

Aus der
Abteilung Nephrologie
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin
der Universität Rostock
(Direktor: Prof. Dr. med. Steffen Mitzner)

**Klinische Prüfung des Effektes der bettseitigen Filtration von konventionellen
Humanalbuminpräparationen auf den Verlauf der Plasmakonzentrationen von
Octanoat, N-Acetyltryptophanat und der Albuminbindungskapazität (ABiC)**

Inauguraldissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae

der
medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von
Anne Götze,
geb. am 31.03.1979 in Rostock

Rostock, Juli 2011

Dekan: Prof. Dr. med. Reisinger

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Jan Stange
Medizinische Klinik II, Universität Rostock
2. Frau Prof. Dr. med. G. Nöldge-Schomburg
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und
Intensivtherapie, Universität Rostock
3. Frau Prof. Dr. med. Dr. h.c. U. Ravens
Medizinische Fakultät, Institut für Pharmakologie
und Toxikologie, TU Dresden

Datum der Einreichung: 15.08.2011

Datum der Verteidigung: 16.05.2012

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	4
1.1. VERLAUF UND KOMPLIKATIONEN DER LEBERZIRRHOSE	4
1.2. BEDEUTUNG DER ALBUMINTHERAPIE BEI DER DEKOMPENSIERTEN LEBERZIRRHOSE	8
1.3. POTENTIELLE ROLLE DER ALBUMINBINDUNG FÜR DIE ENDOGENE INTOXIKATION DER DEKOMPENSIERTEN LEBERZIRRHOSE	11
1.4. METHODEN DER ALBUMINBINDUNGSMESSUNG	16
1.5. AKTUELLE ALBUMINPRÄPARATE	18
1.6. HEPALBIN FILTER	21
2. ZIELSTELLUNG	23
3. STUDIENDESIGN, MATERIAL UND METHODEN	24
3.1. STUDIENDESIGN	24
3.1.1 STUDIENABLAUF	24
3.1.2. ERFASSTE PARAMETER	26
3.2. MATERIAL UND METHODEN	28
4. ERGEBNISSE	30
4.1. BESCHREIBUNG UND VERGLEICH DER KOHORTEN ZUM ZEITPUNKT DES STUDIENBEGINNS	30
4.2. AUSWERTUNG DER MESSERGEBNISSE	38
5. DISKUSSION	67
6. THESEN ZUR DISSERTATION	74
7. LITERATURVERZEICHNIS	76
7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	81

1. Einleitung

In der vorliegenden Arbeit soll die potentielle Einschränkung der Wirksamkeit von intravenösen Humanalbuminapplikationen durch den industriellen Zusatz sogenannter Stabilisatoren (Octanoat und N-Acetyltryptophanat) dargelegt und eventuelle Lösungen der Problematik sollen anhand einer klinischen Untersuchung aufgezeigt werden.

1.1. Verlauf und Komplikationen der Leberzirrhose

Als Leberzirrhose wird die sich allmählich entwickelnde chronische Erkrankung der Leber bezeichnet, die das gesamte Organ betrifft. Sie ist das irreversible Endstadium verschiedener Lebererkrankungen oder über lange Zeit einwirkender Noxe. Die Inzidenz einer Leberzirrhose beträgt ca. 250/100.000/Jahr mit einer Geschlechterverteilung (m:w) von 2:1 in Europa und den USA. In den Industrieländern sind Alkoholabusus (50%) und Virushepatitiden B, C, D (45%) die Hauptursachen der Erkrankung [1-2].

Zu Beginn der Erkrankung werden die funktionellen und strukturellen Organveränderungen zunächst kompensiert. Mit zunehmender Dauer und Fortschreiten des zirrhotischen Umbaus kann sich aber eine Dekompensation mit klinischen Symptomen entwickeln. Hierbei unterscheidet man die parenchymatöse von der portalen Dekompensation. Beide können sowohl einzeln als auch kombiniert auftreten.

Die parenchymatöse Dekompensation ist die Folge der Organinsuffizienz und zeigt sich in den vielfältigen Beeinträchtigungen des metabolischen Systems. Dazu gehören u. a.

- Störungen des Eiweiß-, Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels
- Gerinnungsstörungen
- Beeinträchtigungen der Biotransformation und Pharmakokinetik
- hormonelle Dysbalancen
- Ernährungsmangelzustände (Elektrolyte, Vitamine)
- ein erworbenes Immundefektsyndrom
- die hepatische Enzephalopathie

Das Hauptzeichen der portalen Dekompensation ist der Pfortaderhochdruck (Druck in der Pfortader dauerhaft über 12 mmHg). Er ist bedingt durch eine Erhöhung des Gefäßwiderstandes innerhalb der Leber (intrahepatischer Block). Diese Widerstandserhöhung entsteht durch den reduzierten Gesamtgefäßdurchschnitt der Leber

infolge des Gewebeumbaus und durch vasokonstriktorisches Substanzen. Im Verlauf bilden sich Kollateralkreisläufe (intrahepatische, porto-systemische Shunts zwischen Portalgefäßen und Lebervenen) aus. Hierzu zählen Ösophagus - und Corpus/Fundusvarizen, Kollateralvenen der Bauchhaut (periumbilikal bei offener V. umbilicalis, aber häufiger an der Innenseite der Bauchhaut) und Varizen des Plexus venosus rectalis. Beim Hyperspleniesyndrom kommt es durch die Mehrdurchblutung zu einer Splenomegalie mit ggf. Anämie, Thrombo - und Leukopenie [1-2].

Die portale sinusoidale Hypertension bei Leberzirrhose führt weiterhin zu einer Hypervolämie der Splanchnikusgefäße und bedingt eine vermehrte Lymphproduktion. Im Zusammenspiel mit einer Hypalbuminämie und damit vermindertem kolloidosmotischem Druck in den Blutgefäßen tritt vermehrt Flüssigkeit in das Interstitium über. Dadurch wird das intravasale Volumen vermindert und die verbleibende Flüssigkeit wird hyperosmolar. Die Verminderung des intravasalen Volumens und die entstehende Hyperosmolarität des Blutes bedingen eine gesteigerte Reninsekretion der Niere mit nachfolgender Aktivierung des Renin - Angiotensin - Aldosteron - Systems (RAAS). In Kombination mit der verminderten Inaktivierung des Aldosterons in der Leber (Organinsuffizienz) führt die vermehrte Produktion zu einem sekundären Hyperaldosteronismus. Es kommt zu einer gesteigerten Natriumrückresorption im proximalen Tubulus und damit zu einer erhöhten renalen Natrium - und Wasserretention, um das intravasale Volumen wieder zu erhöhen.

Ein vermehrter Flüssigkeitsaustritt aus den Splanchnikusgefäßen in das Interstitium wird ab einer Menge von ca. 50 ml sonografisch als Aszites sichtbar. Die bedeutendste Komplikation des Aszites besteht neben den gehäuft auftretenden wie Refluxösophagitis, Dyspnoe, Bauchwandhernien und einem Hydrothorax in der spontan bakteriellen Peritonitis (SBP). Sie tritt vermehrt bei Patienten mit therapierefraktärem Aszites auf und hat eine schlechte Prognose (Letalität bis 50%). Weiterhin erhöht Aszites die Gefahr einer Varizenblutung. Ein Drittel der Leberzirrhotiker erleidet eine Blutung aus den o. g. Varizenlokalisationen. Die Letalität der Erstblutung korreliert mit den Stadien nach CHILD. Während sie sich im Stadium CHILD A noch auf unter zehn Prozent beläuft, liegt sie im Stadium CHILD B schon bei ca. 25% und im CHILD C Stadium bei etwa 50% [1-2].

Eine gastrointestinale Blutung (Varizen, Ulzera, erosive Gastritis) kann außerdem zu einer weiteren Abnahme des schon verminderten zirkulierenden Blutvolumens führen und damit in etwa zehn Prozent der Fälle zur Ausbildung eines hepatorenalen Syndroms (HRS). Definitionsgemäß bedeutet dies die progrediente und irreversible Abnahme der glomerulären Filtrationsrate durch eine schwere Vasokonstriktion der renalen Zirkulation. Weitere auslösende Faktoren für ein HRS können neben einer Blutung eine

Aszitesparazentese ohne Plasmavolumenexpansion, eine forcierte Diuretikatherapie, eine SBP, eine Laktuloseüberdosierung mit Diarrhö und Hypovolämie und nephrotoxische Medikamente sein. Die Prognose nach Ausbildung eines HRS ist schlecht. Bei der Behandlung des HRS sollte zunächst versucht werden, den auslösenden Faktor zu beseitigen. Die beste Therapieoption ist die Lebertransplantation, da durch Verbesserung der Leberfunktion eine Steigerung der Nierenfunktion zu erwarten ist, sofern noch keine strukturelle Schädigung der Niere vorliegt. Eine Leberfunktionssteigerung kann auch mittels einer Leberdialyse (MARS – Molecular Adsorbent Recirculating System oder SPAD – Single Pass Albumin Dialysis) erreicht werden, sofern eine Transplantation nicht möglich ist. Weitere Therapieoptionen bestehen in der Anlage eines transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts (TIPS) oder der pharmakologischen Therapie mit Vasopressin – Analoga oder α – adrenergen Substanzen in Kombination mit Albumin. Die Anlage des TIPS ist abhängig von der Restfunktion der Leber (CHILD – Score < 12), der Höhe des Serumbilirubins (≤ 10 mg/dl) und des Allgemeinzustandes des Patienten [1-2].

Zur Einteilung des Schweregrades einer Leberzirrhose werden die CHILD – PUGH – Kriterien (Tab. 1, [2]) und der MELD – Score (*Model for Endstage Liver Disease*) verwendet.

Tab. 1 CHILD – PUGH – Kriterien

Kriterium	Einheit	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte
Albumin i. S.	g/dl	> 3,5	2,8 – 3,5	< 2,8
Bilirubin (ges.) i. S.	mg/dl	< 2	2 – 3	> 3
Bilirubin (ges.) i. S.	$\mu\text{mol/l}$	< 35	35 – 50	> 50
Bilirubin bei PBC und PSC (ges.) i. S.	mg/dl	< 4	4 – 10	> 10
Bilirubin bei PBC und PSC (ges.) i. S.	$\mu\text{mol/l}$	< 70	70 – 170	> 170
Quick	%	> 70	40 – 70	< 40
INR		< 1,7	1,7 – 2,2	> 2,2
Aszites (sonografisch)		keiner	leicht	mittelgradig
HE Stadium		0	I – II	III – IV
Addition der Punkte	CHILD A	= 5 – 6		
	CHILD B	= 7 – 9		
	CHILD C	= 10 – 15		

Dieser Wert gibt den Schweregrad einer Lebererkrankung bezüglich der Dringlichkeit einer Transplantation an. Entwickelt wurde er durch das United Network for Organ Sharing (UNOS) im Jahre 2002. Die UNOS ist eine Organtransplantationsgesellschaft in den USA.

Seit der Einführung des MELD - Scores wird dieser dazu verwendet, Patienten mit schweren Leberschäden bevorzugt zur Organspende zuzulassen. Die Berechnung des MELD - Scores basiert auf den drei Laborparametern Bilirubin, Kreatinin und der Blutgerinnungszeit (INR). Sie gelten als die zuverlässigsten Prädiktoren, um den Verlauf einer schweren transplantationspflichtigen Lebererkrankung zu bestimmen und somit auch die relative Schwere der Erkrankung und die noch zu erwartende Lebensdauer. Die Berechnungsformel des MELD - Scores lautet wie folgt:

$$10 \{0.957 \ln(\text{Kreatinin i.S. } \mu\text{mol/l}) + 0.378 \ln(\text{Bilirubin ges. } \mu\text{mol/l}) + 1.12 \ln(\text{INR}) + 0.643\}$$

In den verwendeten Parametern ergibt sich eine Änderung, wenn in der Woche vor Bestimmung des MELD - Scores mindestens zweimal eine Dialyse durchgeführt wurde. Dann wird der Kreatininwert gleich vier mg/dl (354 $\mu\text{mol/l}$) gesetzt. Das Ergebnis der Berechnung ist ein Wert zwischen sechs und 40 Punkten. Eine hohe Zahl für den MELD - Score zeigt eine hohe Wahrscheinlichkeit, innerhalb der nächsten drei Monaten ohne Transplantation zu versterben und umgekehrt. Demnach ist die Wahrscheinlichkeit umso höher, je höher der MELD - Score ausfällt [3-4].

