verstorben Tag 4
7	5	Kurs komplett	Verstorben Tag 12
8	2	Verstorben	Verstorben Tag 3
9	4	Nierenerholung	Verstorben Tag 21
10	3	Nierenerholung	Überlebt
11	3	Nierenerholung	Verstorben Tag 13
12	5	Kurs komplett	Verstorben Tag 33
13	3	Verstorben	Verstorben Tag 4
14	3	Nierenerholung	Überlebt
15	3	Nierenerholung	Überlebt
16	5	Kurs komplett	Verstorben Tag 20

**Tabelle 12:** CVVH Zyklen, Grund für Beendigung der CVVH Therapie sowie Krankheitsverlauf in der großporigen Hämofiltrationsgruppe (Überlebt = 28 Tage überlebt)

In beiden Gruppen war ein Anstieg der Diurese im Verlauf zu verzeichnen. Am Ende war die Diurese in der großporigen Hämofiltrationsgruppe höher als in der Standard Gruppe, aber nicht signifikant unterschiedlich (Gruppe I (375ml(52,5/2025) vs. Gruppe II (1500ml(30/2600));  $p_5=0,23$ ). In beiden Gruppen war am Ende der Studie ein signifikanter Abfall der Harnstoffkonzentration zu verzeichnen ((Gruppe I von 165,5 mg/dl (147/177) auf 129,5 mg/dl(120/148);  $p_6=0,013$ ) sowie Gruppe II von 164 mg/dl (152/193,5) auf 122 mg/dl (100/143,5);  $p_6=0,001$ )), jedoch war kein Gruppenunterschied sichtbar (Gruppe I (129,5 mg/dl(120/148) vs. Gruppe II (122 mg/dl (100/143,5);  $p_5=0,97$ )).

#### 4.5. Parameter der Organdysfunktion

Zur Beurteilung der Organdysfunktion wurden verschiedene Parameter bestimmt. Alle gemessenen Parameter waren zu Beginn der Studie in beiden Gruppen vergleichbar. Die Beurteilung der Lungenfunktion bei beatmeten Patienten erfolgte über die standardisierte  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  - Ratio. Nach Beendigung der CVVH zeigte sich eine Besserung der  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  - Ratio in der Gruppe II (Tabelle 13), jedoch ohne signifikanten Unterschied im Verlauf. Ein Unterschied innerhalb der Gruppen war ebenfalls nicht zu verzeichnen. Das gemessene Bilirubin als Parameter der Leberfunktion war zu keinem Zeitpunkt im Verlauf und im Gruppenvergleich signifikant unterschiedlich in beiden Gruppen. Die Anzahl der Thrombozyten als ein Verlaufsparemeter des Gerinnungssystems zeigte zu Beginn der Studie keinen Unterschied im Gruppenvergleich. In der Gruppe I ist ein signifikanter Abfall der Thrombozyten im Verlauf der Studie zu verzeichnen (Tabelle 13). Dieser Unterschied ist ebenfalls signifikant zwischen den Gruppen am Ende der Studie, zugunsten der großporigen Hämofiltrationsgruppe (Tabelle 13).

Variablen	Verlauf	Gruppe I			Gruppe II			p <sub>3</sub> - Wert
		Standard Membran	Perzentile		Großporige Membran	Perzentile		
		Median	25.	75.	Median	25.	75.	
<b>Lungenfunktion</b> ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ - Ratio)	Vor CVVH	<b>266</b>	198	378	<b>199</b>	120	372	<b>0,19</b> <b>0,99</b>
	Nach CVVH	<b>269</b>	224	349	<b>292</b>	197	343	
p <sub>4</sub> - Wert		<b>0,49</b>			<b>0,079</b>			
<b>Leberfunktion</b> (Bilirubin in mg/dl)	Vor CVVH	<b>2,1</b>	0,9	3,6	<b>1,6</b>	0,9	2,6	<b>0,36</b> <b>0,5</b>
	Nach CVVH	<b>2,1</b>	0,9	4,5	<b>1,5</b>	1,0	3,2	
p <sub>4</sub> - Wert		<b>0,37</b>			<b>0,53</b>			
<b>Gerinnungssystem</b> (Thrombozyten in Tausend/ $\mu\text{l}$ )	Vor CVVH	<b>142</b>	40	216	<b>138</b>	86	249	<b>0,53</b> <b>0,036</b>
	Nach CVVH	<b>69</b>	69	103	<b>149</b>	84	194	
p <sub>4</sub> - Wert		<b>0,029</b>			<b>0,23</b>			

**Tabelle 13:** Organdysfunktion anhand der  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  - Ratio, des Bilirubins sowie der Thrombozyten im Verlauf der Studie in beiden Gruppen

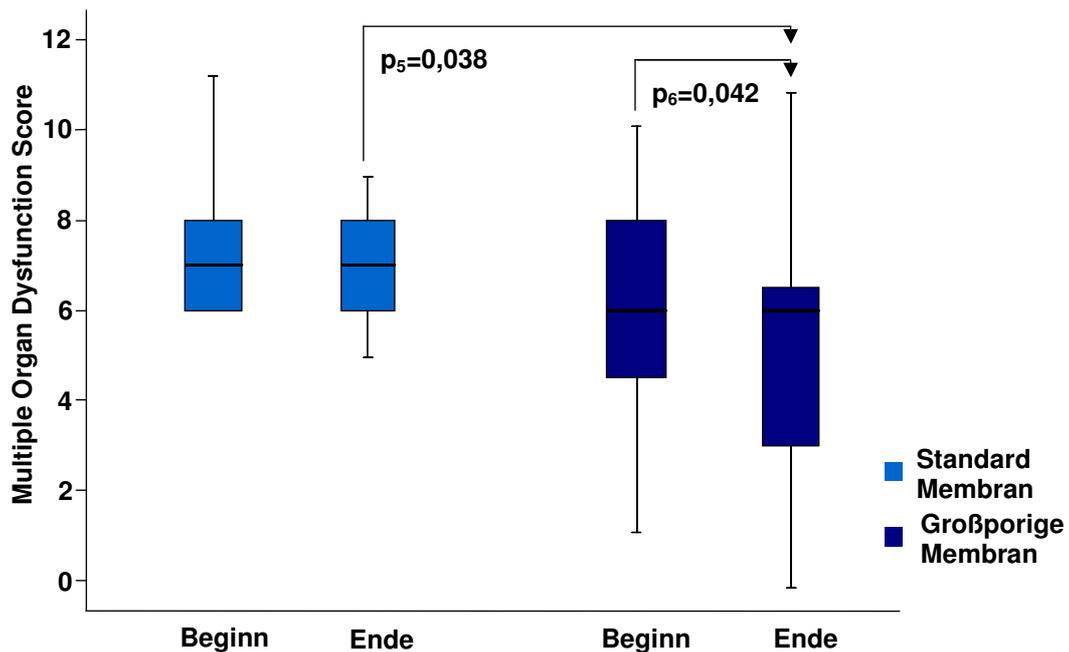
#### 4.6. Der Verlauf der CVVH sowie die 28 Tage Mortalität

Die prospektiv geplanten fünf Tage der CVVH erreichten in der Gruppe I 7 von 14 Patienten und in der Gruppe II 4 von 16 Patienten. Eine Wiederaufnahme der Nierenfunktion sowie die hohe Mortalität der Patienten sind hierfür die Ursache.

In der Gruppe I zeigten drei Patienten (21 %) im Vergleich zu acht Patienten (50 %) in der Gruppe II eine Wiederaufnahme der Nierenfunktion. Die statistische Auswertung ergab ein nicht erreichtes Signifikanzniveau ( $p_1=0,100$ ). Es gab in beiden Gruppen keine Patienten, die ihre Gruppe wechselten. In beiden Gruppen verstarben je vier Patienten vor dem Ende des fünften Tages nach Anschluss der CVVH. Die 28 Tage Mortalitätsraten betragen in der Standardtherapie Gruppe I 64,3 % und in der großporigen Gruppe II 62,5 %, welches keinen statistischen Unterschied ergab (9/5 vs.10/6;  $p_1=0,61$ ).

#### 4.7. Score Werte

Zur Beurteilung der Schwere der Sepsis wurde für alle Patienten der Apache-II-Score zu Beginn der Studie berechnet. Die Werte zeigten keinen statistisch signifikanten Unterschied in beiden Gruppen (Tabelle 4). Als Verlaufsparemeter wurde der MODS sowie der SOFA – Score berechnet. Auch bei diesen beiden Werten gab es keinen signifikanten Unterschied in den Werten vor Beginn der Studie (Tabelle 5). Im Verlauf der Studie ergab sich ein signifikanter Abfall des MODS in der Gruppe II ( $p_6=0,042$ ). Ferner stellte sich am Ende der Studie ebenfalls ein signifikanter Unterschied im MODS zwischen den Gruppen heraus ( $p_5=0,038$ ) (Abbildung 10). In der Gruppe I war kein Unterschied im Verlauf in dem MODS erkennbar.

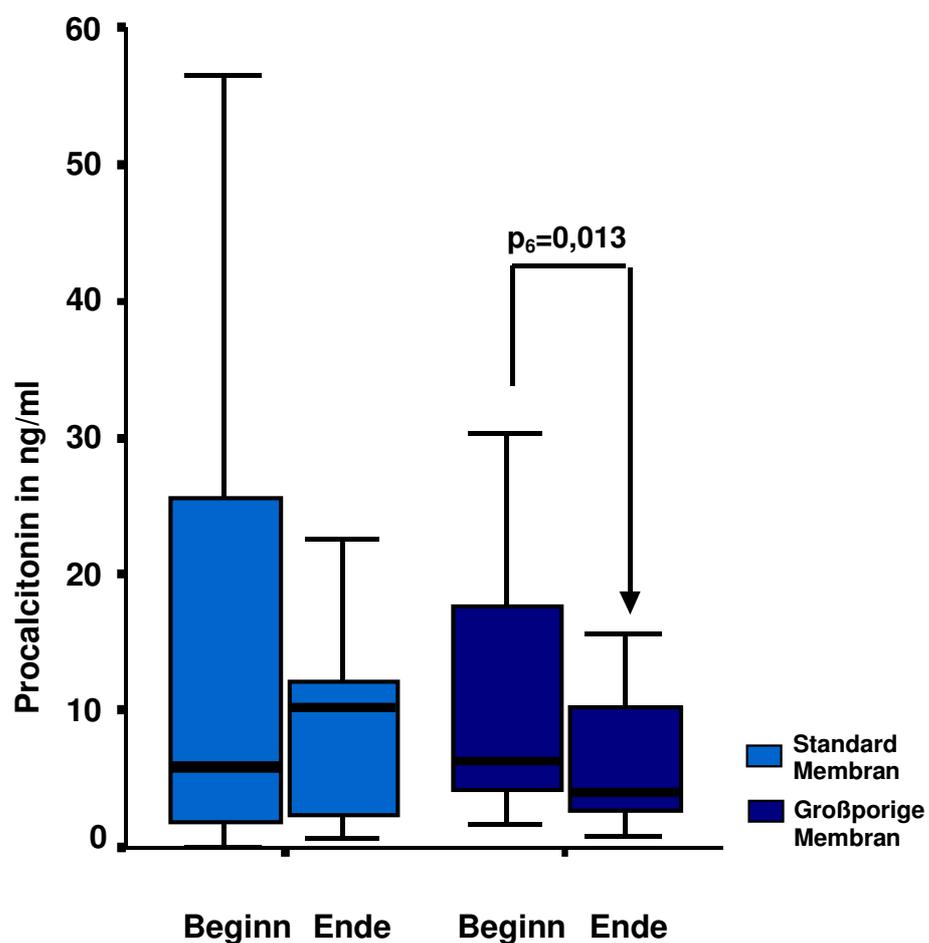


**Abbildung 10:** MODS vor Beginn und am Ende der Studie in beiden Gruppen

Der SOFA - Score wurde ebenfalls zur Beurteilung herangezogen und zeigte keine signifikante Veränderung in der Gruppe II (Beginn 9,5 (7.5;12.8) vs. Ende 10 (6.3; 10.8);  $p_6=0,09$ ). In der Standardgruppe zeigte sich kein Unterschied in Bezug auf den SOFA - Score zu Beginn und am Ende der Studie (Beginn 10,5 (9,8;12.3) vs. Ende 10,5 (7,8; 12,3) ;  $p_6=0,552$ ). Auch zwischen den Gruppen waren keine Unterschiede zu Beginn ( $p_5=0,423$ ) sowie am Ende der Studie ( $p_5=0,257$ ) im SOFA - Score zu verzeichnen.

#### 4.8. Procalcitonin

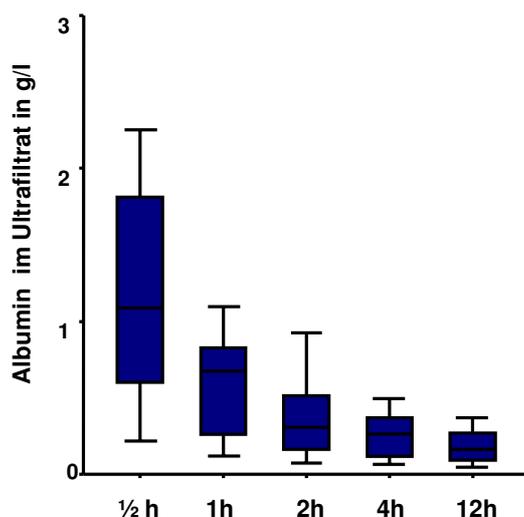
Im Zeitraum der Studie zeigte sich ein signifikanter Abfall im Plasmaspiegel des Procalcitonins in der Gruppe II (Gruppe I 6,2 ng/ml (4,1;17,7) vs. Gruppe II 3,6 ng/ml (2,3;11,6),  $p_6=0,013$ ) (Abbildung 11). Der Unterschied war nicht signifikant in beiden Gruppen am Ende des Beobachtungszeitraumes (10,2 ng/ml (2,2;14,9) vs. 3,6 ng/ml (2,3;11,6),  $p_2=0,65$ ).



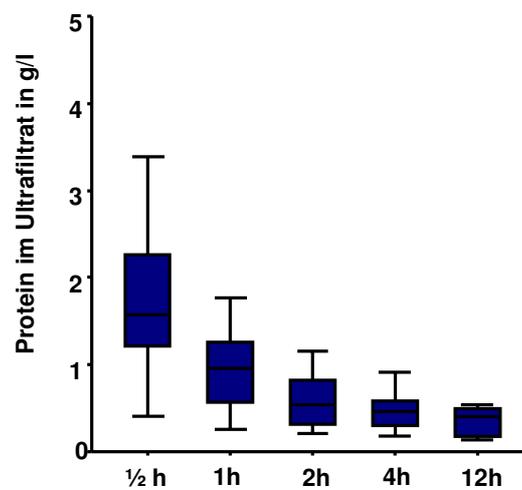
**Abbildung 11:** Procalcitoninkonzentrationen in beiden Gruppen vor Beginn sowie am Ende der CVVH Therapie

#### 4.9. Protein und Albumin

Vor Hämofiltrationsbeginn war kein Unterschied in den Plasmaproteinspiegeln in beiden Gruppen zu verzeichnen (Gruppe I 2,85 (2,38-3,07) g/dl vs. Gruppe II 2,68 (2,50-2,81) g/dl ( $p_2=0,71$ )). Der Gesamtprotein- sowie Albuminverlust der großporigen Hämofiltrationsmembran war in den ersten Stunden nach Anschluss der CVVH am größten. Die Proteinwerte im Ultrafiltrat 30 Minuten nach Initiierung der CVVH, lagen in der Gruppe I bei 66 mg/L (35;127) im Vergleich zu 1574 mg/L (1183; 2589) in der Gruppe II ( $p_2<0,001$ ). Die entsprechend gemessenen Albuminwerte ergaben 13 mg/L (0,8;26) für die Gruppe I versus 1085 mg/L (519;1843) in der Gruppe II im Ultrafiltrat, ebenfalls mit einem hoch signifikantem Unterschied ( $p_2<0,001$ ). Dieser Verlust an Proteinen und Albumin sank hoch signifikant über die ersten 12 Stunden der CVVH Therapie ab (Abbildung 12 sowie Abbildung 13) ( $p_4<0,001$ ).



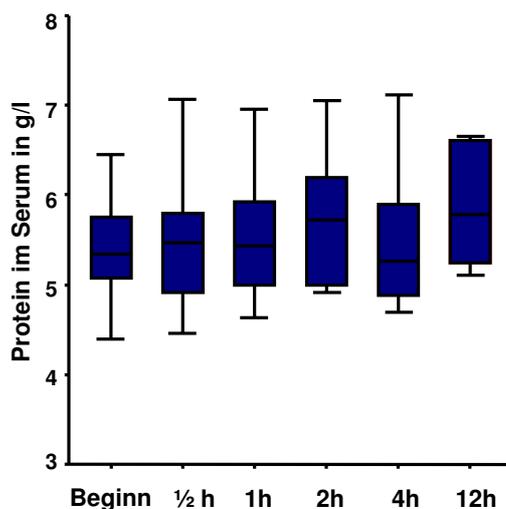
**Abbildung 12:** Verlust von Albumin in das Ultrafiltrat in den ersten 12 h Gruppe II



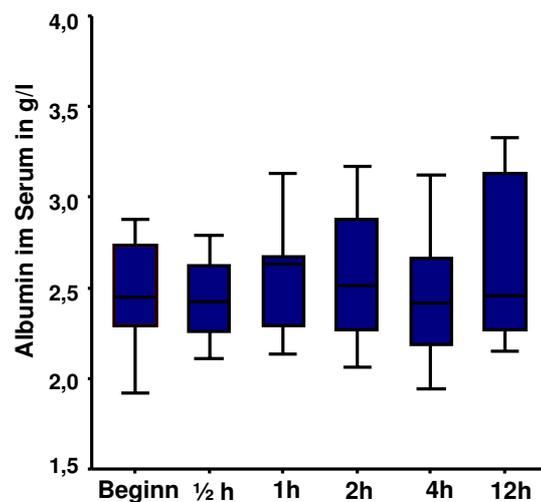
**Abbildung 13:** Verlust von Protein in das Ultrafiltrat in den ersten 12 h Gruppe II

Nach 12 Stunden lagen die Werte für Protein im Ultrafiltrat in der Gruppe I bei 35 mg/L (15;56) versus 406 mg/L (172;501) im Vergleich zu der Gruppe II ( $p_2<0,001$ ). Die entsprechenden Werte für Albumin ergaben für die Gruppe I 1 mg/L (0,0;4) und 164 mg/L (82;275) in der Gruppe II ( $p_2<0,001$ ). Der errechnete kumulative Verlust für das Gesamtprotein für die Gruppe II innerhalb der ersten 12 Stunden durch die großporige Membran ergab einen Wert von 7,637 g (6,205;12,057) versus 0,16 g (0,09-0,23)

Protein für die Gruppe I ( $p_2 < 0,001$ ). Entsprechend betrug der kumulative Verlust für Albumin für die Gruppe II innerhalb der ersten 12 Stunden 4,829 g (2,606;8,619) versus 0,09 (0,06;0,12) g Albumin für die Gruppe I ( $p_2 < 0,001$ ). Die Plasma Proteinwerte (Abbildung 14) sowie Albuminwerte (Abbildung 15) zeigten in der Gruppe II keine signifikanten Unterschiede im Verlauf der Studie (Albumin:  $p_4 = 0,843$ ; Protein:  $p_4 = 0,82$ ).



**Abbildung 14:** Plasmaspiegel von Protein in den ersten 12 h für die Gruppe II



**Abbildung 15:** Plasmaspiegel von Albumin in den ersten 12 h für die Gruppe II

Im Vergleich der Gruppen ergab sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied im Plasma Albuminspiegel im Verlauf der Studie ( $p_3 = 0,36$ ). Ebenso zeigte sich kein Gruppenunterschied in Bezug auf den Plasma Proteinspiegel ( $p_3 = 0,76$ ).

#### 4.9.1. Substitution von Humanalbumin

Im Rahmen der Erhaltung eines Plasma Albuminspiegels über 2,0 g/dl erfolgte eine Substitution mit Humanalbumin 20 %. Es wurden in der Gruppe I kumulativ 950 ml (7/14 Patienten) sowie in der Gruppe II insgesamt kumulativ 2350 ml (11/16 Patienten) Humanalbumin 20 % substituiert. Statistisch ist kein Gruppenunterschied sichtbar ( $p_2 = 0,15$ ). Ferner besteht ebenfalls kein statistischer Unterschied in Bezug auf die substituierte Menge pro Patient (Gruppe II  $72 \pm 42$  ml vs. Gruppe I  $45 \pm 16$  ml;  $p_2 = 0,25$ ).

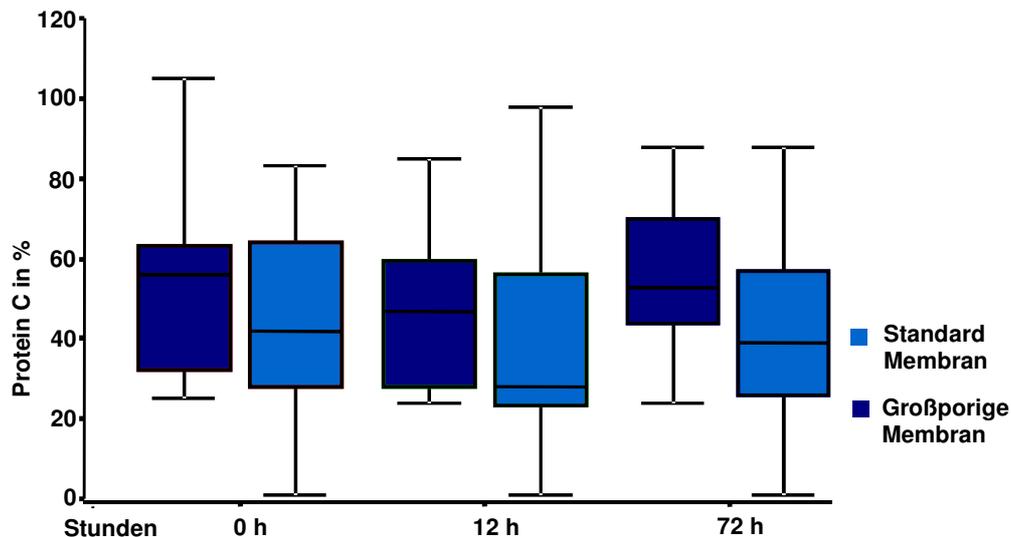
#### 4.10. Gerinnungsparameter

Zur Beurteilung und Überwachung des Gerinnungsstatus der Patienten wurden folgende Parameter bestimmt: die Thromboplastinzeit (TPZ) (Tabelle 16), die partielle Thromboplastinzeit (PTT) (Tabelle 16), Faktor II (Abbildung 17), Faktor V und Faktor VIII (Tabelle 17) sowie Protein C (Abbildung 16), Protein S (Tabelle 16) und Antithrombin III (Abbildung 18). Im Verlauf der Studie kam es zu keinem signifikanten Abfall der Gerinnungsparameter in beiden Gruppen.

Variablen	Zeit in Stunden	Gruppe I			Gruppe II			p <sub>3</sub> - Wert
		Standard Membran		Großporige Membran				
		Median	Perzentile 25. 75.		Median	Perzentile 25. 75.		
TPZ in %	0	69,0	47,5	92,3	77,5	58,3	90,5	0,84
	12	67,0	39,5	84,0	77,0	60,5	94,0	
	24	71,0	43,0	91,0	80,0	67,3	92,0	
	48	72,0	46,0	100,3	81,0	69,5	101,5	
	72	73,0	41,0	92,0	81,0	60,0	99,0	
	p <sub>2</sub> - Wert		0,25			0,45		
PTT in sec	0	44,8	39,1	53,8	41,5	33,5	48,6	0,37
	12	45,6	36,3	60,3	34,9	33,4	44,4	
	24	45,3	35,7	50,7	41,6	34,4	51,5	
	48	43,9	37,5	50,1	46,8	35,4	69,6	
	72	42,9	36,7	47,4	39,4	33,3	59,7	
	p <sub>2</sub> - Wert		0,31			0,93		
Protein S in mg/dl	0	76,0	68,0	88,0	75,5	66,0	84,5	0,18
	12	81,0	73,5	91,5	73,0	60,5	94,0	
	24	66,0	57,0	88,0	70,5	61,3	81,0	
	48	84,0	72,5	101,0	71,5	61,8	83,0	
	72	77,0	66,0	90,5	71,0	64,5	83,5	
	p <sub>2</sub> - Wert		0,79			0,58		

**Tabelle 16:** Thromboplastinzeit, die partielle Thromboplastinzeit sowie Protein S im Verlauf in beiden Gruppen

Im Blutplasma waren vor Studienbeginn vergleichbare, erniedrigte Konzentrationen an Protein C in beiden Gruppen nachweisbar. Während der Studie blieb der Protein C Spiegel in beiden Gruppen stabil (Gruppe I  $p_4=0,79$ , Gruppe II  $p_4=0,33$ ) ohne signifikanten Gruppenunterschied ( $p_3=0,25$ ) (Abbildung 16).



**Abbildung 16:** Protein C im Plasma der Patienten im Gruppenvergleich

Ferner erwies sich der Blutplasmaspiegel des Gerinnungsfaktor II zu Beginn der Studie in beiden Gruppen vergleichbar und nicht unterschiedlich im Gruppenvergleich über die Zeit der Studie ( $p_3=0,37$ ) (Abbildung 17). Auch innerhalb der Gruppen war keine signifikante Änderung zu verzeichnen (Gruppe I  $p_4=0,34$ , Gruppe II  $p_4=0,93$ ) (Abbildung 16).

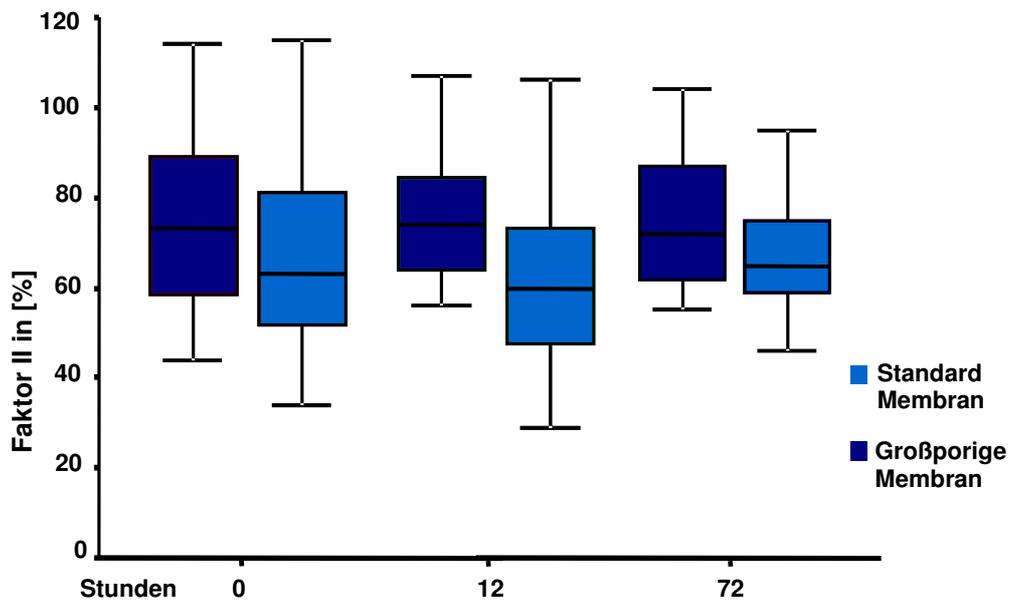


Abbildung 17: Faktor II im Gruppenvergleich

Ebenfalls als stabil und im Gruppenvergleich nicht unterschiedlich während des Studienverlaufes verhielten sich die Gerinnungsfaktoren V sowie VIII (Tabelle 16).

Variablen	Zeit in Stunden	Gruppe I		Gruppe II			p <sub>3</sub> - Wert	
		Standard Membran		Großporige Membran				
		Median	Perzentile 25. 75.		Median	Perzentile 25. 75.		
Faktor V in %	0	69	46	86	110	76	135	0,22
	12	75	69	91	104	80	150	
	24	70	41	97	129	105	149	
	48	95	64	123	118	102	162	
	72	89	69	107	110	79	146	
p <sub>4</sub> - Wert		0,01			0,93			
Faktor VIII in %	0	386	324	424	451	288	583	0,83
	12	344	294	403	386	313	492	
	24	411	290	520	388	320	464	
	48	430	319	532	383	326	544	
	72	417	262	507	367	301	458	
p <sub>4</sub> - Wert		0,39			0,65			

Tabelle 17: Gerinnungsfaktor V sowie Faktor VIII im Gruppenvergleich

#### 4.10.1. Antithrombin III sowie gefrorenes Frischplasma

In beiden Gruppen waren die Blutplasmawerte für AT III vor Beginn der CVVH vergleichbar (Gruppe I 76 mg/dl (68/88) vs. Gruppe II 75,5 mg/dl (66/84,5)). Im Verlauf der Studie zeigte sich kein signifikanter Gruppenunterschied ( $p_3=0,18$ ) (Abbildung 18).