Aufgrund der vielgestaltigen Symptome, des häufig schweren Verlaufs der Erkrankung sowie der fehlenden Ersatzorgane ist eine frühe und adäquate Therapie der Komplikationen der Leberzirrhose notwendig. Hierzu gehört natürlich auch die Verbesserung vorhandener Therapieoptionen [1-2].

1.2. Bedeutung der Albumintherapie bei der dekompensierten Leberzirrhose

Die Bedeutung der Therapie mit Humanalbumin allgemein und speziell in der Behandlung der dekompensierten Leberzirrhose ist umstritten und wird seit Jahren kontrovers diskutiert. In der aktuellen Studienlage ist der Vorteil von Albuminbehandlungen gegenüber anderen Plasmaexpandern und Therapieoptionen noch nicht abschließend bewiesen. Das liegt darin begründet, dass einige Indikationen der Albumintherapie durch Studienergebnisse überzeugend dargestellt werden konnten, während andere allein auf der klinischen Erfahrung beruhen. Auch das Review der Cochrane Injuries Group von 1998 verstärkte die Diskussion durch seine Ergebnisse, die zeigten, dass eine Albumintherapie keinen Vorteil erbringt, sondern vielmehr das Letalitätsrisiko steigert [5]. Die Cochrane Injuries Group empfahl, die Humanalbumintherapie kritisch zu überprüfen und nur in geeigneten kontrollierten Studien einzusetzen, in denen die Sterblichkeit als Endpunkt verankert ist. Weiterhin wird die Debatte durch die hohen Kosten des Albumingebrauchs sowie durch die begrenzte Verfügbarkeit und die theoretische Möglichkeit der Infektionsübertragung forciert.

Die Anfänge der Albumintherapie bei Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose stammen aus den 50 - iger Jahren, in denen infolge der Starlingtheorie als Hauptursache für Aszitesentstehung und Nierenfunktionsstörungen neben der portalen Hypertension die Hypalbuminämie angesehen wurden [6]. Da zu diesem Zeitpunkt keine Therapie der portalen Hypertension existierte, war das erste Therapieziel des Albumineinsatzes bei der dekompensierten Leberzirrhose die Erhöhung des kolloidosmotischen Drucks. Albumin bildet mit annähernd 50-60% des Gesamteiweißes die größte Fraktion der Serumproteine. Die Konzentration im Serum liegt im gesunden Körper bei 35 - 45 g/l. Es ist mengenmäßig das häufigste Plasmaprotein und hat dadurch den stärksten Einfluss auf den kolloidosmotischen Druck. Durch die Gabe von Humanalbumin sollte eine Verbesserung der hämodynamische Situation in der Leber und im Splanchnikusstromgebiet erreicht werden. Mit diesem Hintergrund begann eine weit verbreitete Anwendung von Humanalbumin in der Therapie der dekompensierten Leberzirrhose, die sich in der folgenden Dekade fortsetzte [7].

Mit Aufkommen der „overflow theory“ von Lieberman *et al.* war ein Rückgang der Albuminbehandlungen zu verzeichnen [8]. Die „overflow theory“ besagt, dass eine überschießende Natrium - und Wasserretention der Nieren zu einer Erhöhung des

Blutvolumens führt. Bei diesem Ansatz musste die Schlussfolgerung gezogen werden, dass eine zusätzliche Gabe von Plasmaexpandern ungünstig sei. Die Theorie von Lieberman *et al.* konnte aber nicht die wichtigsten klinischen Charakteristika der Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose erklären. Weiterhin blieb unklar, warum es zur übermäßigen Aktivierung der endogenen Volumenretentions - und Vasokonstriktionssysteme kam, obwohl Blutvolumen und Herzzeitvolumen erhöht waren [9]. Unser aktuelles Verständnis über die Pathogenese der Komplikationen bei fortgeschrittener Leberzirrhose beruht auf den Erkenntnissen von Schrier *et al.* [10]. Hierbei wurden die früheren Theorien überdacht und dahingehend erweitert, dass die portale Hypertension mit arterieller Vasodilatation im Splanchnikusstromgebiet das initiale Geschehen ist und die weiteren Komplikationen wie zirkulatorische Dysfunktionen und Nierenfunktionsstörungen Folgen sind. Es wurde klar, dass das totale Blutvolumen zwar gesteigert, aber das effektiv zirkulierende Blutvolumen vermindert ist und damit funktionell eine Hypovolämie besteht. Hierdurch erklärt sich die Aktivierung der endogenen Systeme für Vasokonstriktion und Volumenretention. Ein Einsatz von Plasmaexpandern ist also durchaus sinnvoll in der Therapie der dekompensierten Leberzirrhose.

Im Vergleich zu synthetischen volumenexpandierenden Mitteln hat sich Albumin bei der Behandlung des therapierefraktären Aszites [11-12], der Prävention des Post-Parazentese Syndroms [13-16] und bei der Therapie der spontan bakteriellen Peritonitis [17-18] als vorteilhaft erwiesen. In neueren klinischen Studien zeigte sich ein Gewinn für Patienten, die am hepatorenalem Syndrom erkrankt waren, wenn die Behandlung mit Vasokonstriktoren und Albumin zusammen vorgenommen wurde [19-21]. Dies gilt, sofern die genannten Indikationen aus einer Leberinsuffizienz entstanden sind.

In den Ergebnissen einer Studie aus 2009 zeigte sich eine signifikante Reduktion der Plasmakonzentrationen für Renin und Aldosteron sowie eine Tendenz zur Verringerung des Aszitesvolumens durch die Langzeitbehandlung mit Albumin bei Patienten mit therapierefraktärem Aszites [22]. Bei der Aszitesparazentese wird zur Vorbeugung möglicher Komplikationen die Substitution von sechs bis acht Gramm Albumin je Liter Aszitespunktat ab einem Parazentesevolumen von fünf Litern empfohlen [23-25]. Die kombinierte Gabe von Albumin und einem Antibiotikum senkt signifikant die Mortalität einer spontan bakteriellen Peritonitis im Vergleich zu der alleinigen Antibiotikagabe [26-28]. Für die Behandlung des hepatorenalen Syndroms Typ I wird die Gabe von Terlipressin (zwei bis zwölf mg/d) und Albumin mit einer Dosis von 20 - 40 g/d empfohlen. Unter der genannten Kombination kam es in über 60% der Fälle zu einer Erholung der Patienten [29].

Die Verbesserung der Hämodynamik durch Albumin ist dabei nicht nur auf eine Volumenexpansion zurückzuführen, da die therapeutische Infusion von Hydroxyäthylstärke (HAES) nicht den gleichen Effekt erzielt [11, 17]. Die Überlegenheit des Humanalbumins gegenüber Plasmaexpandern [11-12, 14-17] lässt darauf schließen, dass es weitere physiologische Funktionen innehat, um die Hämodynamik positiv zu beeinflussen. Humanalbumin ist u. a. in der Lage, aktive Bindungsstellen für den Transport verschieden gearteter Vasodilatoren bereitzustellen dementsprechend zu binden und zu transportieren. Hierzu zählen Prostaglandine, Leukotriene und Stickstoffmonoxid [30-32]. Außerdem werden Stoffwechselprodukte, Mediatoren und Medikamente durch Humanalbumin im Plasma transportiert. Dies sind Eigenschaften, die sehr gut in der albumingebundenen Detoxikation dem Molecular Adsorbent Recirculating System (MARS) genutzt werden können [33-34]. Das MARS - Verfahren stellt eine Therapieoption bei allen Arten des Leberversagens dar und ist in der Lage, die bekannten Auswirkungen der Organinsuffizienz effektiv zu bekämpfen [35-36].

Der Stellenwert der Humanalbumintherapie in der Behandlung der dekompenzierten Leberzirrhose hat in den vergangenen Jahrzehnten erhebliche Schwankungen erlebt. Nachdem die Bedeutung der Albuminanwendung in den vergangenen Jahren zurückgegangen ist, durchläuft sie jetzt eine Renaissance. Dem erneuten Interesse liegt ein aktuell erweitertes Wissen und ein besseres Verständnis über die physikalischen und chemischen Eigenschaften sowie die physiologischen Funktionen des Albumins zugrunde, die weit über die eines Plasmaexpanders hinausgehen [37].

1.3. Potentielle Rolle der Albuminbindung für die endogene Intoxikation der dekompensierten Leberzirrhose

Um die Bedeutung der Albuminbindung klar darzustellen, ist es sinnvoll, zunächst die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Albuminmoleküls und seine physiologischen Funktionen näher zu betrachten.

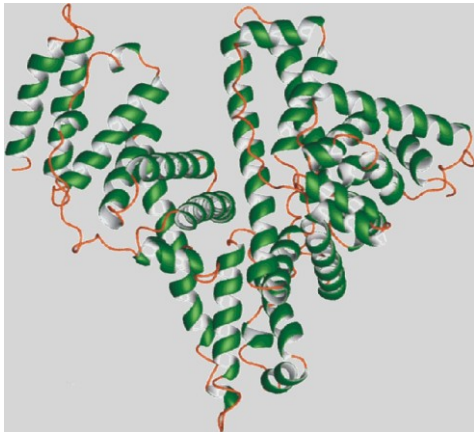


Abb. 1 Albuminstruktur Copyright Albutec GmbH

Das Albuminmolekül ist ein globuläres, nicht glykosyliertes, negativ geladenes Plasmaprotein mit einer Größe von 66 kDa und besteht aus 585 Aminosäuren. Die Primärstruktur besteht aus verschiedenen α - Helices. Diese ergeben zusammen die Sekundärstruktur, die Subdomänen A und B. Durch Zusammenlagerung von je drei identischen Ketten der Subdomänen ergibt sich die Tertiärstruktur. Von essenzieller Bedeutung für die Struktur und Funktion des Albuminmoleküls sind seine Aminosäurenreste. Das Molekül beinhaltet 18 Tyrosin -, sechs Methionin -, einen Tryptophan -, 59 Lysin - und einen freien Cysteinrest. Weiterhin enthält Albumin 17 Disulfidbrücken, welche einerseits die molekulare Tertiärstruktur erhalten, aber auf der anderen Seite die Flexibilität bieten, die das Molekül benötigt, um verschiedene Substanzen zu binden. Viele von diesen potentiellen Bindungspartnern besitzen säurehaltige oder elektronegative Bestandteile, so z. B. unveresterte Fettsäuren, Bilirubin, Metalle, Thyroxin und Tryptophan, aber auch häufig eingesetzte Medikamente (Warfarin, Diazepam, Ibuprofen). Durch die Albuminbindung lassen sich weiterhin wasserunlösliche Stoffe im Blut transportieren, um ihre geregelte Verfügbarkeit und Ausscheidung zu gewährleisten [38].

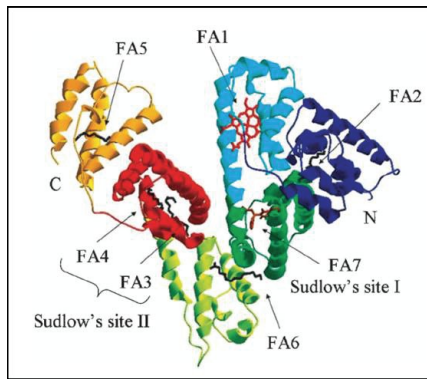


Abb. 2 Albuminstruktur mit Bindungsstellen Copyright [39]

Die strukturellen Gegebenheiten des Albuminmoleküls ermöglichen eine Ligandenbindung an zwei verschiedenen Positionen (Abb.2). Identifiziert wurden diese Hauptbindungsstellen mithilfe fluoreszierender Sonden. So stellte sich heraus, dass an der Bindungsstelle I nach Sudlow voluminöse (sperrige), aromatische, nichtpolare Säuren binden, deren negative Ladung zentral im Molekül angeordnet ist. Hierzu gehören beispielsweise die Medikamente Warfarin, Cumarine und Phenylbutazon. Bevorzugte Liganden der Bindungsstelle II nach Sudlow sind aromatische, carboxylierte Säuren mit einer am Ende des Moleküls gelagerten negativen Ladung. Zu den typischen Arzneimitteln gehören hier Ibuprofen und Naproxen. Weiterhin konnten Nebenbindungsstellen u. a. für Fettsäuren identifiziert werden (Abb. 2, FA 1 - 7). Speziell bei der Bindung von Fettsäuren wird eine Beeinträchtigung der Ligandenbindung an den Bindungsstellen I und II durch Konformationsänderung im Albuminmolekül vermutet [39-40].