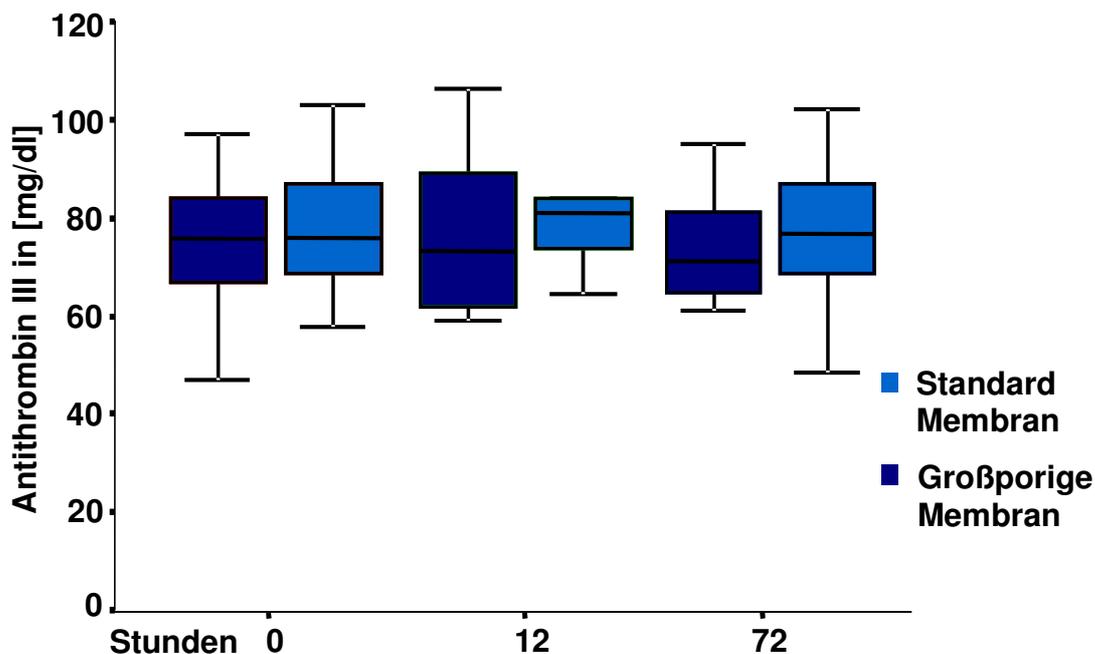


Abbildung 18: Antithrombin III im Gruppenvergleich

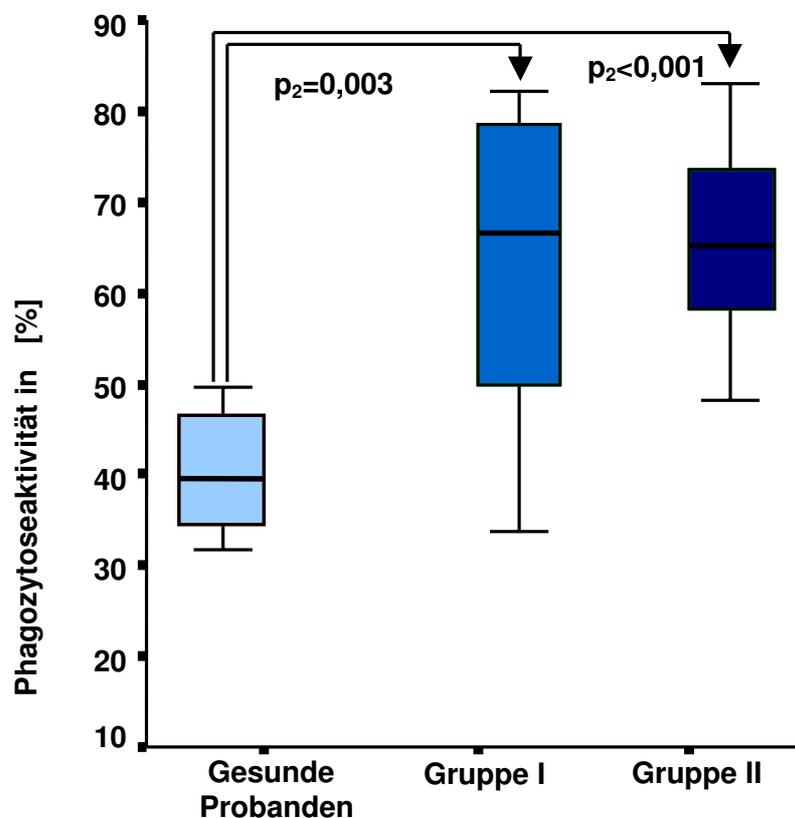
In beiden Gruppen erfolgte eine Substitution von AT III während der Studie. Der angestrebte Plasmaspiegel sollte oberhalb von 70 % aufrechterhalten werden. In der Gruppe II wurden im Studienverlauf insgesamt 34.500 IE AT III appliziert, in der Gruppe I 43.000 IE ( $p_2=0,55$ ). Auch in Bezug auf die substituierte Menge AT III pro Patient war kein signifikanter Unterschied nachweisbar ( $p_2=0,67$ ).

Ebenso wurde gefrorenes Frischplasma in beiden Gruppen substituiert. In der Gruppe I wurden insgesamt 6500 ml sowie in der Gruppe II 6125 ml gefrorenes Frischplasma infundiert ( $p_2=0,82$ ). Die substituierte Menge pro Patient war ebenfalls in beiden Gruppen nicht unterschiedlich ( $p_2=0,67$ ).

## 4.11. Phagozytose

### 4.11.1. Phagozytoseaktivität der Patienten

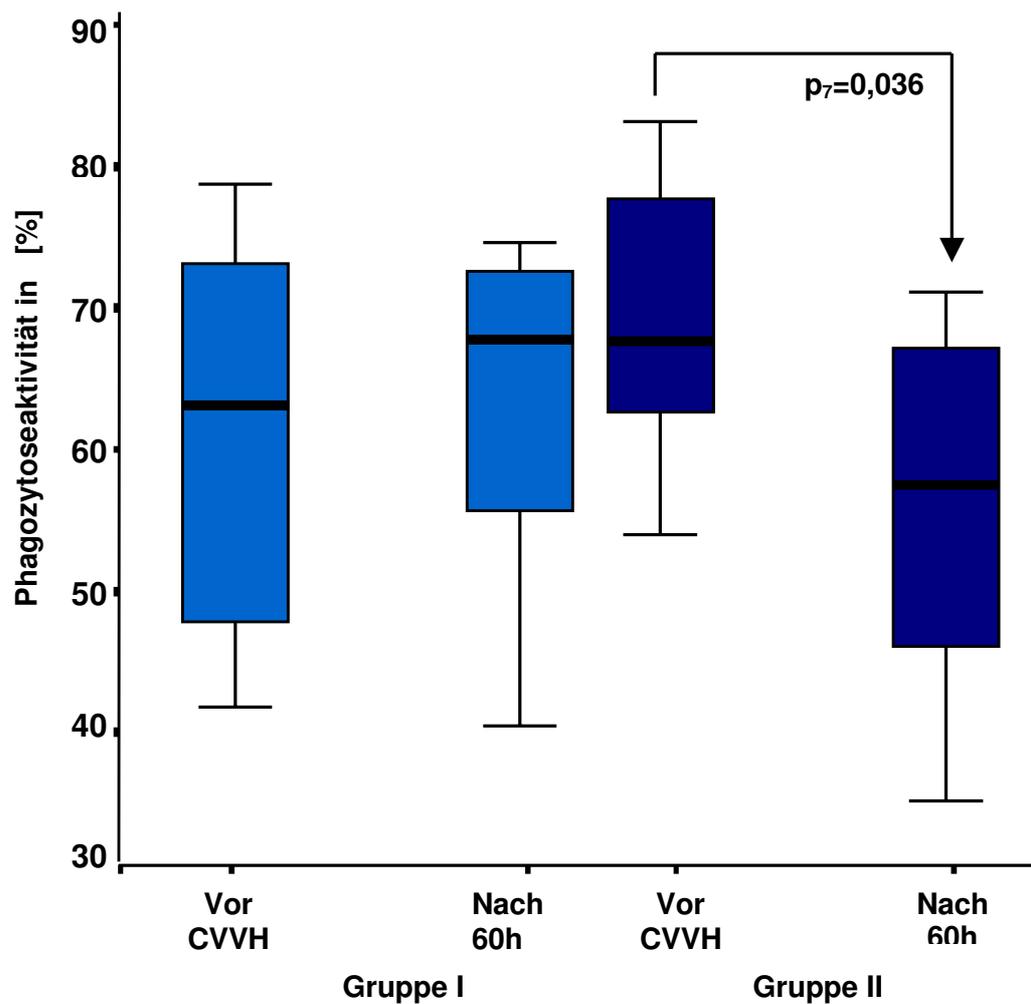
Die Phagozytoseaktivität der Makrophagen, Monozyten sowie der polymorphkernigen Granulozyten waren bei den septischen Patienten vor Beginn der Studie im Vergleich zu den gesunden Probanden erhöht. Der Wert war zirka doppelt so hoch verglichen mit acht gesunden Probanden (Abbildung 19).



**Abbildung 19:** Phagozytoseaktivität vor Beginn der Studie:  
Gesunde Probanden versus septische Patienten  
(Gruppe I sowie Gruppe II)

Zwischen den Gruppen I und II gab es vor Beginn der Studie keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf die Phagozytoserate ( $p=1$ ). Vor Beginn der CVVH sowie nach 60h wurden die Phagozytoseraten gemessen. Im Gruppenvergleich ergab sich ein

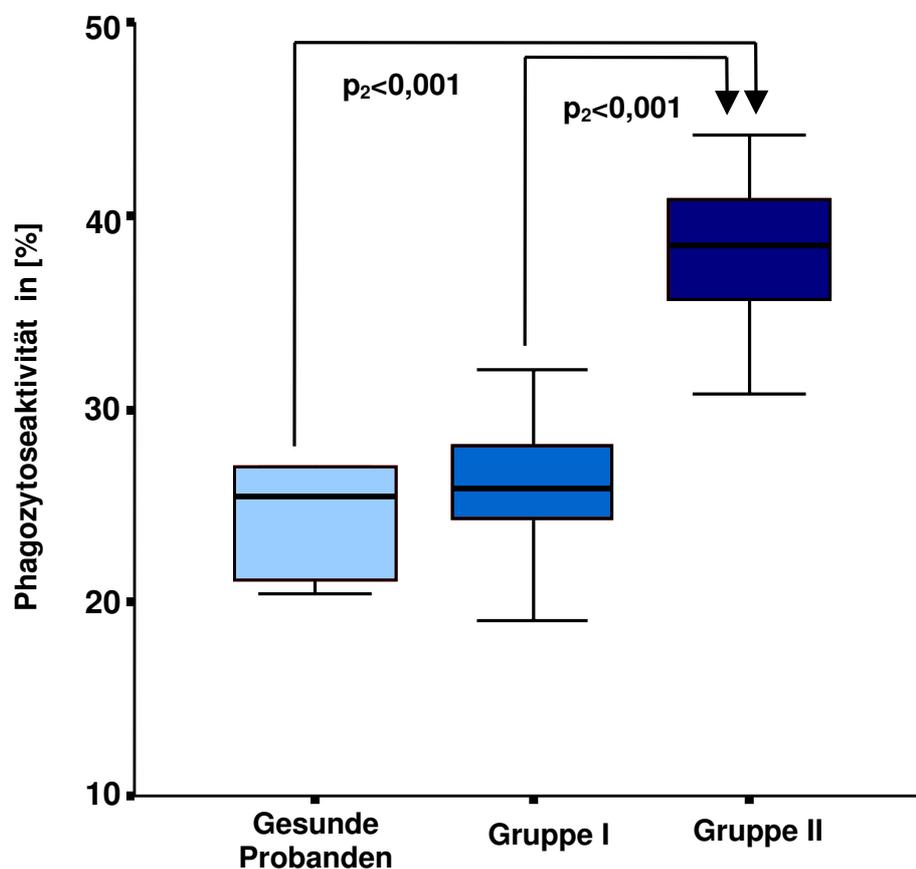
Unterschied vom ersten zum dritten Tag. Die Phagozytoseaktivität sank in der Gruppe II vom ersten Tag zum dritten Tag signifikant ab ( $p_4=0,044$ ;  $p_7=0,036$ ). In der Gruppe I blieb die Phagozytoserate unverändert hoch ( $p_4=0,156$ ,  $p_7=0,612$ ) (Abbildung 20).



**Abbildung 20:** Phagozytoseaktivität über 3 Tagen in beiden Gruppen im Vergleich

#### 4.11.2. Auswirkung septischen Ultrafiltrates auf Vollblut gesunder Probanden

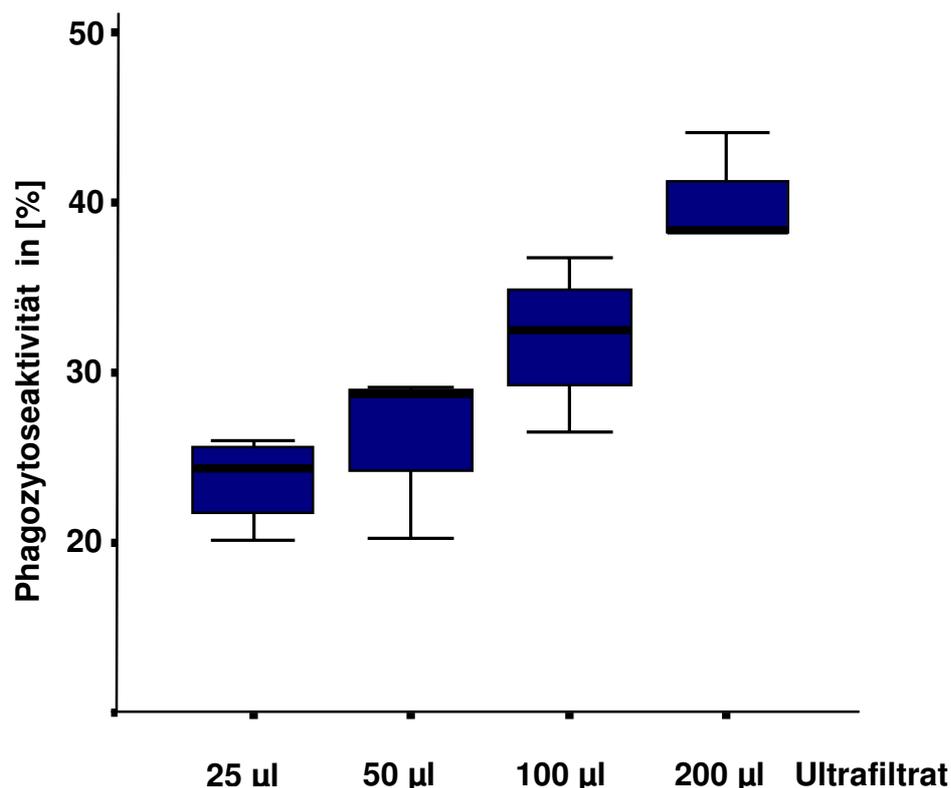
Die Inkubation von Vollblutproben gesunder Probanden mit Ultrafiltraten von Patienten der Gruppe II (n=9) führten zu einem hoch signifikanten Anstieg der Phagozytoseaktivität im Vergleich zu Ultrafiltraten der Gruppe I (n=10). In den Kontrollansätzen unter Zugabe von Ultrafiltrat von 3 hämofiltrierten gesunden Probanden zeigte sich keine Veränderung in der Phagozytoseaktivität (Abbildung 21).



**Abbildung 21:** Phagozytoseaktivität nach Zugabe von septischen Ultrafiltrat zu Vollblut gesunder Probanden

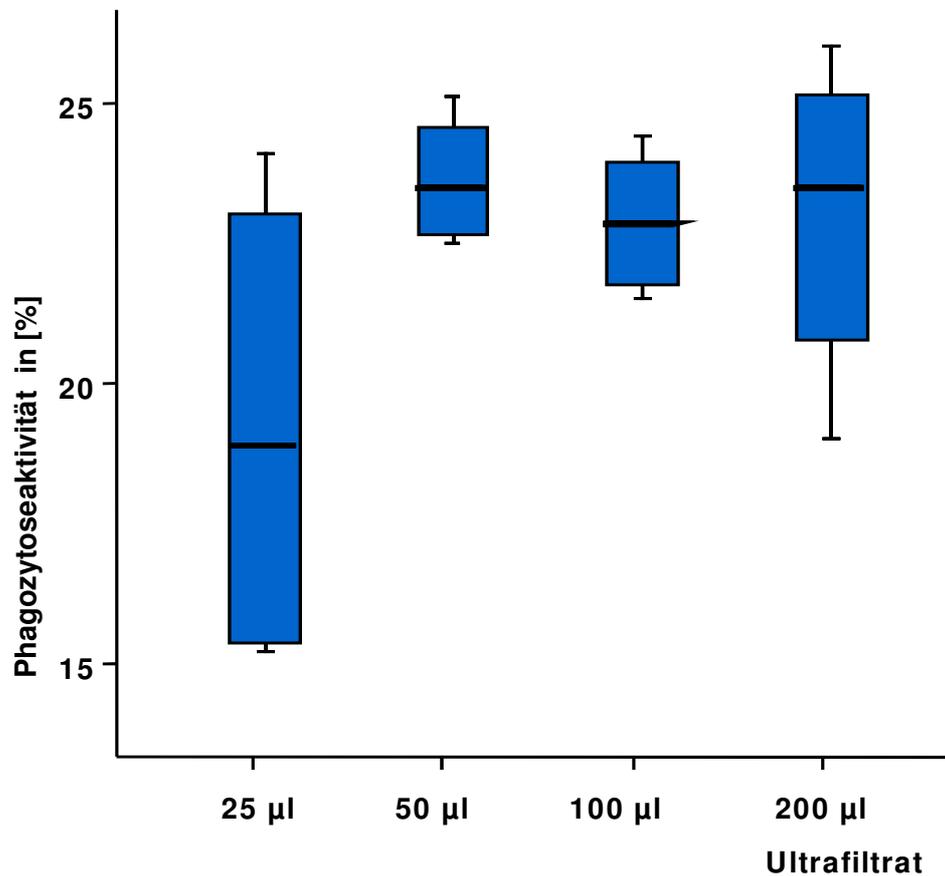
#### 4.11.3. Dosis-Wirkungsabhängigkeit zwischen Phagozytoserate und zugeführter Ultrafiltrationsmenge

In weiteren Untersuchungen mit den Ultrafiltraten der großporigen Hämofiltrationsmembran zeigte sich eine Dosis-Wirkungsabhängigkeit. Die gewählten Konzentrationen betragen jeweils 25µl, 50µl, 100µl sowie 200µl des Ultrafiltrates von der Standard Hämofiltrationsmembran und der großporige Hämofiltrationsmembran. Bei Verwendung septischen Ultrafiltrates der großporigen Hämofiltrationsmembran zeigte sich eine streng dosisabhängige Steigerung der Phagozytoseaktivität im Vollblut gesunder Probanden ( Basiswerte vs. 100µl  $p < 0.05$ , Basiswerte vs. 200µl  $p < 0.01$ ) ( $p_4 = 0,007$ ) (Abbildung 22).



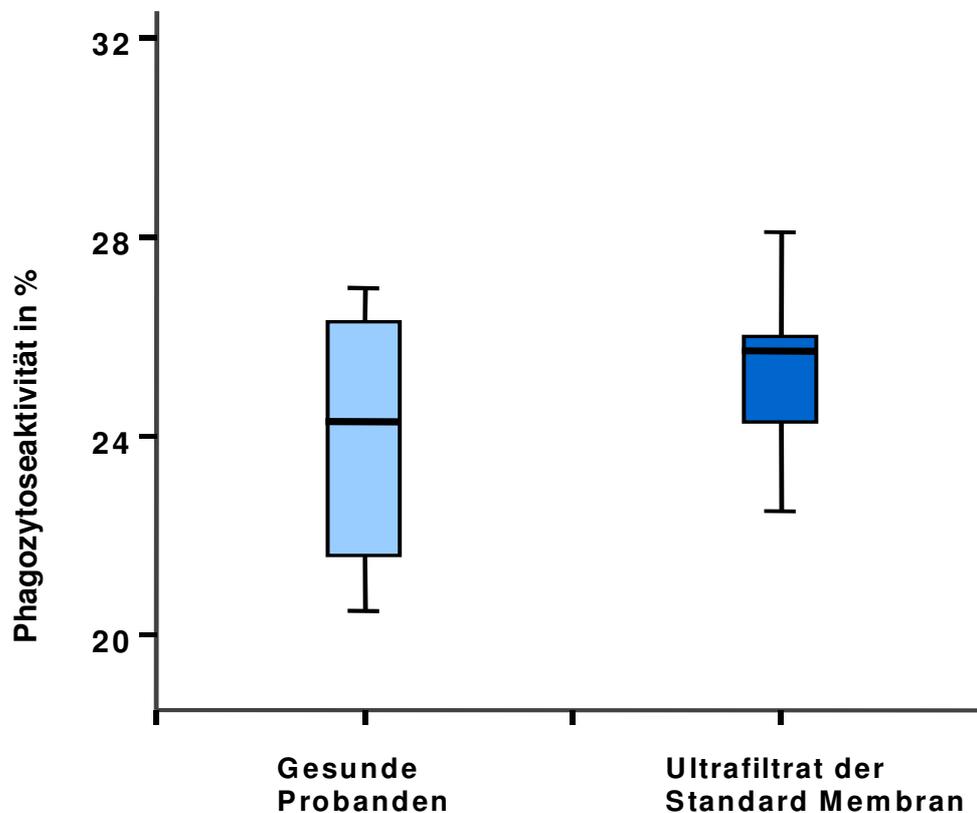
**Abbildung 22:** Dosis-Wirkungsabhängigkeit der Phagozytoseaktivität von der Konzentration des Ultrafiltrates in Vollblut gesunder Probanden bei Verwendung septischen Ultrafiltrats der großporigen Hämofiltrationsmembran ( $p_4 = 0,007$ )

Im Gegensatz dazu zeigte das Ultrafiltrat der Standard Membran keinen konzentrationsabhängigen Effekt auf die Phagozytoserate der selben gesunden Probanden ( $p_4=0,064$ ) (Abbildung 23).



**Abbildung 23:** Phagozytoseaktivität in Vollblut gesunder Probanden unter Verwendung septischen Ultrafiltrates der Standard Hämofiltrationsmembran in steigender Konzentration des Ultrafiltrates ( $p_4=0,064$ )

Die Phagozytoserate unterschied sich nicht zu der gesunder Probanden ( $p_2=0,248$ ) (Abbildung 24).



**Abbildung 24:** Phagozytoseaktivität in Vollblut gesunder Probanden (n=8) sowie unter Verwendung septischen Ultrafiltrates der Standard Hämofiltrationsmembran (n=10) ( $p_2=0,248$ )

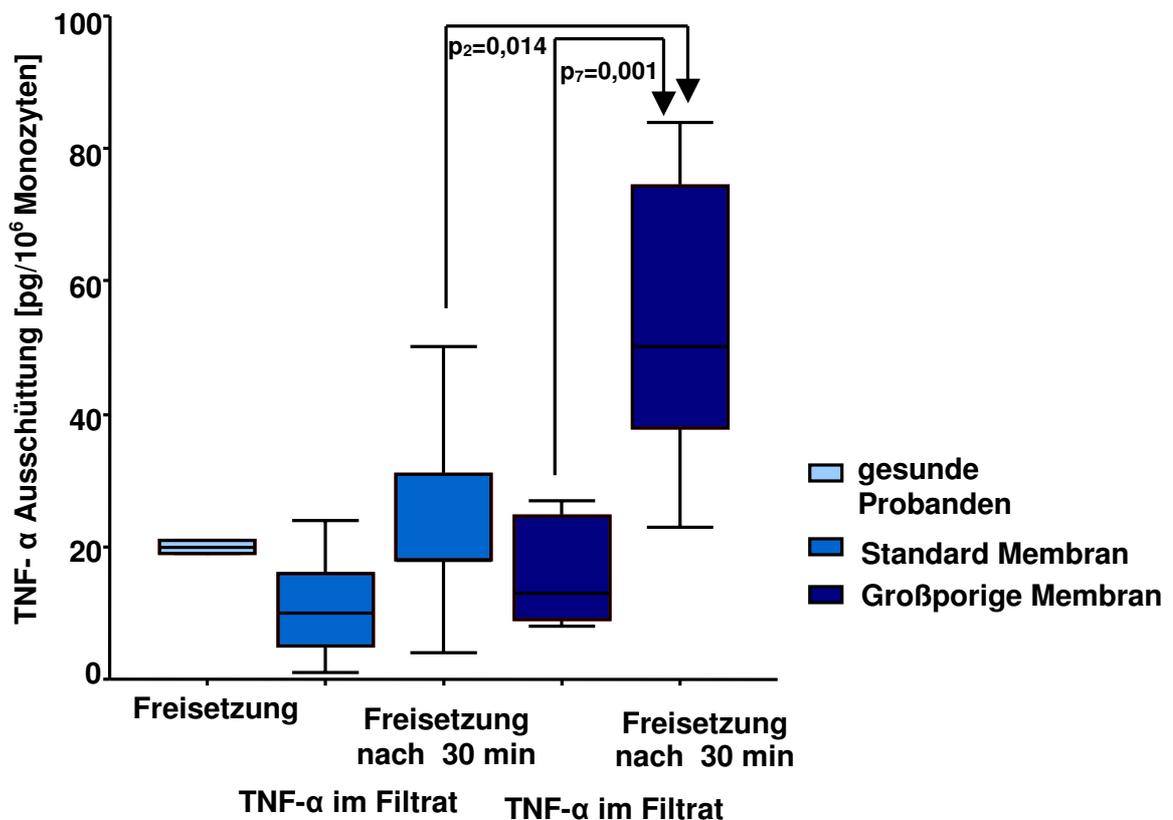
#### 4.12. Tumornekrosefaktor alpha im Ultrafiltrat

Zur Analyse der Eliminationsfähigkeit der großporigen Hämofiltrationsmembran für TNF- $\alpha$ , wurden in beiden Gruppen Messungen zur Bestimmung der TNF- $\alpha$  Konzentrationen im Ultrafiltrat durchgeführt. Die TNF- $\alpha$  Konzentrationen im Ultrafiltrat der Standard Hämofiltrationsmembran betragen 30 Minuten nach Beginn der Hämofiltrationstherapie 10,2 pg/ml (4,6-17,3) während sich in den Ultrafiltraten der großporigen Hämofiltrationsmembran TNF- $\alpha$  Konzentrationen von 13,5 pg/ml (9,0-25,1) nachweisen ließen. Dieser Gruppenunterschied in den TNF- $\alpha$  Ultrafiltrat-Konzentrationen war statistisch nicht signifikant ( $p_2=0,195$ ).

#### 4.12.1. Immunmodulatorischer Effekt des Ultrafiltrates auf die Monozyten

#### 4.12.2. Auswirkungen septischen Ultrafiltrats auf die TNF- $\alpha$ Ausschüttung in Monozyten

Die TNF- $\alpha$  Konzentrationen in den Ultrafiltraten waren ohne signifikante Differenz. Jedoch zeigte sich ein erheblicher Unterschied in der biologischen Aktivität in Bezug auf die TNF- $\alpha$  Ausschüttung in Monozyten gesunder Probanden. Die Inkubation von mononuklearen Zellen gesunder Probanden mit Ultrafiltrat der Standard Hämofiltrationsmembran zeigte einen kleinen jedoch nicht signifikanten Anstieg der TNF- $\alpha$  Ausschüttung ( $p_7=0,072$ ) (Abbildung 25). Im Vergleich dazu zeigte die Stimulation der gesunden Zellen mit septischen Ultrafiltrat der großporigen Hämofiltrationsmembran einen hoch signifikanten Anstieg der TNF- $\alpha$  Ausschüttung ( $p_7=0,001$ ) (Abbildung 25). Es fanden sich zwischen den Gruppen ein hochsignifikanter Unterschied in der monozytären TNF- $\alpha$  Ausschüttung ( $p_2=0,014$ ) (Abbildung 25).



**Abbildung 25:** TNF- $\alpha$  Ausschüttung gesunder Monozyten unter Zugabe von septischen Ultrafiltraten. Vergleich zwischen der Standard- und Großporigen Hämofiltrationsmembran sowie gesunden Probanden

#### 4.12.3. Ausschüttung von TNF- $\alpha$ mit Ultrafiltrat nach 12 h CVVH Therapie mittels großporiger Hämofiltrationsmembran

Zusätzliche Untersuchungen des nach mehreren Stunden CVVH Therapie entnommenen Ultrafiltrates ergaben eine ähnliche Reaktion der Ausschüttung von TNF- $\alpha$ . Das Ultrafiltrat, welches 12 Stunden nach Beginn der Nierenersatztherapie mit der großporigen Hämofiltrationsmembran entnommen wurde, hatte immer noch eine stimulierende Wirkung auf die Ausschüttung von TNF- $\alpha$  in den Monozyten von gesunden Probanden ( $p_2=0,017$ ) (Abbildung 26).