Eine weithin bekannte und wichtige Eigenschaft des Humanalbumins, die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks, entsteht durch seine negative Ladung. Albumin zieht Natriumionen und andere positiv geladene osmotisch wirksame Ionen an und bewirkt damit eine Wasserretention in den Blutgefäßen. Ein Abfall des interstitiellen kolloidalen Druckes ist der größte Stimulus für die Albuminproduktion in der Leber. Die Albuminkonzentration des die Leber durchfließenden Blutes bewirkt keine Erhöhung oder Verminderung der Syntheseleistung.

Mit seinem freien Cysteinrest stellt Humanalbumin die extrazelluläre Hauptquelle für Thiole im menschlichen Körper dar. Dies gestattet dem Humanalbuminmolekül die Bindung von Sauerstoff- und Stickstoffradikalen, die sich im aeroben Stoffwechsel bilden. In Folge dessen werden die Membranproteine und intrazellulären Stoffwechsellzyme weniger als Reaktionspartner von den Radikalen beansprucht und somit werden Zellschäden und/oder

Zelldysfunktionen vermindert. Weiterhin hat die Humanalbuminbindung der Radikale einen nützlichen Einfluss auf das Entzündungsgeschehen. An der Eliminierung von Radikalen sind u. a. neutrophilen Granulozyten beteiligt. Allerdings aktivieren die Neutrophilen dabei über zellvermittelte Signale die Inflammation. Je weniger Neutrophile in die Radikalbeseitigung involviert sind, desto geringer ist die Aktivierung der Inflammation [38]. Insgesamt verfügt das Humanalbuminmolekül durch die Bindung dieser hochreaktiven, instabilen Teilchen über eine antioxidative Wirkung.

Albumin ist, wie in 1.2. bereits beschrieben, das Protein mit der höchsten Konzentration im menschlichen Plasma und wird von der Leber synthetisiert. Dadurch treten bei einer chronisch eingeschränkten Leberfunktion Veränderungen der Albuminkonzentration auf. Die Schwere der Funktionsstörung korreliert dabei mit dem Ausmaß der Konzentrationsveränderung. Da durch die Organinsuffizienz der Leber nur vermindert Albumin synthetisiert wird, ist die logische Konsequenz, die Albuminkonzentration zu erhöhen, um die Klinik der Patienten zu verbessern. Nach einer intravenösen Gabe von Humanalbumin kommt es allerdings zu einer sehr zügigen Umverteilung, so dass nach vier Stunden nur noch 68 % des initialen Konzentrationsanstieges (Gabe von 40 g Humanalbumin) bei septischen Patienten nachweisbar sind [41]. Dies führte zu Überlegungen, dass ein anderer Parameter als die Albuminkonzentration für die Funktionalität des Humanalbumins ausschlaggebend ist. In den letzten Jahren erbrachten zahlreiche experimentelle und klinische Untersuchungen und Studien Hinweise auf die prognostische Bedeutung der Albuminbindungskapazität (Albumin Binding Capacity, ABiC) gegenüber der Albuminkonzentration. Erstens tritt der positive Effekt einer Albuminsubstitution unabhängig von der Ausgangskonzentration ein, womit die Aussagekraft der Albuminkonzentration über die Funktionalität des Humanalbumins merklich eingeschränkt ist. Zweitens zeigte sich für die Ligandenbindung und den Ligandentransport, dass durch erhöhte Blutkonzentrationen albumingebundener Stoffe (z. B. beim Leberversagen) Konkurrenzen um die Bindungsstellen am Albuminmolekül entstehen. Es kommt zu Verdrängungsmechanismen und Veränderungen der ungebundenen Fraktionen, welche eine abweichende Wirkung dieser Substanzen zu Folge haben können. In der Situation des Leberversagens finden sich z. B. erhöhte Konzentrationen von endogenen Benzodiazepinen, Gallensäuren, kurz- und/oder mittelkettigen Fettsäuren (z. B. Octanoat), Tryptophan oder anderen Indolen. Alle genannten Substanzen stehen in einem Kontext mit der Ausprägung von Komplikationen beim Leberversagen (Vasodilatation, spontan bakterielle Peritonitis, hepatische Enzephalopathie, hepatorenales Syndrom) [42-48] und

binden vorrangig an die Bindungsstelle II nach Sudlow. Durch die Konzentrationserhöhungen dieser Stoffe ergibt sich eine verstärkte Beladung des Albuminmoleküls an der Bindungsstelle II und damit, an dieser Position, eine geringere Kapazität an freien Bindungsstellen. Dieser Zustand erklärt einerseits die veränderten Bindungscharakteristika von Medikamenten im Leberversagen und andererseits stützt es die Hypothese, dass die ABiC für die Bindungsstelle II im schweren Leberversagen eingeschränkt ist. Darüber hinaus würde es bedeuten, dass ein Zusammenhang zwischen der Schwere einer Lebererkrankung und dem Albuminbeladungszustand vorliegt, da, wie zuvor erläutert, ein erhöhter Beladungszustand der Bindungsstelle II des Albuminmoleküls zu einer eingeschränkten ABiC eben dieser führt.

In einer Studie aus 2007 konnte gezeigt werden, dass die ABiC umso geringer ist, je höher der MELD - Score ist [49]. Eine Verbesserung der ABiC hat eine Verbesserung der Prognose des Leberversagens als Konsequenz, da z. B. schädliche Toxine gebunden werden und damit in geringerem Ausmaß biologisch verfügbar sind. Dies ist erklärbar durch das erhöhte Angebot an freien, aktiven Albuminbindungsstellen, die einen positiven Effekt auf die Ausprägung der Komplikationen des Leberversagens und damit auf das Überleben haben. Unterstützt wird diese Aussage durch die Tatsache, dass die reduzierte ABiC durch die extrakorporale Elimination albumingebundener Toxine [50-52] verbessert werden kann und dass diese Therapie assoziiert ist mit einem Anstieg des mittleren arteriellen Drucks (MAP) [53] und des systemischen Gefäßwiderstandes [54].

Sehr definierte Aussagen über die Bedeutung der ABiC insbesondere als prognostischer Parameter bei der dekompenzierten Leberzirrhose liefern die Ergebnisse der 2008 veröffentlichten, klinisch randomisierten Studie MARS_ELF [52]. In dieser Studie wurde die ABiC in Plasmaproben von Patienten untersucht, die zuvor in zwei Kohorten randomisiert wurden. Die Kohorten unterschieden sich dahingehend, dass die Patienten der Gruppe eins einer konventionellen Therapie zugeführt wurden und die Patienten der Gruppe zwei zusätzlich mit Albumindialysen zur Elimination albumingebundener Substanzen behandelt wurden.

Bei den eingeschlossenen Patienten mit einer exkretorischen Leberinsuffizienz (Bilirubin > 340 μmol) zeigte sich hierbei eine auffällig verminderte ABiC. Im Studienverlauf konnte bei den Patienten der Albumindialysegruppe eine signifikante Erhöhung der ABiC, verglichen mit der konventionellen Kontrollgruppe, festgestellt werden. Auch Einzelbehandlungen mit extracorporalen Albumindialyseverfahren (ECAD - Verfahren) ergaben eine Verbesserung

der ABiC von $69,7 \pm 25,1\%$ auf $78,5 \pm 20,4\%$. Besondere Bedeutung erhält die eingeschränkte ABiC und demzufolge auch ihre Verbesserung durch die therapeutische Elimination albumingebundener Substanzen, wenn man einen Blick auf die Mortalitätsunterschiede wirft: 50% in der Kontrollgruppe stehen 8,3% in der ECAD - Gruppe gegenüber. Anhand der erstellten MELD - Scores wurde mit einer 28 Tage Mortalität von 34% gerechnet. Die Steigerung der ABiC erbrachte somit nicht nur eine deutlich geringere Mortalität, verglichen mit der Kontrollgruppe, sondern blieb auch in erheblichem Maße unter der, durch die MELD - Scores, erwarteten Mortalität [52-53]. Das stellt einen eindeutigen Überlebensvorteil durch die Steigerung der ABiC dar.

Weiterhin wurde eine detaillierten Analyse einzelner Faktoren bezüglich der Nierenfunktion (Kreatinin), der Leberfunktion (Bilirubin, Albumin, Quick, Gallensäuren) sowie der Ausprägung bzw. des Schweregrades des Leberversagens (HE, CHILD) vorgenommen. Hierbei wurden keine Unterschiede zwischen den Überlebenden und Verstorbenen festgestellt. Aber bei den Patienten, die innerhalb des Studienzeitraumes verstarben, fiel eine bedeutend geringere ABiC als bei der Gruppe der Überlebenden auf. Eine Tatsache, die sich sowohl in der gesamten Studiengruppe als auch in der Kontrollgruppe allein findet, in der die ABiC während des gesamten Studienverlaufes nicht beeinflusst wurde. Diese Ergebnisse zeigen eindeutig, dass der Beladungszustand des Albuminmoleküls und die damit verbundene ABiC, eine erhebliche Bedeutung für die Ausprägung des klinischen Zustandes bei der dekompensierten Leberzirrhose und den damit verbundenen Komplikationen haben [52, 55].

In den Ergebnissen der MARS_ELF Studie zeigte sich nur die ABiC als signifikanten Unterschied zwischen Überlebenden und Verstorbenen. Weder die klinisch relevanten Einteilungssysteme (CHILD, MELD) noch einzelne Laborparameter oder klinische Zustände konnten diesem Anspruch gerecht werden. Dieses lässt den Schluss zu, dass die ABiC besser geeignet ist, Aussagen über die Schwere und die Prognose des Leberversagens zu treffen, als die bisher verwendeten Kenngrößen [55].

1.4. Methoden der Albuminbindungsmessung

Zu den bisherigen Methoden der Albuminbindungsmessung gehören die Ultrafiltration, die Ultrazentrifugation und die Dialyse. Hierbei werden mit darauffolgenden analytischen Methoden jeweils die gebundene und ungebundene Fraktion des Liganden bestimmt. Diese Analysen beinhalten u. a. das Verfahren der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit gekoppelter Massenspektrometrie (MS). Des Weiteren wurden kapillarelektrophoretische Verfahren genutzt, deren Ablauf die Verdrängung eines nahen Infrarotfarbstoffs (NIR - Farbstoff) beinhalten. Auch chromatografische Verfahren, bei denen Albumin als stationäre Phase dient, kamen bisher zum Einsatz. Erwähnt werden müssen weiterhin die Oberflächenplasmonresonanz (SPR) und ein Verfahren, das die Nähe von Tryptophanresten zu den Bindungsstellen I und II nutzt, um über Fluoreszenzabnahme die Bindung der Liganden zu messen. All die genannten Methoden sind nur bedingt aussagekräftig, da sie entweder einen geringen Durchsatz, lange Retentionszeiten oder eine Bindungsunspezifität aufweisen. Bei der HPLC mit gekoppelter MS ist das größte Problem der Eingriff in das Reaktionsgleichgewicht und eine individuelle, validierte, analytische Methode für jede Substanz, die untersucht werden soll [39].

Im Rahmen der für diese Dissertation durchgeführten Studie wurde ein in der Klinik für Innere Medizin der Universität Rostock entwickeltes Verfahren zur Messung der ABiC an der Benzodiazepin Bindungsstelle angewandt. Hierbei wird die ungebundene Menge eines Bindungsstellen - II - spezifischen Markers (Dansylsarcosine, DS) in den Patienten Plasmaproben gemessen. Der Marker wird in equimolaren Verhältnissen den Proben hinzugefügt. Zuvor wurden sämtliche Patientenproben auf eine Albuminkonzentration von 150 $\mu\text{mol/l}$ ausgerichtet. Dann wird die ungebundene Fraktion des Markers per Ultrafiltration vom albuminhaltigen Anteil der Plasmaprobe getrennt. Danach werden mehrere Teilproben á 50 μl der albuminfreien Fraktion in eine 96 well Platte gegeben. Diesen Teilproben werden entweder 50 μl einer Albuminlösung mit einer Konzentration von 300 $\mu\text{mol/l}$ (zur Fluoreszenzverstärkung) oder eine phosphatgepufferte Kochsalzlösung hinzugefügt. Nun wird die Fluoreszenz (excitation 355 nm, emission 460 nm) viermal bei jeder Teilprobe gemessen, die Durchschnittsfluoreszenz bestimmt und entsprechend der Hintergrundfluoreszenz korrigiert.