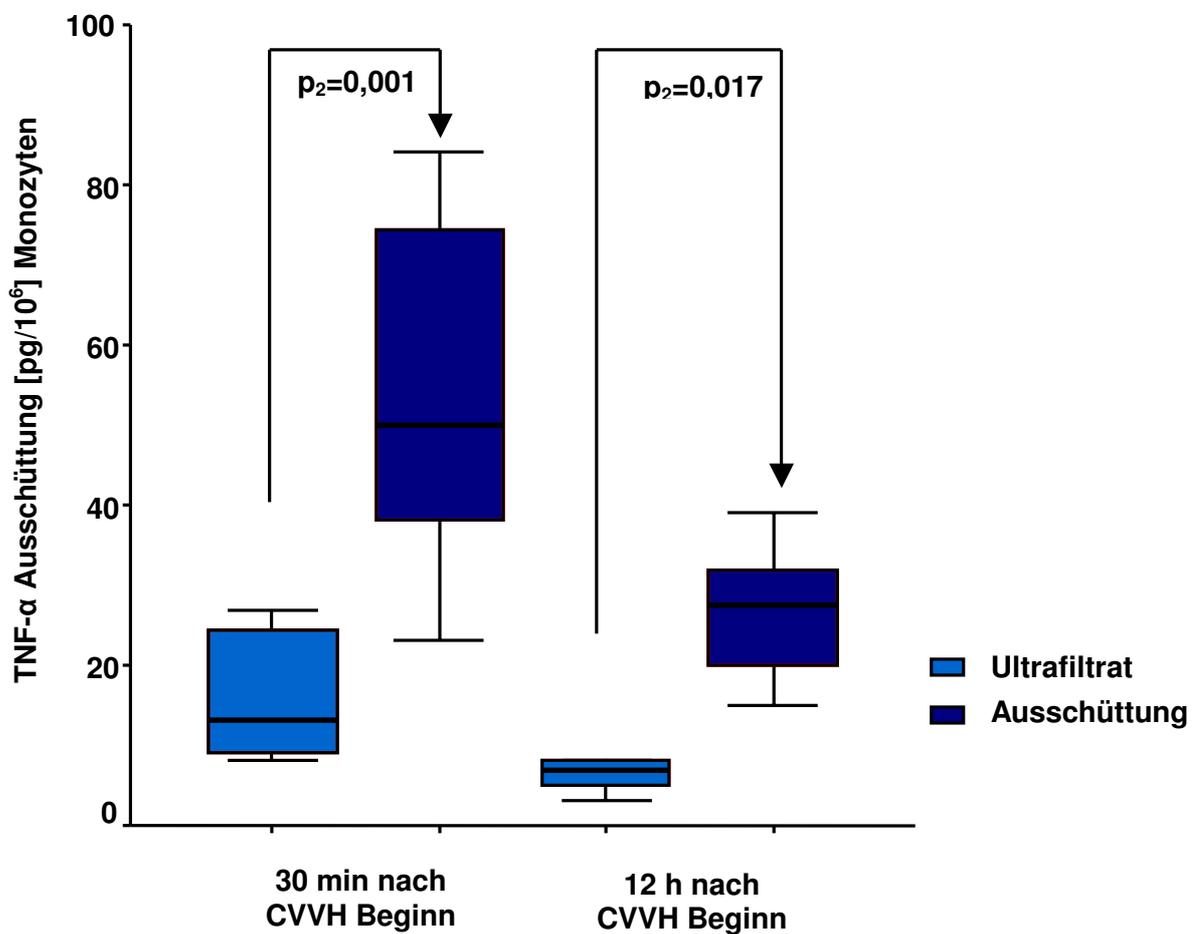
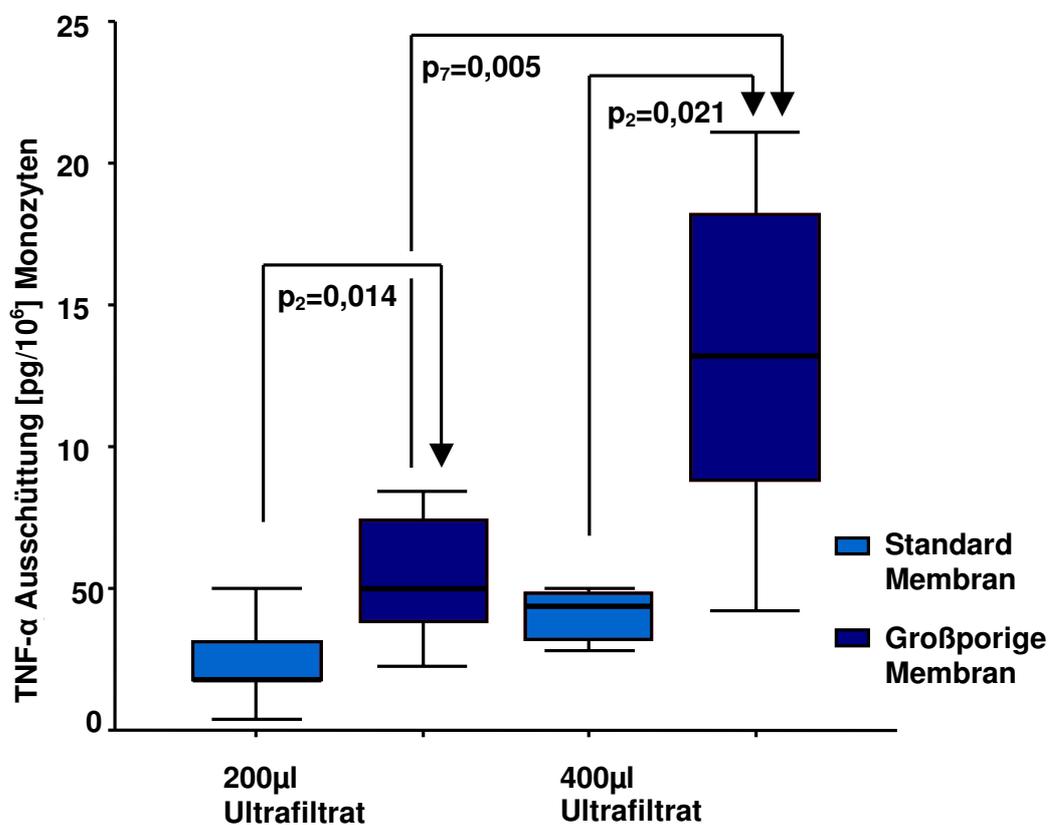


Abbildung 26: TNF- $\alpha$  Ausschüttung nach Zugabe von Ultrafiltrat 12h nach Anschluss der CVVH

#### 4.12.4. Dosisabhängige Stimulation der Ausschüttung von TNF- $\alpha$ mittels Ultrafiltrates

Zusätzlich konnte eine dosisabhängige Stimulation der Ausschüttung von TNF- $\alpha$ , in den Monozyten von gesunden Probanden für die großporige Hämofiltrationsmembran, gezeigt werden (Abbildung 27). Die Signifikanz der Ausschüttung in der großporigen Membran steigt gegenüber der Standard Membran von 200 $\mu$ l auf 400 $\mu$ l an (Abbildung 27). In der Standard Membran konnte keine Dosisabhängigkeit nachgewiesen werden ( $p_7=0,165$ ).



**Abbildung 27:** Konzentrationsabhängige TNF- $\alpha$  Ausschüttung im Vergleich der Standard vs. der Großporigen Hämofiltrationsmembran

## 5. Diskussion

Das Krankheitsbild der Sepsis, vergesellschaftet mit einem Multiorganversagen, ist eine häufige Todesursache bei Patienten auf Intensivstationen. Die am häufigsten betroffenen Organsysteme während einer Sepsis sind die Lungen, das Herz sowie die Nieren<sup>15</sup>. Dementsprechend ist die Sterblichkeit bei Patienten mit Sepsis und einem akutem Nierenversagen höher (75 %) als bei einem akutem Nierenversagen ohne Sepsis (zirka 45 %)<sup>21</sup>. Unterstützende Maßnahmen zur Lebenserhaltung der entsprechenden Organsysteme stellen Beatmungssysteme, Medikamente zur Kreislaufunterstützung sowie unter anderem die Nierenersatztherapie dar. Diese wird im klinisch-intensivmedizinischen Alltag am häufigsten als kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration zur Behebung eines Volumenüberschusses, einer Hyperkämie, einer metabolischen Azidose sowie zur Behandlung von Symptomen und Zeichen einer schweren Urämie durchgeführt. In der Therapie der Sepsis bei einem akutem Nierenversagen im Rahmen eines Multiorganversagens ist die kontinuierliche veno-venöse Hämofiltration unentbehrlich.

Die Genese einer Sepsis ist multifaktoriell und kann nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft nicht ursächlich erklärt werden<sup>108</sup>. Eine Reihe von inflammatorischen und antiinflammatorischen Prozessen spielen bei der Entstehung und Unterhaltung einer Sepsis eine wichtige Rolle<sup>108</sup>. Zu den wesentlichen Mediatoren werden die Zytokine gezählt, welchen in der Pathogenese der Sepsis diverse Aufgaben zugeschrieben werden. Eine Vielzahl von wissenschaftlichen Arbeiten sind in letzter Zeit, mit dem Konzept der Mediatorenelimination während einer Sepsis mit Hilfe der Nierenersatztherapie<sup>31</sup>, durchgeführt worden. Eine Elimination von Zytokinen während einer Sepsis ist mit den derzeit gebräuchlichen Hämofiltrationsmembranen nicht zum Überlebensvorteil der Patienten gelungen<sup>66,75,76</sup>.

So wirft diese mögliche Therapieform einige Fragen auf, deren Beantwortung eine Reihe von Untersuchungen bedarf:

1. Ist eine unspezifische Elimination von inflammatorischen sowohl als auch antiinflammatorischen Mediatoren mit Hilfe der CVVH von Vorteil?
2. Sollten spezielle Mediatoren entfernt werden?
3. Wann ist der beste Zeitpunkt um die Mediatoren aus dem Blut der Patienten während einer Sepsis zu entfernen?

4. Kann mit Hilfe der CVVH ein positiver Einfluss auf das Immunsystem während der Sepsis erzielt werden?

Ein möglich neuer Therapieansatz ist die Einführung einer neuen Hämofiltrationsmembran mit einem größeren Porendurchmesser, wie er in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde. Mit diesem größeren Porendurchmesser der Hämofiltrationsmembran wäre eine Elimination von Substanzen, welche einen immunmodulatorischen Einfluss in der Sepsis von Patienten spielen, denkbar. Ferner konnte die neue großporige Hämofiltrationsmembran im Vergleich zu einer herkömmlichen Hämofiltrationsmembran bereits in einem Tiermodell erfolgreich getestet werden und das Überleben septischer Tiere deutlich verlängern<sup>67</sup>.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine neue großporige Hämofiltrationsmembran an Patienten im septischen Schock mit Multiorganversagen im Rahmen einer Pilotstudie klinisch evaluiert. Im Vordergrund der vorliegenden Studie stand eine sichere klinische Anwendung der neuen Technik. Mit der Einführung der neuen Hämofiltrationsmembran sollte zudem untersucht werden, ob diese eine immunmodulatorische Komponente aufweist. Im Speziellen wurde die Beeinflussung der Phagozytoseaktivität von Monozyten, Makrophagen und polymorphkernigen Leukozyten, welche eine wichtige Rolle in der Abwehr von Keimen spielen, untersucht. Es sollte außerdem die Frage geklärt werden, ob das Ultrafiltrat der großporigen Hämofiltrationsmembran eine biologische Aktivität aufweist, als indirektes Zeichen, dass substantielle Mengen biologisch aktiver Mediatoren effizient eliminiert werden. Ein besonderes Augenmerk wurde hierbei auf TNF- $\alpha$  gesetzt, welcher eine entscheidende Rolle im Rahmen des akuten Nierenversagens zu spielen scheint<sup>36</sup>. Um diesen Fragen nachzugehen, wurde die Pilotstudie kontrolliert, mit einer Kontrollgruppe, welche mit einer Standard Hämofiltrationsmembran behandelt wurde, durchgeführt.

Die demographischen Daten der Patienten, das Alter, das Geschlecht sowie die Art der Grundkrankheit unterschieden sich in beiden Gruppen vor Studienbeginn nicht. Auch in Bezug auf die Art der Sepsis sowie die auslösenden Erreger waren keine Unterschiede zwischen den Gruppen nachzuweisen. Mehrfachinfektionen sowie die Erregernachweise waren in beiden Gruppen gleichverteilt. Zur objektiven Beurteilung des Schweregrades der Sepsis wurde der APACHE-II-Score bei allen Patienten vor Beginn der Studie bestimmt. Dieser Parameter wird zur Vergleichbarkeit bei

Untersuchungen mit septischen Patienten empfohlen und erlaubt eine Abschätzung der Krankheitsschwere sowie eine prognostische Wahrscheinlichkeit der Mortalität der Patienten<sup>77,78</sup>.

In der Studie konnten in beiden Gruppen vergleichbarere APACHE-II-Score Werte vor Beginn verzeichnet werden. In Bezug auf die prospektive Randomisierung waren die Patienten in beiden Gruppen im Hinblick auf die Art sowie den Grund der Sepsis und den Schweregrad ihrer Erkrankung nicht signifikant unterschiedlich. Eine Vergleichbarkeit vor Studienbeginn ist somit gegeben.

Alle rekrutierten Patienten sind im Verlauf ihres Aufenthaltes im Krankenhaus intensivpflichtig geworden und haben eine Sepsis entwickelt. Sie befanden sich zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses im Vollbild des septischen Schockes, waren katecholamin- sowie beatmungspflichtig. Die Kreislaufparameter, wie der mittlere arterielle Druck, die Herzfrequenz, das Herzminutenvolumen, der systemisch vaskuläre Widerstandsindex sowie der zentrale Venendruck waren vor und während der Studie in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Die kardio-vaskulären Parameter sind über den Zeitraum der Studie vergleichbar gewesen. Obwohl ein Proteinverlust am Anfang der Studie in der großporigen Hämofiltrationsgruppe zu verzeichnen war, zeigte sich kein Abfall im mittleren arteriellen Blutdruck. Es bestand keine zusätzliche Notwendigkeit zur Verabreichung von Katecholaminen in der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran. Unter der kontinuierlichen veno-venöse Hämofiltrationstherapie zeigte sich eine Stabilisierung der Hämodynamik jeweils mit schrittweiser Reduktion der Katecholamine. Die benötigten Noradrenaldosen fielen in der großporigen Hämofiltrationsgruppe signifikant über einen Zeitraum von 72 Stunden ab. Im Vergleich sanken die benötigten Noradrenaldosen in der Standard-Hämofiltrationsgruppe ebenfalls, jedoch nicht signifikant. Ein positiver Effekt zeigte sich außerdem in der Wiederaufnahme der Nierenfunktion in der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran. Die renale Funktion im Rahmen des akuten Nierenversagens erholte sich in der großporigen Hämofiltrationsmembrangruppe bei 8 von 16 Patienten im Vergleich zu 3 von 14 Patienten in der Standard-Hämofiltrationsgruppe über den Zeitraum der Studie. Ob diese beobachteten Effekte auf die neue Membran zurückzuführen sind, kann bei der geringen Patientenfallzahl nicht eindeutig beurteilt werden. Die Überführung eines oligurisch/anurischen Nierenversagens in ein polyurisches Nierenversagen, wie es im zeitlichen Zusammenhang steht im Verlauf

eines akuten Nierenversagens, könnte durch die neue Membran getriggert sein. Da die großporige Hämofiltrationsmembran alle 12 Stunden gegen eine Standardmembran gewechselt wurde, bedarf es weiterer Untersuchungen, um die großporige Membran genauer zu charakterisieren. Bei weiteren Untersuchungen sollte in jeder Gruppe nur eine Hämofiltrationsmembran eingesetzt werden.