Zum Vergleich dient eine Referenz - Albuminlösung mit gleicher Albuminkonzentration, in der mit demselben Verfahren die ungebundene Menge des Markers gemessen wird. Diese

Referenzlösung wird = 100 % gesetzt. Die Referenz - Albuminlösung zeigt bezüglich der Bindungscharakteristika für den Marker DS eine geringe Variabilität mit einem Variationskoeffizienten von 5,1 % bei der Durchschnittsfluoreszenz des Ultrafiltrats. Zur definitiven Berechnung der ABiC dient folgende Gleichung [49, 52]:

$$ABiC \text{ in } \% = \frac{\text{Fluoreszenz des Referenz - Ultrafiltrats}}{\text{Fluoreszenz des Proben - Ultrafiltrats}} \times 100$$

Mit der angewendeten Methode ist eine schnelle und zuverlässige Aussage über die Bindungskapazität des Albumins möglich. Sie ist weniger störanfällig als frühere Methoden und insbesondere die Nutzung des bindungsspezifischen Markers DS für die Bindungsstelle II erlaubt eine sichere Angabe über deren Beladungszustand [39].

1.5. Aktuelle Albuminpräparate

Die im klinischen Alltag verwendeten Albuminpräparationen werden nicht künstlich erzeugt, sondern aus humanen Plasmaspenden hergestellt. Dies birgt wie jede Art der Übertragung von humanem Gewebe oder Körperflüssigkeiten die Gefahr der Infektion mit Krankheitserregern. Aus diesem Grund sind verschiedene industrielle Verfahren notwendig, um das humane Spenderalbumin in einen erregerfreien und lagerungsfähigen Zustand zu bringen. Unter anderem gehört das Verfahren der Pasteurisierung dazu, wodurch das Proteinmolekül einer Temperatur ausgesetzt wird, bei der es normalerweise denaturiert. Um eine thermoresistentere Variante des Humanalbumins zu erhalten, werden stabilisierende Moleküle hinzugefügt, die über eine Konformationsänderung die benötigte Hitzestabilität erzeugen. Dazu binden die hinzugefügten Stabilisatoren vorrangig an der Benzodiazepin - Bindungsstelle des Albumins (Sudlow II). Für ein fehlerfreies Ergebnis der Pasteurisierung ist es erforderlich, die verwendeten Stabilisatoren den konventionellen Humanalbuminpräparationen überschüssig beizufügen. Dies führt u. a. zu einer Paralyse der Bindungsstelle II nach Sudlow und vermindert dadurch den theoretischen Vorteil der Humanalbumininfusion, da die angestrebte Bereitstellung von zusätzlichen Bindungsstellen fehlschlägt. In Studien zu diesem Thema konnte eine Reduzierung der ABiC auf ca. 45 % in konventionellen Humanalbuminpräparationen nach Ingredienz der Stabilisatoren gezeigt werden [56-57]. Dementsprechend ist bei der therapeutischen Gabe von Humanalbumin durch den Stabilisatorengehalt der pharmazeutischen Albuminpräparationen eine Beeinflussung der ABiC des Patienten anzunehmen.

Zu den verwendeten Stabilisatoren gehören die mittelkettige Fettsäure Octanoat und N - acetyltryptophanat (NAT) - ein Vorläufer der Aminosäure Tryptophan. Beide Substanzen werden in einem Verhältnis von 5,4: 1 (Stabilisatoren: Albuminmolekül) hinzugefügt. Diese Verhältniswerte sind ein Relikt des Humanalbumineinsatzes im zweiten Weltkrieg. Seinerzeit wurde ein Plasmaexpander zur Versorgung der Patienten gebraucht, der sicher keine Infektionen übertrug [58]. Die Behandelten waren vorrangig Patienten mit intakter Leberfunktion, so dass die Metabolisierung von Octanoat und NAT unschädlich und unauffällig ablief. Zum damaligen Zeitpunkt war das Wissen über die potentielle Rolle der beiden Substanzen und ihrer Metaboliten bezüglich der Komplikationen bei chronischen Lebererkrankungen gering. Es stellte sich heraus, dass neben der Besetzung von

Bindungsstellen beide Stabilisatoren die Klinik der dekompensierten Leberzirrhose verschlechtern.

Die Fettsäure Octanoat wirkt durch die Hemmung des endogenen Abbaus von Ammoniak im Harnstoffzyklus an Entwicklung der hepatischen Enzephalopathie mit [59]. Gleichzeitig aktiviert Octanoat den Abbau von verzweigt-kettigen Aminosäuren im Skelettmuskel. Dies führt zu einer Verminderung des protektiven Effekts bezüglich des hepatischen Komas, da das Gleichgewicht zwischen aromatischen und verzweigt-kettigen Aminosäuren gestört wird [60-63]. Octanoat hemmt die Na/K - ATPase der Astrozyten und stört damit den Volumenkontrollmechanismus der Zellen. Weiterhin akkumuliert Octanoat im Gehirn und wird zu Glutamat und Glutamin metabolisiert. Die Störung der Volumenkontrolle der Astrozyten sowie die Akkumulation und Metabolisation im Gehirn tragen potentiell zum entstehenden Hirnödem im Leberversagen bei [47, 64-68]. Durch albumingebundenes Octanoat kommt es zur Verdrängung von Tryptophan aus der Albuminbindung [44, 69] und infolgedessen zu einer erhöhten biologischen Verfügbarkeit der Aminosäure [70-72]. Eine zusätzliche Erhöhung der Konzentration im Plasma wird durch die Metabolisierung des zweiten Stabilisators NAT zu Tryptophan hervorgerufen. Die gesteigerte ungebundene Fraktion von Tryptophan hat eine vermehrte zerebrale Aufnahme zur Folge [73]. Tryptophan gilt als ein Cofaktor bei der Entstehung der hepatischen Enzephalopathie. In Kombination mit anderen, pathologisch erhöhten aromatischen Aminosäuren führt es zur Beeinträchtigung des Katecholamin - und Serotoninstoffwechsels [74-75]. Aus den entstehenden Neurotransmitter - Imbalancen erklärt sich ein Teil der Symptomatik bei der hepatischen Enzephalopathie wie z. B. neuropsychologische Veränderungen des Patienten, Somnolenz und Koma [76-79]. Es kommt hinzu, dass bei akuten oder chronischen Leberfunktionsstörungen die Plasmakonzentration des Tryptophanmetaboliten Oxindol erhöht ist. Dieser Anstieg führt durch Interferenzen mit neuronalen Natriumkanälen zu weiteren neurodepressiven und komainduzierenden Vorgängen [42, 80-81]. Neben den Auswirkungen auf die hepatische Enzephalopathie hat Octanoat vasoaktive Effekte, vorwiegend in Form einer Vasodilatation [82]. Durch die gleichzeitige Anwesenheit von Oxindol tritt die Vasodilatation auch schon bei niedrigen Plasmakonzentrationen des Octanoats auf [42]. Eine weitere bedeutende Erkenntnis über Octanoat ist sein Einfluss auf die mitochondriale Atmung. Unter der Anwesenheit von Octanoat besteht die Gefahr einer Pseudoentkopplung der oxidativen Phosphorylierung, mit entsprechend weitreichenden Folgen in verschiedenen Organen [48, 83].

Das erweiterte Wissen über die nachteiligen Einflüsse der beiden Konservierungsstoffe Octanoat und NAT veranlasste die Food and Drug Administration (FDA) zur Veröffentlichung der Empfehlung, Plasmakonzentrationen der genannten Stabilisatoren oberhalb der zugelassenen Grenzwerte zu vermeiden [84-85]. Dieses Vorgehen legt den Schluss nahe, dass die Vorteile der Humanalbumintherapie bei der Therapie der dekompensierten Leberzirrhose durch die signifikante Überladung mit Octanoat und NAT nicht nur vermindert, sondern durch die überwiegenden nachteiligen Effekte der Stabilisatoren vermutlich aufgehoben werden.

Von Seiten der Pharmaindustrie ist es bisher nicht möglich, therapeutisch nutzbares Humanalbumin ohne Octanoat und/oder NAT herzustellen, deswegen musste für die Anwendung von Humanalbumin eine innovative Lösung gefunden werden.

1.6. Hepalbin Filter

Der Hepalbin® - Adsorber wurde zur Entfernung von Stabilisatoren aus pharmazeutischen Humanalbuminpräparationen entwickelt. Es handelt sich hierbei um ein Gamma - sterilisiertes CE - gekennzeichnetes Medizinprodukt auf Aktivkohlebasis. Die Verwendung des Adsorbers für die Infusion erfolgt durch Anschluss an eine gebräuchliche Infusionsleitung und sollte immer in Kombination mit dem Partikelfilter RoweFil 48, ebenfalls CE - zertifiziert, durchgeführt werden.

Durch den Einsatz des Hepalbin® - Adsorbers ist eine Abreicherung der Stabilisatoren Octanoat und NAT in Humanalbuminlösungen möglich. Ein Filter ist dabei zur Entfernung der Stabilisatoren von 100 ml 20%iger Humanalbuminlösung geeignet. Um ein optimales Ergebnis zu erzielen, sollte die Durchflussgeschwindigkeit 150 ml/h nicht überschreiten. Bei dieser Perfusionsrate ist eine klinisch sinnvolle Abreicherung von Octanoat und NAT auf unter 0,3 mol/mol Albumin gewährleistet (Abb. 3).

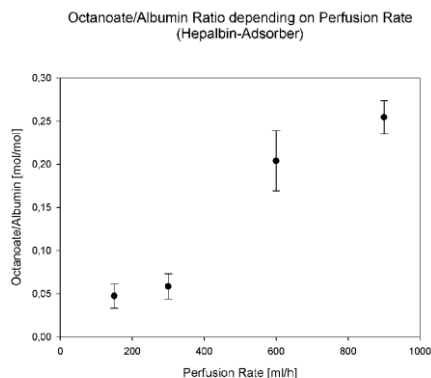


Abb. 3

Octanoatkonzentration nach Infusion von 100 ml HA 20% durch je einen Hepalbin® - Adsorber bei Perfusionsraten von 150 ml/h bis 900 ml/h [86]

Copyright Albutec GmbH

Die Indikationen für die Verwendung des Hepalbin® - Adsorbers beziehen sich auf die Indikationen für die therapeutische Gabe von Humanalbumin. Insbesondere sind hier Hypalbuminämie, Aszitesparazentese, spontan bakterielle Peritonitis und hepatorenales Syndrom zu nennen. Es bestehen keine Kontraindikationen in der Anwendung des Filters bei einer Albumininfusion. Diese bestünden nur indirekt in Form einer Kontraindikation gegen die Albumintherapie.

Mit dem Hepalbin® - Adsorber ist es auch möglich, mehr als 100 ml zu infundieren. Dazu wurden verschiedene Anwendungsaufbauten erprobt, bei denen sowohl eine Reihen - als auch eine Parallelschaltung durchführbar sind (Abb. 4).

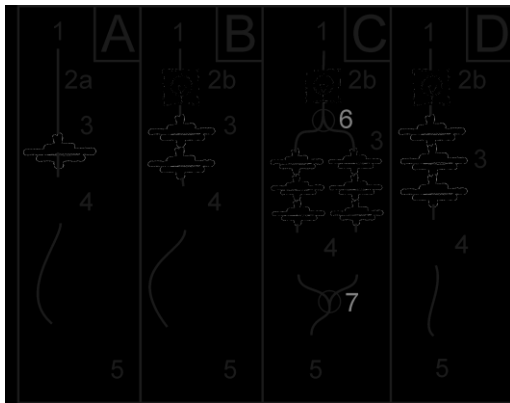


Abb. 4
verschiedene Aufbauten zur Anwendung des
Hepalbin® - Adsorbers [86-87] Copyright Albutec GmbH

Ab einer Adsorberanzahl von zwei sollte mit einer Infusionspumpe gearbeitet werden. Für alle Aufbauten gilt die generelle Vor- und Nachspülung mit isotonischer Kochsalzlösung. Unterschiede hierbei ergeben sich lediglich im Volumen (Tab. 2).

Tab. 2 Empfehlungen für die Stabilisatorenabreicherung unterschiedlicher Mengen
Humanalbumin [86] Copyright Albutec GmbH

HSA 20% Volumen in ml	100	200	300	400	500	600	700	800
Adsorberanzahl	1	2	3	3	4	4	6	6
Flussrate in ml/h	150	300	450	450	600	600	900	900
Mindest - Vorspülvolumen NaCl in ml	100	200	300	300	400	400	600	600
Mindest - Nachspülvolumen NaCl in ml	100	150	200	200	250	250	350	350

[56, 86-87]

Der Hepalbin® - Adsorber ist ein innovatives Medizinprodukt und ermöglicht eine Verbesserung der Therapie bei der dekompensierten Leberzirrhose.