Nach den berechneten APACHE-II-Score Werten ist eine prognostische Mortalität von 50 - 70 % bei den Patienten zu erwarten gewesen und letztendlich auch in beiden Gruppen vorgefunden worden. Die Mortalität bei den Patienten in der Studie war mit zirka 65 % in beiden Gruppen hoch, lag aber im prognostizierten Bereich. Eine Verbesserung der Mortalität im Rahmen eines akuten Nierenversagens konnte mit Hilfe einer erhöhten Ultrafiltrationsrate unter CVVH Therapie nachgewiesen werden <sup>79</sup>. Der Grund für dieses Ergebnis ist von den Autoren jedoch nicht untersucht und erörtert worden. Es könnte sein, dass durch eine bessere Urämiekontrolle das Überleben verbessert, beziehungsweise durch die Entfernung von Mediatoren das Überleben der Patienten begünstigt wird. Geht man von letzterem aus, wäre durch eine Entfernung von Mediatoren mittels großporiger Hämofiltration eine Verringerung der Sterblichkeit möglich, ohne den Umsatz zu erhöhen. In der vorliegenden Studie waren die Sterberaten in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Die Anzahl der Patienten war zu gering, um eine Aussage zur Sterblichkeit zuzulassen. So war auch die Fragestellung nach der Sterblichkeit kein primärer Endpunkt im vorliegenden Studiendesign. Ob der neuen großporigen Hämofiltrationsmembran auch eine Fähigkeit zugrunde liegt, eine Verbesserung der Mortalität zu erzielen, müssen weitere Analysen mit höheren Patientenzahlen zeigen. Tendenzen in diese Richtung sind unter anderem in Bezug auf die aufgezeichneten Score Werte auch bei der kleinen Patientenzahl aufgetreten. In den Multiorgan Dysfunktion Score Werten zeigte sich während der Studie ein signifikanter Abfall in der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran nach drei Tagen der Therapie. Ein signifikanter Unterschied offenbarte sich ebenfalls zwischen den Gruppen am Ende der Studie in Bezug auf den Multiorgan Dysfunktion Score. Diese Verbesserung des Multiorgan Dysfunktion Score wird durch ein fallenden, jedoch nicht signifikanten Abfall des SOFA Scores, in der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran unterstützt. Die Glasgow Koma Skala ist in beiden Scores nicht berücksichtigt, da alle Patienten analgosediert bzw. unter Zufuhr von Katecholaminen standen. Aus diesem Grunde sind die Ergebnisse der errechneten

Score Systeme nur mit Vorsicht zu verwerten. Eine Erklärung für die Verbesserung des Multiorgan Dysfunktion Score könnte in der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran, eine geringere Katecholaminzufuhr und somit eine Verbesserung in der Hämodynamik der Patienten, sowie in der Standard-Hämofiltrationsgruppe der Abfall der Thrombozyten sein. Ob die leicht unterschiedliche Katecholaminzufuhr sowie die Verbesserung in den Score Werten auf die unterschiedliche Hämofiltrationsmembran zurückzuführen ist oder ob es nur ein zufälliger Effekt ist, müssen größere Patientenpopulationen in weiteren Studien zeigen. Ebenfalls bedarf es weiterer Untersuchungen, um die Bedeutung des abfallenden Procalcitoninspiegels unter großporiger Hämofiltration zu eruieren. Eine Beeinflussung des Procalcitoninplasmaspiegels mit einer gebräuchlichen Hämofiltrationstherapie (Porengröße eines Standard - Hämofilters zirka 30 kDa) konnte bisher nicht gezeigt werden<sup>80</sup>. Die Procalcitoninplasmakonzentration ist in der Regel sehr stabil. Sie nimmt in 24 Stunden nach Blutentnahme (bei Raumtemperatur) nur um zirka 12 % und bei 4°C nur um 6 % ab, welches auf eine sehr stabile Struktur des Procalcitonin deutet<sup>81</sup>. Die Halbwertszeit von Procalcitonin im Plasma beträgt zirka 20 bis 24 Stunden<sup>82,83,84,85,86</sup>, jedoch verlängert sich die Eliminationshalbwertszeit häufig unter klinischen Bedingungen<sup>85,86</sup>. Im septischen Schock bleiben die Plasmaspiegel von Procalcitonin aufgrund der kontinuierlichen Produktion erhöht<sup>87</sup>. Der signifikante Rückgang des Plasmaspiegels von Procalcitonin in der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran in unserer Studie ist somit kein Phänomen der Stabilität oder der Kinetik des Proteins. Diese Abnahme des Procalcitonins im Plasma der Patienten, ist am ehesten auf die erhöhte Clearance-Fähigkeit der großporigen Membran für mittelgroße Moleküle zurückzuführen. Procalcitonin hat eine Molekülgröße von zirka 13 kDa und ist durch die Porengröße der großporigen Hämofiltrationsmembran von zirka 60 kDa gut eliminierbar. Als Diagnoseparameter ist das Procalcitonin bei bakteriellen Infektionen mit systemisch – entzündlicher Reaktion im klinischen Einsatz<sup>88</sup>. Neuere Studien brachten Erkenntnisse hervor, nach denen Procalcitonin auch eine Rolle als Mediator im septischen Geschehen zu spielen scheint. Eine zusätzliche Gabe von exogenem Procalcitonin im septischen Ereignis von Tieren steigerte die Mortalität signifikant<sup>89</sup>. Im selben Tiermodell konnte die Sterblichkeit mit einem Antiserum gegen Procalcitonin in der experimentellen Sepsis gesenkt werden<sup>89</sup>. Weitere Daten deuten ebenfalls auf eine erhöhte Mortalität bei hohen Procalcitonin Spiegeln hin bzw. auf eine Senkung der

Sterblichkeit im septischen Tierexperiment, wenn Procalcitonin neutralisiert wurde<sup>90,91</sup>. Ob diese Modelle auch auf den Menschen übertragbar sind, müssen weitere Untersuchungen hervorbringen. Eine Elimination von Procalcitonin durch die neue großporige Hämofiltrationsmembran wäre in diesem Zusammenhang ein neuer, möglicher Therapieansatz bei Patienten in der Sepsis bzw. im septischen Schock.

Ein weiterer wichtiger klinischer Aspekt ist der Eiweißhaushalt im akuten Nierenversagen während einer Sepsis mit möglicher Beeinträchtigung durch die großporigen Hämofiltrationsmembran. Die Sicherheit der Patienten stand im Vordergrund der Studie, weshalb die Studiendauer auf fünf Tage festgelegt wurde. Ein denkbarer größerer Proteinverlust sollte somit begrenzt werden. Trotz eines signifikanten Proteinverlustes, vor allem in den ersten Stunden der Therapie in der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Serumproteinwerten in beiden Gruppen. Den größten Anteil der Serumproteine kommt dem Albumin zu, welches in der Leber synthetisiert wird. Es dient zur Aufrechterhaltung des intravasalen onkotischen Druckes sowie dem Transport von unlöslichen Stoffen. Da es zirka 60 % des Gesamteiweißgehaltes im Blutplasma ausmacht, würde eine hämofiltrationsbedingte Elimination des Albumins eine hämodynamische Instabilität nach sich ziehen. Aus diesem Grund kam der Überwachung des Albuminspiegels der Patienten eine wichtige Rolle in der Studie zu. In der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran verzeichneten wir keinen signifikanten Abfall des Albumins im Serum, auch nicht nach direktem Wechsel der konventionellen auf die großporige Hämofiltrationsmembran. Das Albumin wurde in dieser Gruppe im Vergleich zur Standard-Hämofiltrationsgruppe signifikant in das Ultrafiltrat eliminiert, jedoch hat die Eliminationsfähigkeit der großporigen Hämofiltrationsmembran stark abgenommen. Dieses ist auf ein Einengen der Poren in der Membran zurückzuführen. Die Ursache liegt am wahrscheinlichsten in der Adsorption von Proteinen am Hämofilter unter Ausbildung einer Proteinschicht am Porenrand<sup>92</sup>. Da ein Albuminverlust im Ultrafiltrat zu verzeichnen war, die Plasmaspiegel von Albumin zum größten Teil dennoch stabil blieben und die Albuminsubstitution sich in beiden Gruppen nicht signifikant unterschied, kann davon ausgegangen werden, dass das Albumin in der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran durch die hepatische Neusynthese kompensiert wurde.

Diese Stabilisierung in Bezug auf den Albuminhaushalt der Patienten spiegelt sich ebenfalls im Gerinnungssystem, welches eine bedeutende Rolle im septischen Geschehen spielt, wider. Das Gleichgewicht des Gerinnungssystems mit pro – und antikoagulatorischen Komponenten sowie der Fibrinolyse ist in der Sepsis teilweise aufgehoben. Es kommt zu einer vermehrten Aktivierung der Gerinnung auf der Oberfläche der Gefäßendothelzellen, welche ungerichtet abläuft. Diese sogenannte disseminierte intravasale Gerinnung läuft im gesamten Gefäßsystem des Körpers ab. Durch die vermehrt ablaufende Gerinnung kommt es wiederum zu einem Mangel an anderen Faktoren, die im Normalfall diese überschüssige Reaktion verhindern. Aufgrund der vermehrten Aktivierung und des Verbrauches von Gerinnungsfaktoren besteht wiederum die Gefahr einer Verbrauchskoagulopathie mit einer erhöhten Blutungsneigung. Zu diesen Gerinnungsfaktoren zählen unter anderem Antithrombin III sowie Protein C. Während der Sepsis spielt die Konzentration von Protein C im Plasma eine besondere Rolle. Eine Korrelation zwischen niedrigen Protein C - Konzentrationen und einem erhöhten Mortalitätsrisiko bei Patienten mit schwerer Sepsis ist nachgewiesen <sup>93</sup>. Darüber hinaus ist das aktivierte Protein C in die Therapie der schweren Sepsis mit nachgewiesener Reduktion der 28 Tage Letalität integriert <sup>41</sup>. Da mit der großporigen Hämofiltrationsmembran die Elimination von größeren Molekülen, unter anderem Faktoren der Blutgerinnung wie Antithrombin III (zirka 60 kDa), Protein C (zirka 62 kDa) sowie Faktor II (zirka 69 kDa) gegeben ist, wurden diese Parameter der Blutgerinnung kontinuierlich gemessen. Die Gefahr der verstärkten Verbrauchskoagulopathie sowie eine Verstärkung der disseminierte intravasalen Koagulation könnte durch die großporige Hämofiltrationsmembran getriggert werden. Im Verlauf der Studie kam es allerdings zu keinem signifikanten Abfall der Gerinnungsparameter in beiden Gruppen. In der Zufuhr von Gerinnungsfaktoren zeigten sich desgleichen keine Gruppenunterschiede. Es konnte auch kein negativer Effekt auf das Gerinnungssystem, im speziellen in Bezug auf den vermehrten Verlust von Antithrombin III, Protein C sowie den Faktor II in der großporigen Hämofiltrationsgruppe nachgewiesen werden.

Eine weitere wichtige Einflussgröße im septischen Geschehen stellt die Phagozytose pathogener Keime dar. Die Phagozytoseaktivität ist ein immunologischer Parameter der Monozyten, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten. Er war bei allen Patienten zu Beginn der Studie stark erhöht. Bekannter weise zeigt die Phagozytoseaktivität bei

einer akuten bakteriellen Infektion beim Menschen einen Anstieg, um nach erfolgreicher Überwindung der Infektion wieder auf ihren Ausgangswert zurückzufallen<sup>94</sup>. In unserer Studie ergab sich eine zirka doppelt so hohe Phagozytoseaktivität im Blut der septischen Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden. Nach drei Tagen kontinuierlicher veno-venöser Hämofiltration war in der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran ein signifikanter Abfall der Phagozytoseaktivität im Blut der Patienten zu verzeichnen, währenddessen die Phagozytoseaktivität in der Kontrollgruppe unverändert blieb. In einem in vitro Assay konnte eine dosisabhängige Steigerung der Phagozytoseaktivität nach Inkubation mit Ultrafiltrat von der großporigen Hämofiltrationsmembran in gesunden Blutzellen in unserer Studie dargelegt werden. Im Gegensatz hierzu war die Phagozytoseaktivität nach Inkubation mit Ultrafiltrat von der Standard Hämofiltrationsmembran unverändert. Es zeigte sich kein Unterschied in der Phagozytoseaktivität von Zellen gesunder Probanden ohne Ultrafiltrat sowie Zellen welche mit Ultrafiltrat der konventionellen Hämofiltrationsmembran inkubiert wurden. Dieser Effekt der Immunmodulation ist aller Wahrscheinlichkeit nach, auf die neue Hämofiltrationsmembran zurückzuführen. Verschiedene Mediatoren mit immunmodulatorischen Eigenschaften, durch Filtration und Elimination der neuen Hämofiltrationsmembran in das Ultrafiltrat überführt, könnten einen Einfluss auf die Aktivität der polymorphkernigen Phagozyten nehmen. Dieser Effekt scheint nicht durch TNF- $\alpha$  induziert zu sein, da die TNF- $\alpha$  – Eliminations - Kapazität der großporigen Membran eingeschränkt ist. Ein Zytokin, welches ebenfalls eine Steigerung der Phagozytose bewirkt, ist das IL-1 $\beta$ <sup>95</sup>. Mit einem Molekulargewicht von zirka 17 kDa wäre IL-1 $\beta$  mit der neuen Membran hämofiltrierbar<sup>96</sup> und könnte für einen stimulierenden Effekt verantwortlich sein. Weitere Untersuchungen sollten einen möglichen Effekt des IL-1 $\beta$  prüfen, und auch andere Mediatoren versuchen nachzuweisen.

Ein bedeutendes bereits erwähntes Zytokin in der Entwicklung und Unterhaltung einer Sepsis ist der TNF- $\alpha$ <sup>53</sup>. So zeigt sich bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischen Schock bei einer Überproduktion von TNF- $\alpha$  eine zunehmende Schwere der Erkrankung sowie eine erhöhte Sterblichkeit<sup>55,58,59</sup>. Eine gezielte Veränderung der TNF- $\alpha$  Konzentration könnte in einer positiven Wirkung in dem Verlauf einer Sepsis resultieren. Die gemessenen Konzentrationen im Ultrafiltrat von TNF- $\alpha$  waren in unserer

Studie in beiden Gruppen gering. Auch die Blutkonzentrationen von TNF- $\alpha$  veränderten sich nicht signifikant in beiden Gruppen während der Studie. Zusätzliche Untersuchungen mit den Ultrafiltraten der großporigen Hämofiltrationsmembran zeigten einen hoch stimulierenden Effekt auf die Ausschüttung von TNF- $\alpha$  aus mononukleären Zellen gesunder Probanden. Dieser nachgewiesene, dosisabhängige Effekt konnte nicht im Versuchsansatz mit Ultrafiltrat der Standard Hämofiltrationsmembran erbracht werden. Das Ergebnis wird unterstützt durch Resultate von Hoffmann et al.<sup>97</sup>, welcher TNF- $\alpha$  Ausschüttung in peripheren Blutzellen nach Inkubation mit septischen Ultrafiltrat von konventioneller Hämofiltration gemessen hat. Das Ultrafiltrat alleine hatte in seinen Versuchen keinen Einfluss auf die Zellfunktion. Erst nach Zusatz geringer Mengen von Endotoxin zeigte sich eine signifikante Ausschüttung von TNF- $\alpha$  und anderen Mediatoren in den PBM Zellen<sup>97</sup>.

Diese Ergebnisse unterstützen die Resultate der vorliegenden Arbeit und deuten auf eine erhöhte Fähigkeit der Immunmodulation der neuen Hämofiltrationsmembran gegenüber der Standard Hämofiltrationsmembran hin. Inwieweit unter anderem Endotoxine bzw. Bruchstücke von Endotoxinen mit dem Verfahren der großporigen Hämofiltrationsmembran aus dem Blut eliminiert werden, welches die Ergebnisse unterstützen würde, muss weiteren Untersuchungen obliegen. Ob die Beobachtungen sich vorteilhaft oder eher ungünstig auf den Verlauf einer Sepsis bei Patienten auswirken, bleibt ebenfalls weiteren Untersuchungen vorbehalten. Es gibt Hinweise, dass die Aktivierung der polymorphkernigen Leukozyten eine entscheidende Rolle spielt bei der Induktion eines Organschadens während einer Sepsis. Aktivierte polymorphkernigen Leukozyten binden an das Zellendothel, um das Zellgewebe zu durchdringen, in dem sie eine Inflammation hervorrufen, Gefäßendothelschäden verursachen sowie eine Organdysfunktion auslösen<sup>95,98,99,100</sup>. Im Akutem Respiratorischem Dystress Syndrom führt eine Inhibierung der Funktion der neutrophilen Leukozyten zu einer Reduktion des alveolar-kapillären Membran Schadens<sup>109</sup>. Im Tiermodell an Mäusen sowie Hamstern konnte durch Depletion der Funktion der neutrophilen Leukozyten auch eine Verringerung der Lungengewebsverletzung im ARDS gezeigt werden<sup>101,102</sup>. Ähnliche Ergebnisse konnten auch für die Meningokokkensepsis sowie die Leberzellverletzung im Zusammenhang mit einer Sepsis nachgewiesen werden<sup>103,104</sup>.

Wie teilweise bereits erwähnt, weist die durchgeführte Studie Grenzen und Fehlermöglichkeiten in der Interpretation der Ergebnisse auf. Ein limitierender Faktor in unserer Studie ist die kleine Anzahl von Patienten. Mögliche Signifikanten werden in einer kleinen Studiengruppe nicht erfasst. Jedoch ist die Studie als Pilotprojekt mit dieser geringen Anzahl von Patienten geplant und durchgeführt worden, um mögliche Gefahren unter anderem einen zu großen Proteinverlust oder einen Verlust an Gerinnungsfaktoren aufzudecken. Ein weiterer Nachteil in der Studie war die fehlende doppelt blinde Randomisierung. Durch eine groß gewählte Sicherheit, in Bezug auf den Proteinverlust der neuen Hämofiltrationsmembran und den damit verbundenen Wechsel im 12 Stunden Rhythmus, wäre eine doppelt blinde Randomisierung schwierig zu realisieren gewesen. Eine Möglichkeit zur Durchführung einer doppelt blinden Randomisierung in den nächsten Untersuchungen wäre ein Wechsel in beiden Studiengruppen alle 12 Stunden oder ein Membranwechsel in beiden Gruppen im 24 Stundenrhythmus, mit dem Wissen der sicheren Anwendung der neuen Hämofiltrationsmembran.

In den Eigenschaften der Adsorption sowie Konvektion sind mit der neuen großporigen Hämofiltrationsmembran Veränderungen zu erwarten. Genauere Untersuchungen sollten im Vergleich zu den derzeit gebräuchlichen Hämofiltrationsmembranen erwartete neue Eigenschaften nachweisen. Weitere Untersuchungen im Blutplasma sowie im Ultrafiltrat der großporigen Hämofiltrationsmembran sollten nicht gemessene Mediatoren, unter anderem Interleukin-1 $\beta$  sowie Endotoxine beinhalten.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Verwendung der neuen großporigen Hämofiltrationsmembran sicher in der Anwendung mit Patienten ist. Es konnte aufgezeigt werden, dass der Gebrauch der großporigen Hämofiltrationsmembran keinen depressiven Einfluss auf die Hämodynamik, das Gerinnungssystem sowie den Proteinhaushalt der septischen Patienten hat. Des Weiteren wiesen wir eine Verbesserung in dem Multiple Organ Dysfunction Score, eine Absenkung der Phagozytoseaktivität, eine Besserung der Nierenfunktion sowie eine immunmodulatorische Komponente in der Therapie mit der großporigen Hämofiltrationsmembran nach. Ferner ist es mit der großporigen Hämofiltrationsmembran möglich, Substanzen zu eliminieren, die sowohl die Phagozytoseaktivität als auch die Freisetzung von TNF- $\alpha$  in mononuklearen Zellen stark beeinflussen.

## Zusammenfassung

In der vorliegenden prospektiven Arbeit wurde eine neue großporige Hämofiltrationsmembran an Patienten im septischen Schock und einem akutem Nierenversagen im Rahmen eines Multiorganversagens, welches den Einsatz einer kontinuierlichen veno-venösen Hämofiltration erforderte, in die klinische Praxis eingeführt. Die sichere Anwendung der Hämofiltrationsmembran stand bei diesem Pilotprojekt im Vordergrund. Eine immunmodulatorische Komponente konnte nachgewiesen werden, die sich in einer Abnahme der Phagozytoseaktivität der Monozyten, Makrophagen sowie den polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten im Blut der Patienten darstellte. Eine Abnahme des Multiple Organ Dysfunction Score Wertes im Verlauf der Studie sowie eine Zunahme der Nierenfunktion in der Gruppe der großporigen Hämofiltrationsmembran konnten ebenfalls aufgezeigt werden. Eine Elimination von TNF- $\alpha$  war nicht darstellbar. Jedoch geben die Elimination von Substanzen, welche eine starke TNF- $\alpha$  Freisetzung in mononuklearen Zellen sowie eine gesteigerte Phagozytoseaktivierung bewirken, Anlass für weiterführende Untersuchungen.

**Literatur:**

1. Axel W. Bauer. Körperbild und Leibverständnis. Die Sicht vom kranken und gesunden Menschen in der Geschichte der Medizin - dargestellt an ausgewählten Beispielen. Veröffentlicht in: Evangelische Akademie Iserlohn (Hrsg.): [ISBN 3-931845-26-5] Iserlohn 1998, 21-38.
2. Schuster HP. Definition und Diagnose von Sepsis und Multiorganversagen in Schuster HP (ed.) Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen Berlin Heidelberg New York, Springer-Verlag 2000, 4-6, 13-14.
3. J. W. Christman. Potential treatment of sepsis syndrome with cytokine-specific agents. Chest 1992,102 (2):613-617.
4. J. Cohen. The immunopathogenesis of sepsis. Nature 420 (6917) 2002, 885-891.
5. R. C. Bone, C. J. Grodzin, and R. A. Balk. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest 1997,112 (1):235-243.
6. M. Meisner. Procalcitonin (PCT). Georg Thieme Verlag 2000, 3. Auflage: 55-57.
7. M. Meisner. Procalcitonin (PCT). Georg Thieme Verlag 2000, 3. Auflage: 47.
8. D. C. Angus, W. T. Linde-Zwirble, J. Lidicker et al.: Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med. 2001, 29 (7):1303-1310.
9. Martin MA The respiratory distress syndrome in adults with gram-negative sepsis. In: Vincent JL (ed) 1991, 14.Springer :182-191.
10. J. R. Le Gall, S. Lemeshow, and F. Saulnier. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. JAMA 1993, 270 (24):2957-2963.

11. D. C. Angus and R. S. Wax. Epidemiology of sepsis: an update. *Crit Care Med.* 2001, 29 (7 Suppl):109-S116.
12. C. Brun-Buisson, F. Doyon, J. Carlet et al.: Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. French ICU Group for Severe Sepsis. *JAMA* 1995, 274 (12):968-974.
13. G. Friedman, E. Silva, and J. L. Vincent. Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med.* 1998,26 (12):2078-2086.
14. E. Baue. Multiple, progressive, or sequential systems failure. A syndrome of the 1970s. *Arch.Surg.* 1975,110 (7):779-781.
15. Schuster HP Definition und Diagnose von Sepsis und Multiorganversagen in Schuster HP (ed.) *Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen* Berlin Heidelberg New York, Springer-Verlag 2000, 3-26.
16. R. C. Bone, C. J. Grodzin, and R. A. Balk. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1997,112 (1):235-243.
17. J. Cohen. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 2002, 420 (6917):885-891.
18. Factors related to outcome in intensive care: French multicenter study. The French Multicenter Group of ICU Research; The Inserm Unit 169 of Statistical and Epidemiological Studies. *Crit Care Med.* 1989, 17 (4):305-308.
19. W. A. Knaus, E. A. Draper, D. P. Wagner, and J. E. Zimmerman. Prognosis in acute organ-system failure. *Ann.Surg.* 1985, 202 (6):685-693.
20. F. G. Brivet, D. J. Kleinknecht, P. Loirat, and P. J. Landais. Acute renal failure in intensive care units--causes, outcome, and prognostic factors of hospital mortality; a prospective, multicenter study. French Study Group on Acute Renal Failure. *Crit Care Med.* 1996, 24 (2):192-198.

21. H. Neveu, D. Kleinknecht, F. Brivet, P. Loirat, and P. Landais. Prognostic factors in acute renal failure due to sepsis. Results of a prospective multicentre study. The French Study Group on Acute Renal Failure. *Nephrol.Dial.Transplant.* 1996, 11 (2):293-299.
22. C. M. Mangano, L. S. Diamondstone, J. G. Ramsay et al.: Renal dysfunction after myocardial revascularization: risk factors, adverse outcomes, and hospital resource utilization. The Multicenter Study of Perioperative Ischemia Research Group. *Ann.Intern.Med.* 1998, 128 (3):194-203.
23. de Mendonca, J. L. Vincent, P. M. Suter et al.: Acute renal failure in the ICU: risk factors and outcome evaluated by the SOFA score. *Intensive Care Med.* 2000, 26 (7):915-921.
24. N. Schor. Acute renal failure and the sepsis syndrome. *Kidney Int.* 2002, 61 (2):764-776.
25. M. Davidman, P. Olson, J. Kohen, T. Leither, and C. Kjellstrand. Iatrogenic renal disease. *Arch.Intern.Med.* 1991, 151 (9):1809-1812.
26. B. S. Dixon and R. J. Anderson. Nonoliguric acute renal failure. *Am.J.Kidney Dis.* 1985, 6 (2):71-80.
27. Thijs and L. G. Thijs. Pathogenesis of renal failure in sepsis. *Kidney Int.Suppl* 1998, 66:34-37.
28. J. W. Lohr, M. J. McFarlane, and J. J. Grantham. A clinical index to predict survival in acute renal failure patients requiring dialysis. *Am.J.Kidney Dis.* 1988, 11 (3):254-259.
29. G. M. Chertow, C. L. Christiansen, P. D. Cleary et al.: Prognostic stratification in critically ill patients with acute renal failure requiring dialysis. *Arch.Intern.Med.* 1995, 155 (14):1505-1511.

30. F. Liano and J. Pascual. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int.* 1996, 50 (3):811-818.
31. S. De Vriese. Prevention and treatment of acute renal failure in sepsis. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2003, 14 (3):792-805.
32. R. Z. Khan and K. F. Badr. Endotoxin and renal function: perspectives to the understanding of septic acute renal failure and toxic shock. *Nephrol.Dial.Transplant.* 1999, 14 (4):814-818.
33. L. Baud, J. P. Oudinet, M. Bens et al.: Production of tumor necrosis factor by rat mesangial cells in response to bacterial lipopolysaccharide. *Kidney Int.* 1989, 35 (5):1111-1118.
34. U. K. Messmer, V. A. Briner, and J. Pfeilschifter. Tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide induce apoptotic cell death in bovine glomerular endothelial cells. *Kidney Int.* 1999, 55 (6):2322-2337.
35. V. B. Fiedler, I. Loof, E. Sander et al.: Monoclonal antibody to tumor necrosis factor--alpha prevents lethal endotoxin sepsis in adult rhesus monkeys. *J.Lab Clin.Med.* 1992, 120 (4):574-588.
36. P. N. Cunningham, H. M. Dyanov, P. Park et al.: Acute renal failure in endotoxemia is caused by TNF acting directly on TNF receptor-1 in kidney. *J.Immunol.* 2002, 168 (11):5817-5823.
37. R.Thadhani, M. Pascual, J. V. Bonvertre, Acute Renal Failure. *N Engl J Med* 1996, 1448-1460.
38. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *New England Journal of Medicine.* 2001;345:1368–1377.
39. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H et al.: Surviving Sepsis Campaign Management Guidelines Committee. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care*

- Med. 2004 Mar;32(3):858-73. Review. Erratum in: Crit Care Med. 2004 Jun;32(6):1448. Correction of dosage error in text. Crit Care Med. 2004 Oct;32(10):2169-70.
40. Sprung CL, Bernard GR, Dellinger RP: Guidelines for the management of severe sepsis and septic shock. Intensive Care Med 2001; 27,1-134.
  41. Kollef, M.H., Sherman, G. et al.: Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. Chest, 1999, 115: 462-74.
  42. Schuster, HP. und Müller-Werdan, U.: Systematik der Therapie bei Sepsis und Multiorganversagen, in Schuster, HP., Werdan, K. (Hrsg.): Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen, Berlin 1998, 87-104.
  43. van den Berghe G, Wouters P, Weekers F et al.: Intensive insulin therapy in the critically ill patients. N Engl J Med. 2001 Nov 8;345(19):1359-67.
  44. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF et al.: Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) study group. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. N Engl J Med. 2001 Mar 8;344(10):699-709.
  45. Annane D, Bellissant E, Bollaert PE et al.: Corticosteroids for treating severe sepsis and septic shock. Cochrane Database Syst Rev. 2004;(1):CD002243.
  46. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. New England Journal of Medicine. 2000;342:1301–1308.
  47. Geoghegan M, McAuley D, Eaton S, Powell-Tuck J. Selenium in critical illness. Curr Opin Crit Care. 2006 Apr;12(2):136-141.
  48. N. D. Burg and M. H. Pillinger. The neutrophil: function and regulation in innate and humoral immunity. Clin.Immunol. 2001, 99 (1):7-17.

49. H. H. Simms, R. D'Amico, and K. Burchard. Untreated intra-abdominal sepsis: lack of synergism between polymorphonuclear leukocyte (PMN) complement receptors CR1/CR3 and IgG receptor FcRIII. *J.Trauma* 1990, 30 (8):1027-1031.
50. H. H. Simms, M. M. Frank, T. C. Quinn et al.: Studies on phagocytosis in patients with acute bacterial infections. *J.Clin.Invest* 1989, 83 (1):252-260.
51. M. M. Moxey-Mims, H. H. Simms, M. M. Frank et al.: The effects of IL-1, IL-2, and tumor necrosis factor on polymorphonuclear leukocyte Fc gamma receptor-mediated phagocytosis. IL- 2 down-regulates the effect of tumor necrosis factor. *J.Immunol.* 1991,147 (6):1823-1830.
52. Woltmann, L. Hamann, A. J. Ulmer et al.: Molecular mechanisms of sepsis. *Langenbecks Arch.Surg.* 1998, 383 (1):2-10.
53. E. Spooner, N. P. Markowitz, and L. D. Saravolatz. The role of tumor necrosis factor in sepsis. *Clin.Immunol.Immunopathol.* 1992,62 (1 Pt 2):11-17.
54. Schuster HP Abriss der Pathophysiologie als Grundlage der Therapie in Schuster HP (ed.) *Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen* Berlin Heidelberg New York, Springer-Verlag 2000, 27-73.
55. L. C. Casey, R. A. Balk, and R. C. Bone. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann.Intern.Med.* 1993, 119 (8):771-778.
56. R. C. Bone. The pathogenesis of sepsis. *Ann.Intern.Med.* 1991, 457-469.
57. C. Natanson, R. L. Danner, R. J. Elin et al.: Role of endotoxemia in cardiovascular dysfunction and mortality. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* challenges in a canine model of human septic shock. *J.Clin.Invest* 1989, 243-251.