2. Zielstellung

Mit der Einleitung soll nicht nur aktueller Wissenstand dargelegt, sondern auch die Notwendigkeit der durchgeführten Studie erläutert werden. Gerade durch die Erkenntnisse aus den Arbeiten von Klammt *et al.*, die herausarbeiten konnten, dass das Überleben der Patienten mit der Bindungskapazität des Albumins korreliert, entstand der Gedanke, durch eine geeignete Therapie die ABiC und damit das Überleben der Patienten zu verbessern.

Um diese Therapie zu finden, musste zunächst untersucht werden, welche Substanzen die ABiC *in vivo* beeinträchtigen, ob eine Verbesserung der ABiC generell möglich ist und welche Rolle die Entfernung der Stabilisatoren aus den pharmazeutischen Humanalbuminpräparationen spielt. Da es, wie in 1.5. bereits erwähnt, der Pharmaindustrie nicht möglich ist, therapeutisch nutzbare Humanalbuminpräparationen ohne die Stabilisatoren Octanoat und NAT herzustellen, führten wir die klinische Überprüfung mithilfe des in 1.6. beschriebenen Hepalbin® - Adsorbers in Form einer klinischen Studie durch.

In der vorliegenden Dissertation wurde herausgearbeitet ob ein Effekt durch die Bedside - Filtration von pharmazeutischen Human - Albuminpräparationen, unter Verwendung des Hepalbin™ - Adsorbers, erzielt werden kann (Nullhypothese). Hierbei waren insbesondere die Verläufe der Plasmakonzentrationen von Octanoat und N - Acetyltryptophanat (NAT) sowie der *in vivo* Albuminbindungskapazität (ABiC) von Bedeutung.

Ein weiteres Ziel war die Erstellung eines Ausgangspunktes für das Design einer prospektiv kontrollierten und doppelt verblindeten randomisierten Studie.

3. Studiendesign, Material und Methoden

Die Grundlage des folgenden Kapitels bildet das Studienprotokoll der klinischen Pilotstudie „Veränderung der Albumin - Bindungskapazität (ABiC) nach therapeutischer Gabe von Hepalbin® - Adsorber behandelten humanen Serumalbuminpräparationen“ [55].

Erweitert wurden die dort enthaltenen Angaben um die, sich Verlauf der praktischen Anwendung, notwendig gewordenen Anpassungen.

3.1. Studiendesign

Bei der, an der Universitätsklinik Rostock, Abteilung Innere Medizin, durchgeführten Studie handelt es sich um eine prospektive, kontrollierte und nicht interventionelle Beobachtungsstudie nach MPG. Das Patientengut umfasste zwei Kohorten. Die Kohorte eins beinhaltet die Patienten mit gefilterten Humanalbumininfusionen und die Kohorte zwei die Patienten mit konventionellen Humanalbumininfusionen.

3.1.1 Studienablauf

Eine schematische Darstellung des Studienablaufes zeigt die Abbildung fünf.

Vorphase

In der Vorphase erfolgte die Identifizierung potentieller Patienten (Screening). Nach Indikationsstellung für eine Humanalbumininfusion durch den behandelnden Arzt wurden die Patienten über die Studie aufgeklärt. Anschließend erfolgte eine Überprüfung der Ein - und Ausschlusskriterien. Nur wenn alle Einschlusskriterien und kein Ausschlusskriterium erfüllt waren, wurde der Patient endgültig in die Studie aufgenommen. Für beide Kohorten galten die gleichen Ein - und Ausschlusskriterien, die wie folgt lauteten:

Einschlusskriterien

- Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung
- Alter > 18 Jahre
- Vorliegen einer dekompensierten chronischen Lebererkrankung
- durch den behandelten Arzt gestellte Indikation zur Humanalbumingabe

Ausschlusskriterien

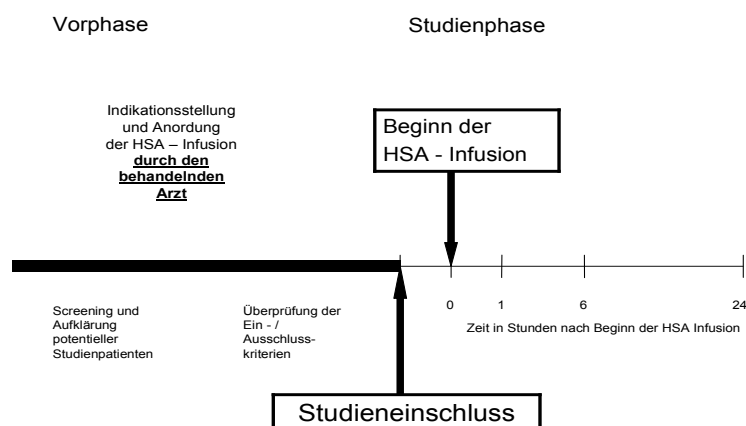
- aktive Blutung (notwendige Transfusion von > zwei EKK innerhalb von 24 Stunden vor Studieneinschluss um den Hämatokrit stabil zu halten)
- bestehende Notwendigkeit zur Substitution von Frischplasma innerhalb von 24 Stunden nach Studieneinschluss

Als Behandlungsmaßstab zur Therapie des hepatorenen Syndroms, des refraktären Aszites und der spontan bakteriellen Peritonitis kamen die allgemeingültigen Richtlinien (Ortega et al, Sort et al, Gines et al) zur Anwendung.

Studienphase

Nach der Aufnahme des Patienten in die Studie erfolgten unmittelbar vor Beginn der Humanalbumininfusion (Ausgangswert = 0) sowie zu weiteren definierten Zeitpunkten (nach Infusion, 6h und 24h nach Infusionsbeginn) Blutabnahmen. Wenn die Blutabnahme nach Infusion und die nach sechs Stunden Abnahme zeitlich nah zusammenfielen (Differenz < drei Stunden), wurden sie zu einer Abnahme zusammengefasst. Die Blutabnahmen erfolgten vorzugsweise über die bereits vorhandenen Zugänge (ZVK oder Venenverweilkanülen). Um Messfehler zu vermeiden, wurde bei Blutabnahme aus den vorhandenen Zugängen vor der eigentlichen Abnahme jeweils zehn ml Blut entnommen und verworfen. Pro Beobachtungszeitraum wurden maximal 122 ml Blut je Patient entnommen.

Abb. 5 Schema Studienablauf Copyright [55]



3.1.2. Erfasste Parameter

Nach Studieneinschluss wurden folgende Parameter von den Patienten erfasst (Tab. 3 und 4)

demografische und andere Parameter

- Initialen
- Geburtsdatum
- Geschlecht
- Genese der Lebererkrankung und Grund der Dekompensation
- Komorbiditäten
- Aufnahmedatum in das Krankenhaus

klinische Parameter

- Blutdruck
- Puls
- Urinausscheidung/Flüssigkeitsbilanz oder Gewicht → sofern durch das Stationspersonal gemessen
- Klinische Beurteilung: Grad der HE, Aszites
- Begleitmedikation
- Substitution von Gerinnungsfaktoren, Blut - und Plasmapräparaten im Zeitraum von 48h vor Studieneinschluss
- relevante diagnostische und therapeutische Maßnahmen

Laborparameter

Die Bestimmung der Routine - Laborparameter erfolgte im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universität Rostock. Die Parameter konnten nur dann erfasst werden, wenn sie im Rahmen der Diagnostik bestimmt wurden.

- Blutbild: Hb, Hk, Leukozyten, Thrombozyten
- Gerinnung: Quick, INR, pTT, Fibrinogen, Antithrombin, D-Dimere
- Elektrolyte: Natrium, Kalium., Calcium, Chlorid
- Substrate/Metabolite: Kreatinin, Harnstoff, Bilirubin, Ammoniak
- Leberenzyme: ALAT, ASAT, aP, γ -GT
- Proteine: CRP, Albumin, Gesamteiweiß
- Hormone: Renin, Aldosteron

spezielle Parameter

Die Bestimmung der speziellen Parameter erfolgte im Forschungslabor der Abteilung Nephrologie.

- Albuminbindungskapazität
- Gallensäuren
- Interleukin 6
- Octanoat
- N - acetyltryptophanat (NAT)

Tab. 3 Schema der Datenerhebung und Dokumentation Copyright [55]

	Vorphase	Zeitpunkt in Stunden nach Beginn der HSA - Infusion			
		0	Infusionsende	6	24
Demografische und weitere Patientencharakteristika	×				
Maßnahmen und Besonderheiten der letzten 24 Stunden (invasive Maßnahmen, SAE, ITS, Medikation, Plasmaprodukte)		×			×
Blutdruck, Puls		×	×	×	×
Flüssigkeitsbilanz, Aszites (Körpergewicht), HE, Scores (MELD, CHILD)		×			×

Tab. 4 Schema der Blutentnahmen Copyright [55]

	Zeitpunkt in Stunden nach Beginn der HSA - Infusion			
	0	Infusionsende	6	24
2 x 2,7 ml EDTA für Renin / Aldosteron	×	×	×	×
2 x 7,5 ml Lithium - Heparin für ABiC / Spezielle Parameter	×	×	×	×

3.2. Material und Methoden

Die therapeutischen Humanalbumininfusionen wurden mit konventionellen Humanalbuminpräparationen und üblichen Infusionssystemen durchgeführt, zu denen in der Kohorte eins der Hepalbin® - Adsorber sowie der RoweFil 48 Mikropartikelfilter eingefügt wurden. Die Spülung der Infusionssysteme, des Hepalbin® - Adsorbers und des RoweFil 48 Mikropartikelfilters erfolgte mit der hierfür standardmäßig verwendeten Kochsalzlösung. Wie in 1. 6. erläutert, ist zur optimalen Nutzung des Hepalbin® - Adsorber eine maximale Durchflussgeschwindigkeit von 150ml/h empfohlen. Mit diesem Hintergrund wurde auf eine Infusionsdauer von ca. 40 min pro 100 ml Humanalbumin geachtet. Um Unterschiede bei den gemessenen Parametern durch die Infusionengeschwindigkeit zu vermeiden, wurden die Infusionen in der Kontrollkohorte an diesen Sachverhalt angepasst.

Zur Bestimmung der o. g. Parameter dienten die auf den Stationen des Universitätsklinikums geführten Patientenakten und die zu den definierten Zeitpunkten entnommenen Blutproben. Nach Zentrifugation der Blutproben wurde das entstandene Plasma proportioniert und bei mindestens - 20°C bis zur weiteren Analyse aufbewahrt.

Die Erfassung des HE - Grades der Patienten wurde unter Zuhilfenahme des HESA - Scores, basierend auf den West Haven Kriterien, durchgeführt.

Für die Bestimmung der Albuminbindungskapazität wurde den gewonnenen Plasmaproben der Fluoreszenzmarkers Dansylsarkosin hinzugefügt. Dieser Marker besitzt eine Bindungsaffinität zur Benzodiazepin - Bindungsstelle des Albuminmoleküls (Sudlow II). In Korrelation mit den freien Bindungsstellen des Albuminmoleküls bindet ein Anteil des Markers. Der ungebundene Anteil des Dansylsarkosins wird durch Ultrafiltration bestimmt. Zur Erläuterung der weiteren Verfahrensweise wird auf das Kapitel 1.4. verwiesen.

Die Bestimmung von Octanoat erfolgte mittels Dampfraum Gaschromatografie (Dampfraum-GC-Analyse). Die Substanz N - acetyltryptophanat (NAT) wurde durch die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) analysiert.

Zur Ermittlung der Reninwerte im Plasma wurde das Grundprinzip des Immunradiometrischen Assays (IRMA) angewandt und die Bestimmung der Aldosteronwerte im Plasma erfolgte nach dem Grundprinzip des Radioimmunoassays (RIA).

Die statistische Auswertung und die grafische bzw. tabellarische Darstellung der Ergebnisse wurde mit den Programmen SPSS 17.0 Version 17.0.0 für Windows, Microsoft Office Excel und Word Version 2003 vorgenommen.

4. Ergebnisse

4.1. Beschreibung und Vergleich der Kohorten zum Zeitpunkt des Studienbeginns

In der Zeit von 10/2007 - 07/2008 erfolgte der Einschluss der Patienten in die Kohorten. In der Kohorte eins (Filterkohorte) wurden die Albumininfusionen mit Zwischenschaltung des Hepalbin® - Adsorbers vorgenommen. In der Kohorte zwei (Kontrollkohorte) wurden die Albumininfusionen konventionell durchgeführt. Um die Vergleichbarkeit beider Kohorten zu veranschaulichen, wurden die relevanten Daten der eingeschlossenen Probanden in den Tabellen fünf bis zehn differenziert dargestellt.