58. Waage, A. Halstensen, and T. Espevik. Association between tumour necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet* 1987, (8529):355-357.
59. Gardlund, J. Sjolín, A. Nilsson et al.: Plasma levels of cytokines in primary septic shock in humans: correlation with disease severity. *J.Infect.Dis.* 1995, 172 (1):296-301.
60. M. J. Jansen, T. Hendriks, R. Hermsen et al.: A monoclonal antibody against tumour necrosis factor- $\alpha$  improves survival in experimental multiple organ dysfunction syndrome. *Cytokine* 1998, 904-910.
61. E. A. Deitch. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock* 1998, 9 (1):1-11.
62. J. C. Marshall. Clinical trials of mediator-directed therapy in sepsis: what have we learned? *Intensive Care Med.* 2000, 26 Suppl 1:75-83.
63. Gomez, R. Wang, H. Unruh et al.: hemofiltration reverses left ventricular dysfunction during sepsis in dogs. *Anesthesiology* 1990, 73 (4):671-685.
64. F. Grootendorst, E. F. van Bommel, Hoven B. van der et al.: High volume hemofiltration improves right ventricular function in endotoxin-induced shock in the pig. *Intensive Care Med.* 1992, 18 (4):235-240.
65. C. Ronco, A. Brendolan, G. Lonnemann, R. Bellomo et al.: A pilot study of coupled plasma filtration with adsorption in septic shock. *Crit Care Med.* 2002, 30 (6):1250-1255.
66. P. Rogiers. Hemofiltration treatment for sepsis: is it time for controlled trials? *Kidney Int.Suppl* 1999, 72:99-103.
67. Lee PA, Weger GW, Pryor RW, Matson JR. Effects of filter pore size on efficacy of continuous arteriovenous hemofiltration therapy for staphylococcus aureus-induced septicemia in immature swine. *Crit Care Med* 1998; 26:730-737.

68. Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest*. 1992 Jun;101(6): 1481-1483.
69. Schuster, H.P., Müller-Werdan, U.: „Definition und Diagnose von Sepsis und Multiorganversagen.“ in Schuster, HP., Werdan, K. (Hrsg.): *Intensivtherapie bei Sepsis und Multiorganversagen*, Berlin 1998, 3-4.
70. Bone RC. Let´s agree on terminology: Definition on sepsis. *Crit Care Med* 1991;19:973-976.
71. APACHE-II-Score [Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmermann JE APACHE II: A severity of disease classification system *Crit Care Med* 13 (1985), 818-829.
72. Vincent JL et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction / failure. *Intensive Care Med*. 1996;22:707-710.
73. Marshall JC et al. Multiple Organ Dysfunction Score : a reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Crit Care med*.1995;23: 1638-1652.
74. Society of Critical Care Medicine Guidelines for the care of patients with hemodynamic instability associated with sepsis *Crit Care Med* 20 (1992), 1057-1059.
75. Hoffmann, J.N., Hartl, W.H. et al.: Hemofiltration in human sepsis: evidence for elimination of immunomodulatory substances. *Kidney Int*, 1995, 48:1563-70.
76. Brause, M., Grabensee, B. et al.: Elimination von Mediatoren durch kontinuierliche Nierenersatzverfahren. *Intensivmed*, 2001; 38: 471-478.
77. Nyström, P.O., Bax, R. et al.: Proposed definitions for diagnosis, severity scoring, stratification and outcome for trials on intraabdominal infection. *World J Surg*, 1990, 14: 148-158.

78. Pilz, G., Werdan, K.: Scores für das Multiorgandysfunktionssyndrom. *Internist*, 1998, 39: 502-508.
79. C. Ronco, R. Bellomo, P. Homel, et al.: Effects of different doses in continuous veno-venous haemofiltration on outcomes of acute renal failure: a prospective randomised trial. *Lancet* 2000; 355: 26–30.
80. M. Meisner. *Procalcitonin (PCT)*. Georg Thieme Verlag 2000, 3. Auflage: 18.
81. Meisner M, Tschaikowsky K, Schnabel S, et al. Procalcitonin--influence of temperature, storage, anticoagulation and arterial or venous asservation of blood samples on procalcitonin concentrations. *J.Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1997 Aug;35(8):597-601.
82. Davis TM, Assicot M, Bohuon C, et al.. Serum procalcitonin concentrations in acute malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1994 Nov-Dec;88(6):670-671.
83. Kormos RL, Murali S, Dew MA, et al. Chronic mechanical circulatory support: rehabilitation, low morbidity, and superior survival. *Ann Thorac Surg*. 1994 Jan;57(1):51-57; discussion 57-58.
84. Petitjean S, Mackensen A, Engelhardt R, Bohuon C, Assicot M (1994) Induction de la procalcitonine circulante après administration intraveuse d'endotoxine chez l'homme. *Act Pharm Biol Clin* 1994; 265-268.
85. M. Meisner, J. Schmidt, H. Hüttner, K. Tschaikowsky The natural elimination rate of procalcitonin in patients with normal and impaired renal function. *Intensive Care Medicine* 2000 March 26(15)1432-1438. (Online)
86. Meisner M, Lohs T, Huettemann E, Schmidt J, Hueller M, Reinhart K The plasma elimination rate and urinary secretion of procalcitonin in patients with normal and impaired renal function. *Eur J Anaesthesiol*. 2001 Feb;18(2):79-87.

87. M. Meisner. Procalcitonin (PCT). Georg Thieme Verlag 2000, 3. Auflage: 35.
88. M. Meisner. Procalcitonin (PCT). Georg Thieme Verlag 2000, 3. Auflage: 9.
89. E.S. Nylén, MD; K. T. Whang, MD; R. H. Snider et al.: Mortality is increased by procalcitonin and decreased by an antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. CRITICAL CARE MEDICINE 1998;26:1001-1006.
90. Martínez JM, Wagner KE, Snider RH et al.: Late immunoneutralization of procalcitonin arrests the progression of lethal porcine sepsis. Surg Infect (Larchmt). 2001 Fall;2(3):193-202; discussion 202-203.
91. Wagner KE, Martínez JM, Vath SD et al.: Early immunoneutralization of calcitonin precursors attenuates the adverse physiologic response to sepsis in pigs. Crit Care Med. 2002 Oct;30(10):2313-2321.
92. Goldman, M., Lagmiche, M. et al.: Adsorption of  $\beta$ 2-microglobulin on dialysis membranes: comparison of different dialyzers and effects of reuse procedures. Int J Artif Organs, 1989, 12: 373-378.
93. Yan S.B., Helterbrand J.D. et al.: Low levels of protein C are associated with poor outcome in severe sepsis. Chest, 2001; 120: 915–922.
94. Simms HH, Frank MM, Quinn TC, Holland S, Gaither TA: Studies on phagocytosis in patients with acute bacterial infections. J Clin Invest 1989; 83:252-260.
95. Westlin WF, Gimbrone MA Jr.: Neutrophil-mediated damage to human vascular endothelium. Role of cytokine activation. Am J Pathol 1993; 142:117-128.
96. March CJ, Mosley B, et al. Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. Nature 1985;315:641-647.

97. Hoffmann JN, Hartl WH, Deppisch R et al.: Hemofiltration in human sepsis: evidence for elimination of immunomodulatory substances. *Kidney Int* 1995; 48:1563-1570..
98. Hewett JA, Schultze AE, VanCise S, Roth RA: Neutrophil depletion protects against liver injury from bacterial endotoxin. *Lab Invest* 1992; 66:347-361.
99. Gossage JR, Kuratomi Y, Davidson JM, Lefferts PI, Snapper JR: Neutrophil elastase inhibitors, SC-37698 and SC-39026 reduce endotoxin-induced lung dysfunction in awake sheep. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147:1371-1379.
100. Mallick AA, Ishizaka A, Stephens KE et al.: Multiple organ damage caused by tumor necrosis factor and prevented by prior neutrophil depletion. *Chest* 1989; 95:1114-1120.
101. Folz RJ, Abushamaa AM, Suliman HB: Extracellular superoxide dismutase in the airways of transgenic mice reduces inflammation and attenuates lung toxicity following hyperoxia. *J Clin Invest* 1999, 103:1055–1066.
102. Kawabata K, Hagio T, Matsumoto S, et al.: Delayed neutrophil elastase inhibition prevents subsequent progression of acute lung injury induced by endotoxin inhalation in hamsters. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 161:2013–2018.
103. Heyderman RS, Ison CA, Peakman M, Levin M, Klein NJ: Neutrophil response to *Neisseria meningitidis*: inhibition of adhesion molecule expression and phagocytosis by recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21). *J Infect Dis* 1999; 179(5):1288-1292.
104. Hewett JA, Schultze AE, VanCise S, Roth RA: Neutrophil depletion protects against liver injury from bacterial endotoxin. *Lab-Invest* 1992; 66(3):347-361.
105. Brunner, E. und Langer, F. *Nichtparametrische Analyse longitudinaler Daten*. 1999; R. Oldenbourg Verlag, München Wien.

106. Kuhlen, Putensen, Quintel Jahrbuch der Intensivmedizin 2004.Papst Science Puplichers, Lengrich 2004; 217-222.
107. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al.:Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med. 2001 Jul;29(7):1303-1310.
108. Richard S. Hotchkiss, M.D., and Irene E. Karl, Ph.D.sd: The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. N Engl J Med. 2003 Jan 9;348;2:138-150.
109. Lieve Geerts, Philippe G. Jorens, Jean Willems, Marc De Ley Herman Slegers: Natural inhibitors of neutrophil function in acute respiratory distress syndrome. Crit Care Med 2001 Vol. 29, (10):1920-1924.
110. Harbarth S, Garbino J, Pugin J, Romand JA, Lew D, Pittet D: Inappropriate initial antimicrobial therapy and its effect on survival in a clinical trial of immunomodulating therapy for severe sepsis. Am.J.Med. 2003; 115: 529-35.
111. MacArthur RD, Miller M, Albertson T, et al.: Adequacy of early empiric antibiotic treatment and survival in severe sepsis: experience from the MONARCS trial. Clin.Infect.Dis. 2004; 38: 284-8.
112. Garnacho-Montero J, Garcia-Garmendia JL, Barrero-Almodovar A, Jimenez-Jimenez FJ Perez-Paredes C, Ortiz-Leyba C: Impact of adequate empirical antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. Crit Care Med. 2003; 31:2742-51.

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn PD Dr. med. S. Morgera für die Überlassung des Themas und für die intensive und unermüdliche Unterstützung bei der Durchführung und Fertigstellung der Arbeit.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. H.-H. Neumayer für die Unterstützung meiner Doktorarbeit und die Realisierung der Arbeit in der nephrologischen Abteilung der Charité.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. rer. med. Torsten Böhler, Pia Hambach sowie Christiane Lehmann für die tägliche Zusammenarbeit und die Hilfe bei der Durchführung der experimentellen Versuche im nephrologischen Forschungslabor.

Schließlich danke ich herzlichst meinen Eltern für ihre Unterstützung nicht nur bei der Verwirklichung dieser Arbeit.

## **Erklärung**

„Ich, Jens Rocktäschel, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: Einfluss der großporigen Hämofiltration auf die Phagozytoseaktivität der PMNL sowie die monozytäre TNF-alpha Ausschüttung bei Patienten mit septischen Multiorganversagen selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

07.03.2008

Jens Rocktäschel

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

## Publikationsliste

Naka T, Bellomo R, Morimatsu H, Rocktaschel J, Wan L, Gow P, Angus P.

Acid-base balance during continuous veno-venous hemofiltration: the impact of severe hepatic failure. *Int J Artif Organs*. 2006 Jul;29(7):668-74.

Haase M, Bellomo R, Rocktaeschel J, Ziemer S, Kiesewetter H, Morgera S, Neumayer HH. Use of fondaparinux (ARIXTRA) in a dialysis patient with symptomatic heparin-induced thrombocytopenia type II. *Nephrol Dial Transplant*. 2005 Feb;20(2):444-6.

Morgera S, Haase M, Rocktäschel J, Böhler T, von Heymann C, Vargas-Hein O, Krausch D, Zuckermann-Becker H, Müller JM, Kox WJ, Neumayer HH. High permeability haemofiltration improves peripheral blood mononuclear cell proliferation in septic patients with acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2003 Dec;18(12):2570-6.

Rocktaeschel J, Morimatsu H, Uchino S, Bellomo R. Unmeasured anions in critically ill patients: can they predict mortality? *Crit Care Med*. 2003 Aug;31(8):2131-6.

Morgera S, Rocktäschel J, Haase M, Lehmann C, von Heymann C, Ziemer S, Priem F, Hoher B, Göhl H, Kox WJ, Buder HW, Neumayer HH. Intermittent high permeability hemofiltration in septic patients with acute renal failure. *Intensive Care Med*. 2003 Nov;29(11):1989-95. Epub 2003 Sep 3.

Rocktaeschel J, Morimatsu H, Uchino S, Goldsmith D, Poustie S, Story D, Gutteridge G, Bellomo R. Acid-base status of critically ill patients with acute renal failure: analysis based on Stewart-Figge methodology. *Crit Care*. 2003 Aug;7(4):R60. Epub 2003 Jun 4.

Morgera S, Haase M, Rocktäschel J, Böhler T, Vargas-Hein O, Melzer C, Krausch D, Kox WJ, Baumann G, Beck W, Göhl H, Neumayer HH. Intermittent high-permeability hemofiltration modulates inflammatory response in septic patients with multiorgan failure. *Nephron Clin Pract*. 2003;94(3):c75-80.

Morgera S, Klonower D, Rocktäschel J, Haase M, Priem F, Ziemer S, Wegner B, Göhl H, Neumayer HH. TNF-alpha elimination with high cut-off haemofilters: a feasible clinical modality for septic patients? *Nephrol Dial Transplant.* 2003 Jul;18(7):1361-9.

Morimatsu H, Rocktäschel J, Bellomo R, Uchino S, Goldsmith D, Gutteridge G. Comparison of point-of-care versus central laboratory measurement of electrolyte concentrations on calculations of the anion gap and the strong ion difference. *Anesthesiology.* 2003 May;98(5):1077-84.

Rocktäschel J, Morimatsu H, Uchino S, Ronco C, Bellomo R. Impact of continuous veno-venous hemofiltration on acid-base balance. *Int J Artif Organs.* 2003 Jan;26(1):19-25.

Haase M, Sharma A, Fielitz A, Uchino S, Rocktaeschel J, Bellomo R, Doolan L, Matalanis G, Rosalion A, Buxton BF, Raman JS. On-pump coronary artery surgery versus off-pump exclusive arterial coronary grafting: a matched cohort comparison. *Ann Thorac Surg.* 2003 Jan;75(1):62-7.