In der Tabelle fünf sind die Geschlechterverteilung, Ursachen der dekompensierten Leberzirrhose sowie die primäre Indikation für die Albumininfusion aufgeführt.

Tab. 5: Geschlechterverteilung, Ursachen der dekompensierten Leberzirrhose, primäre Albuminindikation der Kohorten 1 und 2

	Kohorte 1	Kohorte 2
<i>Geschlecht</i>		
männlich	18	13
weiblich	6	4
Quote	3 : 1	3,25 : 1
<i>Ursache Dekompensation</i>		
ETLZ	18	12
Andere	6	5
Quote	3 : 1	2,4 : 1
<i>Indikation für Albumininfusion</i>		
Aszitesparazentese (AP)	13	12
hepatorenales Syndrom (HRS)	5	3
Therapierefraktärer Aszites (TRA)	4	2
spontan bakterielle Peritonitis (SBP)	2	0

Die Tabellen sechs und sieben zeigen die Verteilungen der Filterkohorte (Tab. 6) und der Kontrollkohorte (Tab. 7) zum Zeitpunkt des Studienbeginns für die Parameter Alter, Albumin in g/l , INR, Bilirubin in $\mu\text{mol/l}$, Kreatinin in $\mu\text{mol/l}$, MELD, ABiC in %, Gallensäuren in $\mu\text{mol/l}$, Octanoat in $\mu\text{mol/l}$ und NAT in $\mu\text{mol/l}$ aufgeteilt nach primärer Albuminindikation. Weiterhin wurde in den Tabellen die verabreichte Humanalbuminmenge in ml pro Infusion aufgeführt. Der Parameter NAT war zum Zeitpunkt des Studienbeginns in beiden Kohorten nicht nachweisbar.

**Tab. 6 Darstellung verschiedener Parameter in der Kohorte 1 zum Zeitpunkt des Studienbeginns
(dunkelgrau = Gesamtheit, hellgrau = Untergruppen)**

Kohorte 1							
	MW	SA	Median	Min.	25. Perz.	75. Perz.	Max.
Alter (Jahren)	58,7	11,4	58	42	49	64,8	83
AP	61,5	12,8	63	46	49	71,5	83
HRS	55,4	6,3	53	49	50,5	61,5	65
trA	49,8	8,7	48	42	42,5	58,8	61
SBP	66	7,1	66	61	61		71
Albuminmenge (ml)	245,8	144,4	200	100	100	375	600
AP	323,1	148,1	300	100	200	400	600
HRS	160	89,4	100	100	100	250	300
trA	175	50	200	100	125	200	200
SBP	W. k.						
Albumin (g/l)	27,1	5,4	27	18,7	23,1	30,2	38,6
AP	28,9	4,7	28,2	21,9	26,4	31,8	38,6
HRS	23	8,1	19,1	18,7	18,8	31,2	35,2
trA	26,9	4,1	25,1	24,3	24,4	31,2	33,1
SBP	24	1,3	24	23,1	23,1		24,9
INR	1,6	0,4	1,5	1,1	1,3	1,8	2,7
AP	1,4	0,2	1,3	1,2	1,2	1,5	1,9
HRS	1,6	0,4	1,8	1,1	1,2	2	2,1
trA	1,9	0,7	1,6	1,5	1,5		2,7
SBP	1,7	0,1	1,7	1,7	1,7		1,8
Bilirubin (µmol/l)	143,9	165,2	49,6	6,2	34,5	210	543
AP	87	142,7	37	6,2	22,6	54,2	516,6
HRS	173,8	190,9	99,1	46,4	46,6	375,7	450,6
trA	291	194,3	267,5	86,1	117,1	488,5	543
SBP	160,1	17,9	160,2	147,5	147,5		172,8
Kreatinin (µmol/l)	164,8	124,6	130	75	99	166,5	647
AP	131,8	33,9	128	96	101,8	159,3	203
HRS	162	41,8	150	126	130,8	205,3	222
trA	275,3	322	97	82	82		647
SBP	202,5	180,3	202,5	75	75		330
MELD (1)	20,1	6,9	17,5	9	16	22,8	34
AP	16,3	3,5	16	9	14,3	18,8	22
HRS	24,8	6,7	26,5	16	17,8	30	30
trA	25,5	12	25,5	17	17		34
SBP	27,5	7,8	27,5	22	22		33
ABiC (%)	65,5	17,6	70,5	35	45	80,6	90
AP	71,9	15	71,5	43	68,4	81,5	90
HRS	56,2	19,6	56	35	37,5	75,2	78
trA	58,7	19,8	54,1	42	42,6	79,3	85
SBP	59,5	25,4	59,5	42	41,5		77
Gallesäuren (µmol/l)	76,2	52,5	72,4	6,3	46,8	103	256
AP	66,1	39,4	72,4	6,3	27,7	99,2	142
HRS	108	105,3	80,2	15,8	25,6	218,4	256
trA	65,2	22,3	58,5	46,8	48,3	88,7	96,9
SBP	100,2	13,9	100,2	90,3	90,3		110
Octanoat (µmol/l)	2,3	2,9	2	0	0	3,2	11,5
AP	3,1	3,5	2,5	0	0	4,4	11,5
HRS	1,3	1,9	0	0	0	3,3	4,1
trA	1,7	1,6	2	0	0		3,1
SBP	1	1,4	1	0	0		2
NAT (µmol/l)	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

MW: Mittelwert

SA: Standardabweichung

NG: Nachweisgrenze

Min/Max:

25./75. Perz.:

AP:

Minimum/Maximum

25./75. Perzentile

Aszitesparazentese

HRS: hepatorenales Syndrom

trA: therapieref. Aszites

SBP: spontan bakt. Peritonitis

	MW	SA	Median	Min.	25. Perz.	75. Perz.	Max.
Alter (Jahren)	59,8	11,7	62	45	46,5	65,5	82
AP	57,1	10,1	61	45	45,5	63,8	75
HRS	61,3	15	62	46	46		76
trA	73,5	12	73,5	65	65		82
Albuminmenge (ml)	205,9	82,7	200	100	100	300	300
AP	250	52,2	250	200	200	300	300
HRS	W. k.						
trA	W. k.						
Albumin (g/l)	28,5	6,8	24,9	20,9	22,7	35,5	40,5
AP	30,5	7,2	33,5	21,9	22,7	36,5	40,5
HRS	23,5	2,2	24,6	20,9	20,9		24,9
trA	24,6	1,9	24,6	23,2	23,2		25,9
INR	1,4	0,3	1,3	1,1	1,2	1,5	2,2
AP	1,3	0,3	1,3	1,1	1,2	1,4	2
HRS	1,7	0,5	1,7	1,2	1,2		2,2
trA	1,2	0,2	1,2	1,1	1,1		1,3
Bilirubin (µmol/l)	76,5	66,3	50,8	9,1	23,1	106,2	247
AP	61,5	55,9	26,4	9,1	21,8	94,5	174,7
HRS	136	100,3	109	52	52		247
trA	70,1	39	70,1	42,5	42,5		97,6
Kreatinin (µmol/l)	154,3	97,5	111,5	75	89,8	189,3	393
AP	169,5	108,7	115,5	75	89,8	235,3	393
HRS	125,5	16,3	125,5	114	114		137
trA	91,5	5	91,5	88	88		95
MELD (1)	17,6	5,5	16	9	12	23	26
AP	17,7	5,5	19	9	12	23	25
HRS	20,5	7,8	20,5	15	15		26
trA	14	2,8	14	12	12		16
ABiC (%)	79,4	19,4	83	41	64,5	90,5	124
AP	85,9	16,9	86	53	78	92,8	124
HRS	64,3	9,2	59	59	59		75
trA	63	31,1	63	41	41		85
Gallesäuren (µmol/)	84,1	35,9	78,3	37	56,5	116,7	156
AP	77,7	33,1	75,6	37	56,3	92,5	156
HRS	103,9	40,7	123,2	57,2	57,2		131,3
trA	89,2	57,7	89,2	48,4	48,4		13
Octanoat (µmol/l)	3,7	3	3,5	0	1	5,3	10,8
AP	3,5	3,3	4,1	0	0	5,1	10,8
HRS	4	2,8	7,8	2	2		7,2
trA	4,7	2,5	4,7	2,9	2,9		6,4
NAT (µmol/l)	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG	< NG

Tab. 7 Darstellung verschiedener Parameter in der Kohorte 2 zum Zeitpunkt des Studienbeginns (dunkelgrau = Gesamtheit, hellgrau = Untergruppen)

MW: Mittelwert Min/Max: Minimum/Maximum HRS: hepatorenales Syndrom
SA: Standardabweichung 25./75. Perz.: 25./75. Perzentile trA: therapieref. Aszites
NG: Nachweisgrenze AP: Aszitesparazentese SBP: spontan bakt. Peritonitis

Tabelle acht fasst die deskriptive Statistik der Tabellen sechs und sieben zusammen und vergleicht die beiden Kohorten direkt miteinander. Es wurden zuerst alle Parameter auf ihre Verteilungsart getestet. Aufgrund der Stichprobenmenge $n < 50$ erfolgte eine Anpassung des Kolmogorov - Smirnov - Tests (Signifikanzkorrektur nach Lilliefors) zum Shapiro - Wilk - Test. Dieser ergab eine Normalverteilung für den Parameter Alter. Alle anderen Parameter sind nicht normalverteilt. Nach Aufteilung der Kohorten nach ihrer primären Albuminindikation ergaben sich Änderungen bei den Verteilungsarten. So ist die Untergruppe Aszitesparazentese auch in den Parametern MELD, ABiC und Gallesäuren normalverteilt. Die Darstellung in der Tabelle acht wurde an diesen Sachverhalt folgendermaßen angepasst: Für alle mit einem * versehenen Parameter wurden anstatt der Mediane die Mittelwerte und anstatt der Minima/Maxima die Standardabweichungen eingetragen. Bei den normalverteilten Parametern erfolgte der Vergleich mittels des T - Tests für unabhängige Stichproben und bei den nicht normalverteilten Parametern mittels des Mann - Whitney - U - Tests. In die Durchführung des Mann - Whitney - U - Tests wurde die Berechnung der exakten Signifikanz aufgrund der geringen Fallzahl pro Stichprobe ($n < 30$) mit einbezogen. Weiterhin wurde immer die zweiseitige Signifikanz verwendet, da die vor der statistischen Analyse formulierte Nullhypothese lediglich eine Änderung erwarten ließ, aber nicht abzuleiten war, in welche Richtung diese weisen würde. Die Analyse ergab für alle Parameter außer der ABiC keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Kohorten. Damit sind die beiden Gruppen trotz der unterschiedlichen Fallzahlen und des insgesamt geringen Stichprobenumfangs miteinander vergleichbar. Für die ABiC zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Filter - und der Kontrollkohorte, der jedoch die Kontrollkohorte begünstigte. Bei Betrachtung der Zahlenwerte fällt auf, dass der Median der Filtergruppe 70,49 und der Median der Kontrollgruppe 83 beträgt. Dies bedeutet bessere Ausgangswerte in der Kontrollkohorte, so dass bei einer Verschlechterung dieser Gruppe nicht von einem primär bestehenden Problem gesprochen werden kann. Das Gleiche gilt für die Untergruppe Aszitesparazentese. Auch hier begünstigt der signifikante Unterschied in der ABiC (MW Kohorte 1 = 71,90; MW Kohorte 2 = 85,92) die Kontrollkohorte, die damit ebenfalls eine bessere Ausgangslage hatte.

Ein Vergleich der weiteren Untergruppen, HRS, TRA und SBP erfolgte aufgrund der geringen Fallzahlen nicht, um damit statistische Fehler zu vermeiden.

**Tab. 8 Vergleich der Kohorten 1 und 2 zum Zeitpunkt des Studienbeginns
(dunkelgrau = Gesamtheit, hellgrau = Untergruppen)**

Parameter	Kohorte 1			Kohorte 2			T-Test	U-Test
	M _{MW}	Min/Max _{SA}	SWT	M _{MW}	Min/Max _{SA}	SWT		
Alter* (Jahren)	58,7	11,4	p=0,162	59,8	11,7	p=0,092	p=0,765	p=0,798
AP*	61,5	12,8	p=0,140	57,1	10,1	p=0,109	p=0,346	p=0,300
HRS*	55,4	6,3		61,3	15			
trA*	49,8	8,7		73,5	12			
SBP*	66	7,1						
Albumininf. (ml)	200	100/600	p=0,006	200	100/300	p=0,002	p=0,311	p=0,555
AP	300	100/600	p=0,587	250	200/300	p=0,001	p=0,119	p=0,133
HRS	100	100/300		W. k.				
trA	200	100/200						
SBP								
Albumin (g/l)	27	18,7/38,6	p=0,660	24,9	20,9/40,5	p=0,008	p=0,465	p=0,740
AP	28,2	21,9/38,6	p=0,561	33,5	21,9/40,5	p=0,025	p=0,527	p=0,548
HRS	19,1	18,7/35,2		24,1	20,9/24,9			
trA	25,1	24,3/33,1		24,1	23,2/25,9			
SBP	24	23,1/24,9						
INR	1,5	1,1/2,7	p=0,015	1,3	1,1/2,2	p=0,003	p=0,140	p=0,097
AP	1,3	1,2/1,9	p=0,088	1,3	1,1/2	p=0,009	p=0,459	p=0,276
HRS	1,8	1,1/2,1		1,7	1,1/2,2			
trA	1,6	1,5/2,7		1,2	1,1/1,3			
SBP	1,7	1,7/1,8						
Bilirubin (µmol/l)	49,6	6,2/543	p=0,001	50,8	9,1/247	p=0,017	p=0,131	p=0,404
AP	37	6,2/516,6	p=0,001	26,4	9,1/174,7	p=0,019	p=0,584	p=1,000
HRS	99,1	46,4/450,6		109	52/247			
trA	267,5	86,1/543		70,1	42,5/97,6			
SBP	160,2	147,5/172,8						
Kreatinin (µmol/l)	130	75/647	p=0,001	111,5	75/393	p=0,001	p=0,782	p=0,471
AP	128	96/203	p=0,646	115,5	75/393	p=0,005	p=0,263	p=0,989
HRS	150	126/222		125,5	114/137			
trA	97	82/647		91,5	88/95			
SBP	202,5	75/330						
MELD (1)	17,5	9/34	p=0,029	16	9/26	p=0,304	p=0,264	p=0,357
AP*	16,3	3,5	p=0,523	17,7	5,5	p=0,274	p=0,472	p=0,513
HRS*	24,8	6,7		20,5	7,8			
trA*	25,5	12		14	2,8			
SBP*	27,5	7,8						
ABiC (%)	70,5	35/90	p=0,032	83	41/124	p=0,679	p=0,025	p=0,031
AP*	71,9	15	p=0,099	85,9	16,9	p=0,154	p=0,042	p=0,039
HRS*	56,2	19,6		64,3	9,2			
trA*	58,7	19,8		63	31,1			
SBP*	59,5	25,4						
GS (µmol/l)	72,4	6,3/256	p=0,003	78,3	37/156	p=0,362	p=0,608	p=0,358
AP*	66,2	39,4	p=0,591	77,7	33,1	p=0,185	p=0,451	p=0,424
HRS*	108	105,3		103,9	40,7			
trA*	65,2	22,3		89,2	57,7			
SBP*	100,2	13,9						
Octanoat (µmol/l)	2	0/11,5	p=0,001	3,5	0/10,8	p=0,215	p=0,142	p=0,72
AP	2,5	0/11,5	p=0,022	4,1	0/10,8	p=0,106	p=0,774	p=0,612
HRS	0	0/4,1		7,8	2/7,2			
trA	2	0/3,1		4,7	2,9/6,4			
SBP	1	0/2						
NAT (µmol/l)	< NG	< NG		< NG	< NG			

M:	Median	T - Test:	T - Test bei unabh. Stichproben
Min/Max:	Minimum/Maximum	U - Test:	Mann - Whitney - U - Test
MW:	Mittelwert	NG:	Nachweisgrenze
SA:	Standardabweichung	NV:	Normalverteilung
SWT:	Shapiro Wilk Test auf NV	*:	Angabe von MW und SA aufgrund der Normalverteilung
W. k.:	Werte konstant		

Die Tabelle neun und zehn führen die verordneten Medikamente der eingeschlossenen Patienten nach Kohorten geordnet insgesamt (Tab. 9) und für die Untergruppe Aszitesparazentese (Tab. 10) auf. Um eine Vergleichbarkeit zwischen den Gruppen darzustellen, wurde der χ^2 - Unabhängigkeitstest bei den relevanten Wirkstoffen durchgeführt. Die Auswertung erfolgte nicht bei den Diuretikakombinationen und den Medikamenten, die in einer Kohorte gar keinem Probanden bzw. in beiden Kohorten jeweils nur einem Probanden verabreicht worden waren. In die Tabelle wurden der χ^2 - Wert und die dazugehörige zweiseitige Signifikanz eingetragen. Sofern möglich erfolgte die Angabe des χ^2 - Wertes nach Pearson. Wenn aufgrund fehlender Voraussetzungen für den Test nach Pearson (> 20 % der Zellen einer Kreuztabelle haben erwartete Häufigkeiten < 5) dieser nicht angegeben werden konnte, erfolgte die Angabe des Likelihood - Quotienten. Die Auswertung des Tests ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kohorten bezüglich der verordneten Medikamente. Auch in der separaten Betrachtung der Untergruppe Aszitesparazentese wurden keine signifikanten Unterschiede in den verordneten Medikamenten zwischen den beiden Kohorten festgestellt.

Für die Mehrheit der betrachteten Substanzen bestand weiterhin eine identische Häufigkeitsverteilung ($p = 1,000$) in beiden Kohorten. Dies trifft auch für die separate Betrachtung der Untergruppe Aszitesparazentese zu.

Tab. 9 Medikamentenverteilung in den Kohorten 1 und 2 mit χ^2 - Unabhängigkeitstest zum Zeitpunkt des Studienbeginns

Medikament	Kohorte 1	Kohorte 2	χ^2 -Wert	p
Diuretika*	<u>23/24</u>	<u>17/17</u>	1,089*	1,000
Spirolacton (S)*	21/23	15/17	0,005*	1,000
Torasemid (T)	13/23	9/17	0,006	1,000
Furosemid (F)	8/23	8/17	0,788	0,518
Xipamid (X)	8/23	6/17	0,071	1,000
Hydrochlorothiazid (H)*	0/23	1/17		
Diuretikakombinationen				
S/T	11/23	0/17		
S/F	3/23	5/17		
S/T/X	1/23	6/17		
S/F/X	5/23	0/17		
T	1/23	1/17		
S	1/23	1/17		
T/X	1/23	0/17		
S/X	1/23	0/17		
S/F/H	0/23	1/17		
S/T/F	0/23	1/17		
F	0/23	1/17		
Schmerzmittel*	<u>6/24</u>	<u>4/17</u>	0,012*	1,000
Antihypertensiva	<u>10/24</u>	<u>11/17</u>	1,172	0,350
Propranolol*	7/10	5/11	0,000*	1,000
Nitrate*	<u>0/24</u>	<u>1/17</u>		
Thrombozytenagg.hemmer*	<u>0/24</u>	<u>3/17</u>		
Antiarrhythmika	<u>0/24</u>	<u>2/17</u>		
Antibiotika*	<u>4/24</u>	<u>5/17</u>	0,932*	0,450
Antidepressiva	<u>1/24</u>	<u>1/17</u>		
Sedativa	<u>1/24</u>	<u>1/17</u>		
Neuroleptika	<u>1/24</u>	<u>0/17</u>		
Antikonvulsiva	<u>0/24</u>	<u>1/17</u>		
L - Dopa + Benserazid	<u>0/24</u>	<u>2/17</u>		
Pyridostigmin	<u>0/24</u>	<u>1/17</u>		
Noradrenalin*	<u>2/24</u>	<u>1/17</u>	0,090*	1,000
Terlipressin*	<u>2/24</u>	<u>1/17</u>	0,090*	1,000
Heparin*	<u>1/24</u>	<u>2/17</u>	0,836*	0,560
Ornithinaspartat*	<u>4/24</u>	<u>2/17</u>	0,195*	1,000
Vitamin K	<u>12/24</u>	<u>4/17</u>	2,930	0,113
Vitamin B1	<u>0/24</u>	<u>2/17</u>		
Kalium*	<u>4/24</u>	<u>3/17</u>	0,007*	1,000
Magnesium	<u>1/24</u>	<u>1/17</u>		
Calcium	<u>0/24</u>	<u>1/17</u>		
Sucralfat	<u>1/24</u>	<u>0/17</u>		
Alendronat	<u>1/24</u>	<u>0/17</u>		
Allopurinol	<u>1/24</u>	<u>0/17</u>		
L-Thyroxin	<u>0/24</u>	<u>2/17</u>		
Ursodesoxycholsäure	<u>0/24</u>	<u>1/17</u>		
Tarcolimus	<u>1/24</u>	<u>0/17</u>		

Die Auswertung erfolgte nicht bei den Diuretikakombinationen und den Medikamenten, die in einer Kohorte gar keinem Probanden bzw. in beiden Kohorten jeweils nur einem Probanden verabreicht worden waren.

χ^2 -Wert: Chi-Quadrat Wert nach Pearson
 χ^2 -Wert * : Chi-Quadrat Wert nach Likelihood - Quotient
p: dem χ^2 -Wert entsprechende Signifikanz

Tab. 10 Medikamentenverteilung in den Untergruppen Aszitesparazentese der Kohorten 1 und 2 mit χ^2 - Unabhängigkeitstest zum Zeitpunkt des Studienbeginns

Medikament	UG AP Kohorte 1	UG AP Kohorte 2	χ^2 -Wert	p
Diuretika*	12/13	12/12	1,346*	1,000
Spirolacton (S)*	12/12	11/12	0,003*	0,953
Torasemid (T)*	7/12	9/12	1,230*	0,411
Furosemid (F)*	5/12	4/12	0,071*	1,000
Xipamid (X)*	5/12	5/12	0,027*	1,000
Hydrochlorothiazid (H)	0/12	1/12		
Diuretikakombinationen				
S/T	6/12	8/12		
S/F	5/12	4/12		
S/T/X	1/12	5/12		
S/F/X	3/12	0/12		
T	0/12	1/12		
S	1/12	0/12		
T/X	2/12	5/12		
S/X	4/12	5/12		
S/F/H	0/12	1/12		
S/T/F	0/12	1/12		
F	0/12	0/12		
Schmerzmittel*	4/13	3/12	0,103*	1,000
Antihypertensiva	7/13	7/12	0,051	1,000
Propranolol*	5/7	4/7	0,071*	1,000
Nitrate*	0/13	1/12		
Thrombozytenaggregationshemmer*	0/13	3/12		
Antiarrhythmika	0/13	1/12		
Antibiotika*	2/13	4/12	1,115*	0,378
Antidepressiva	0/13	1/12		
Sedativa	1/13	1/12		
Neuroleptika	1/13	0/12		
Antikonvulsiva	0/13	1/12		
L - Dopa + Benserazid	0/13	2/12		
Pyridostigmin	0/13	0/12		
Noradrenalin*	1/13	1/12		
Terlipressin*	1/13	1/12		
Heparin	0/13	1/12		
Ornithinaspartat*	1/13	2/12	0,482*	0,488
Vitamin K	4/13	0/12		
Vitamin B1	0/13	1/12		
Kalium*	2/13	3/12	0,362*	0,645
Magnesium	0/13	1/12		
Calcium	0/13	1/12		
Sucralfat	0/13	0/12		
Alendronat	1/13	0/12		
Allopurinol	1/13	0/12		
L-Thyroxin	0/13	2/12		
Ursodesoxycholsäure	0/13	1/12		
Tarcolimus	0/13	0/12		

Die Auswertung erfolgte nicht bei den Diuretikakombinationen und den Medikamenten, die in einer Kohorte gar keinem Probanden bzw. in beiden Kohorten jeweils nur einem Probanden verabreicht worden waren.

UG: Untergruppe
 AP: Aszitesparazentese
 χ^2 -Wert: Chi-Quadrat Wert nach Pearson
 χ^2 -Wert * : Chi-Quadrat Wert nach Likelihood - Quotient dem χ^2 -Wert entsprechende Signifikanz
 p:

4.2. Auswertung der Messergebnisse

Die Auswertung der Messergebnisse erfolgte innerhalb der Gruppen, da es das Ziel dieser klinischen Studie war, aufzuzeigen, inwieweit ein messbarer Effekt durch die Filtration nachweisbar ist. Das Ausmaß der in dieser Studie dargestellten Konzentrationsveränderungen der beobachteten Parameter muss in weiteren Untersuchungen mit größeren Fallzahlen und Randomisierung verifiziert werden.

Zunächst wurden die zu den definierten Zeitpunkten gemessenen Werte der Parameter ABiC, Octanoat, NAT, Albumin, Bilirubin und Gallensäuren in den Tabellen elf und zwölf aufgeführt.

Danach erfolgte die Darstellung der Messergebnisse in Form von Zeitverläufen, die anhand der jeweiligen Plasmakonzentrationen der Parameter zu den einzelnen Messzeitpunkten (vor = vor Infusion, na = nach Infusion, na6 = 6h nach Infusion, na24 = 24h nach Infusion) gebildet wurden. Die Grafiken zeigen einerseits den Verlauf der Parameter ABiC, Octanoat, NAT, Albumin, Bilirubin und Gallensäuren jedes einzelnen Probanden in den beiden Kohorten und in der Untergruppe Aszitesparazentese (AP) der Kohorten (Grafik 1 - 4, 7 - 10, 13 - 16, 19 - 22, 25 - 28, 31 - 34) und andererseits einen zusammengefassten Verlauf der o. g. Parameter beider Kohorten und in der Untergruppe Aszitesparazentese (AP) der Kohorten (Grafik 5/6, 11/12, 17/18, 23/24, 29/30, 35/36).

Tab. 11 Parameter der Kohorte eins zu den Zeitpunkten Studienbeginn (vor Infusion), nach Infusion und 24 Stunden nach Infusion
(dunklere Töne = Gesamtheit, hellere Töne = Untergruppe AP)

Kohorte 1						
Parameter	vor Inf		nach Inf		24h nach Inf	
	M _{MW}	Min/Max _{SA}	M _{MW}	Min/Max _{SA}	M _{MW}	Min/Max _{SA}
ABiC (%)	70,5	35/90	81,2	36/91	85,1	36/100
AP*	71,9*	15*	81,9*	7,9*	85,7*	12*
Octanoat (µmol/l)	2	0/11,5	2,8	0/14,4	2,9	0/9,2
AP	2,5	0/11,5	3,4	0/14,4	3	0/9,2
NAT (µmol/l)	< NG	entfällt	< NG	entfällt	< NG	entfällt
AP	< NG	entfällt	< NG	entfällt	< NG	entfällt
Albumin i.S. (µmol/l)	27	18,7/38,6	30,9	19,2/45,5	29,8	18,3/38,5
AP	28,2	21,9/38,6	33,6	26,9/45,5	30,1	18,3/38,5
Bilirubin (µmol/l)	49,6	6,2/543	49,9	7,1/560,4	65,5	8,1/577,5
AP	37	6,2/516,6	44,8	7,1/560,4	29,4	8,1/481,2
Gallesäuren (µmol/l)	72,4	6,3/256	66,7	7,9/265	70,8	20,6/258
AP	72,4	6,3/142	45	7,9/152,8	77,2	20,6/149

Tab. 12 Parameter der Kohorte zwei zu den Zeitpunkten Studienbeginn (vor Infusion), nach Infusion und 24 Stunden nach Infusion
(dunklere Töne = Gesamtheit, hellere Töne = Untergruppe AP)

Kohorte 2						
Parameter	vor Inf		nach Inf		24h nach Inf	
	M _{MW}	Min/Max _{SA}	M _{MW}	Min/Max _{SA}	M _{MW}	Min/Max _{SA}
ABiC (%)	83	41/124	81	54/112	90	53/124
AP	86	53/124	90	64/112	95	53/124
Octanoat (µmol/l)	3,5	0/10,8	17,4	3,3/96,1	3,3	0/14,9
AP	4,1	0/10,8	23,7	3,3/96,1	3,9	0/11
NAT (µmol/l)	< NG	entfällt	0,1	0/0,5	< NG	entfällt
AP	< NG	entfällt	0,1	0,1/0,5	< NG	entfällt
Albumin i.S. (µmol/l)	24,9	20,9/40,5	32,9	24,3/47,7	31,2	22,2/43,2
AP	33,5	21,9/40,5	38,2	24,8/47,7	35,9	24,3/43,2
Bilirubin (µmol/l)	50,8	9,1/247	47,9	10,1/248	46,9	12,1/257
AP	26,4	9,1/174,7	25,4	10,1/170,2	32,8	12,1/117
Gallesäuren (µmol/l)	78,3	37/156	71,9	28,5/140	54,3	22,6/134
AP	75,6	37/156	45,8	28,5/140	58,1	22,6/91,8

M: Median
 MW: Mittelwert
 SA: Standardabweichung
 Min/Max: Minimum/Maximum
 NG: Nachweisgrenze

vor Inf: Messwerte vor Humanalbumininfusion
 nach Inf: Messwerte nach Humanalbumininfusion
 24h nach Inf: Messwerte 24h nach Humanalbumininfusion
 AP: Aszitesparazentese
 *: Angabe von MW und SA aufgrund der Normalverteilung

Um die Veränderungen der Plasmakonzentrationen der einzelnen Parameter aufzuzeigen, wurden die Stichproben *vor Infusion mit nach Infusion (Stichprobenverbund eins)* und *vor Infusion mit 24 Stunden nach Infusion (Stichprobenverbund zwei)* pro Kohorte und Parameter miteinander verglichen. Auch hier erfolgte eine separate Betrachtung der Untergruppe Aszitesparazentese. Untersucht wurden die Parameter ABiC, Octanoat, NAT, Albumin, Bilirubin und Gallensäuren mittels Wilcoxon - Test. Nur bei dem Parameter ABiC in der Untergruppe Aszitesparazentese der Filterkohorte wurde der T - Test für verbundene Stichproben angewandt, da bei diesem Parameter in allen Stichproben (vor Infusion, nach Infusion, 24h nach Infusion) eine Normalverteilung vorlag. Entsprechend der im vorherigen Abschnitt getätigten Aussage erfolgte auch hier die Berechnung der exakten Signifikanz aufgrund der geringen Fallzahl pro Stichprobe ($n < 30$) und die Verwendung der zweiseitigen Signifikanz wegen der offenen Formulierung der Nullhypothese.

Bei der Auswertung der jeweiligen Tests zeigte sich ein **hoch signifikanter** Unterschied der Albuminkonzentration beim Vergleich der Stichproben *vor Infusion* mit den Stichproben *nach Infusion* in beiden Kohorten und Untergruppen. Die Kohorte zwei wies beim Vergleich der Stichproben *vor Infusion* mit den Stichproben *24 Stunden nach Infusion* für diesen Parameter ebenfalls einen **hoch signifikanten** Unterschied auf, welcher in der Untergruppe Aszitesparazentese **sehr signifikant** war. In der Kohorte eins zeigte sich bei diesem Vergleich ein **signifikanter** Unterschied, der in der Untergruppe Aszitesparazentese nicht bestand.

Für die Veränderung der ABiC konnten folgende Signifikanzen festgestellt werden:

- In der Kohorte eins, Vergleich der Stichproben *vor Infusion mit nach Infusion* **sehr signifikant** in der Gesamtheit sowie **signifikant** in der Untergruppe Aszitesparazentese.
- Beim Vergleich der Stichproben *vor Infusion mit 24 Stunden nach Infusion* der Kohorte eins in der Gesamtheit als auch in der Untergruppe **sehr signifikant**.
- In der Kohorte zwei war hingegen **keine signifikante** Veränderung der ABiC, beim Vergleich der Stichproben *vor Infusion mit nach Infusion/ vor Infusion mit 24 Stunden nach Infusion* in der Gesamtheit oder der Untergruppe Aszitesparazentese messbar.

Bei der Untersuchung der Stabilisatoren Octanoat und NAT zeigten sich in der Kohorte eins in der verbundenen Stichprobe *vor Infusion mit nach Infusion (Stichprobenverbund eins)* in der Gesamtheit und in der Untergruppe **keine signifikanten** Veränderungen der

Plasmakonzentrationen. Allerdings konnte in der verbundenen Stichprobe *vor Infusion mit 24 Stunden nach Infusion (Stichprobenverbund zwei)* der Kohorte eins für die Substanz Octanoat ein **signifikanter** Unterschied in der Gesamtheit festgestellt werden. In der Untergruppe Aszitesparazentese war dieser nicht vorhanden.

Im Gegensatz dazu zeigten sich in der Kohorte zwei im *Stichprobenverbund eins, vor Infusion mit nach Infusion* **hoch signifikante** Veränderungen der Plasmakonzentrationen von Octanoat und NAT in der Gesamtheit und **sehr signifikante** Unterschiede in der Untergruppe Aszitesparazentese. Im *Stichprobenverbund zwei, vor Infusion mit 24 Stunden nach Infusion* der Kohorte zwei waren diese Veränderungen nicht reproduzierbar, es zeigten sich **keine signifikanten** Unterschiede.

Für die weiteren Parameter (Bilirubin und Gallensäuren) ergaben sich in beiden Kohorten **keine signifikanten** Unterschiede der Plasmakonzentrationen beim Vergleich der Stichproben *vor Infusion mit nach Infusion (Stichprobenverbund eins)* und *vor Infusion mit 24 Stunden nach Infusion (Stichprobenverbund zwei)* (Tab. 13 und 14).

Zur grafischen Darstellung wurden die Signifikanzen p1 (Signifikanz der verbundenen Stichprobe *vor Infusion mit nach Infusion, Stichprobenverbund eins*) und p2 (Signifikanz der verbundenen Stichprobe *vor Infusion mit 24 Stunden nach Infusion, Stichprobenverbund zwei*) in die Grafiken 1 – 36 eingearbeitet.

Für jeden Parameter wurden sechs Grafiken erstellt:

- Zeitlicher Verlauf pro Proband einer Kohorte (zwei Grafiken), mit Signifikanzen p1 und p2
- Zeitlicher Verlauf pro Proband der Untergruppe Aszitesparazentese einer Kohorte (zwei Grafiken), mit Signifikanzen p1 und p2
- Zusammengefasster zeitlicher Verlauf aller Probanden der Kohorten (eine Grafik), teilweise mit einer Geraden zur Verdeutlichung des Trends
- Zusammengefasster zeitlicher Verlauf aller Probanden der Untergruppen Aszitesparazentese der Kohorten (eine Grafik), teilweise mit einer Geraden zur Verdeutlichung des Trends

Tab. 13 Signifikanzen der Stichprobenverbände 1 (vor Infusion mit nach Infusion) und 2 (vor Infusion mit 24 Stunden nach Infusion) in der Kohorte 1 (p1 für Stichprobenverbund 1, p2 für Stichprobenverbund 2) (dunkelgrau = Gesamtheit, hellgrau = Untergruppe)

Kohorte 1						
Parameter	p 1	SN	Test	p 2	SN	Test
ABiC (%)	0,006	**	W	0,001	**	W
AP	0,013	*	vT	0,002	**	vT
Octanoat (µmol/l)	0,079	ns	W	0,039	*	W
AP	0,223	ns	W	0,383	ns	W
NAT (µmol/l)	1,000	ns	W	1,000	ns	W
AP	1,000	ns	W	1,000	ns	W
Albumin i.S. (µmol/l)	< 0,001	***	W	0,022	*	W
AP	< 0,001	***	W	0,063	ns	W
Bilirubin (µmol/l)	0,924	ns	W	0,546	ns	W
AP	0,424	ns	W	0,520	ns	W
Gallesäuren (µmol/l)	0,768	ns	W	0,669	ns	W
AP	0,636	ns	W	0,359	ns	W

Tab. 14 Signifikanzen der Stichprobenverbände 1 (vor Infusion mit nach Infusion) und 2 (vor Infusion mit 24 Stunden nach Infusion) in der Kohorte 2 (p1 für Stichprobenverbund 1, p2 für Stichprobenverbund 2) (dunkelgrau = Gesamtheit, hellgrau = Untergruppe)

Kohorte 2						
Parameter	p 1	SN	Test	p 2	SN	Test
ABiC (%)	0,518	ns	W	0,800	ns	W
AP	0,513	ns	W	0,195	ns	W
Octanoat (µmol/l)	< 0,001	***	W	0,947	ns	W
AP	< 0,001	**	W	0,516	ns	W
NAT (µmol/l)	< 0,001	***	W	1,000	ns	W
AP	0,001	**	W	1,000	ns	W
Albumin i.S. (µmol/l)	< 0,001	***	W	< 0,001	***	W
AP	< 0,001	***	W	0,004	**	W
Bilirubin (µmol/l)	0,706	ns	W	0,237	ns	W
AP	0,983	ns	W	0,238	ns	W
Gallesäuren (µmol/l)	0,528	ns	W	0,340	ns	W
AP	0,520	ns	W	0,375	ns	W

Stichprobenverbund 1

Stichproben vor Infusion mit nach Infusion

Stichprobenverbund 2

Stichproben vor Infusion mit 24h nach Infusion

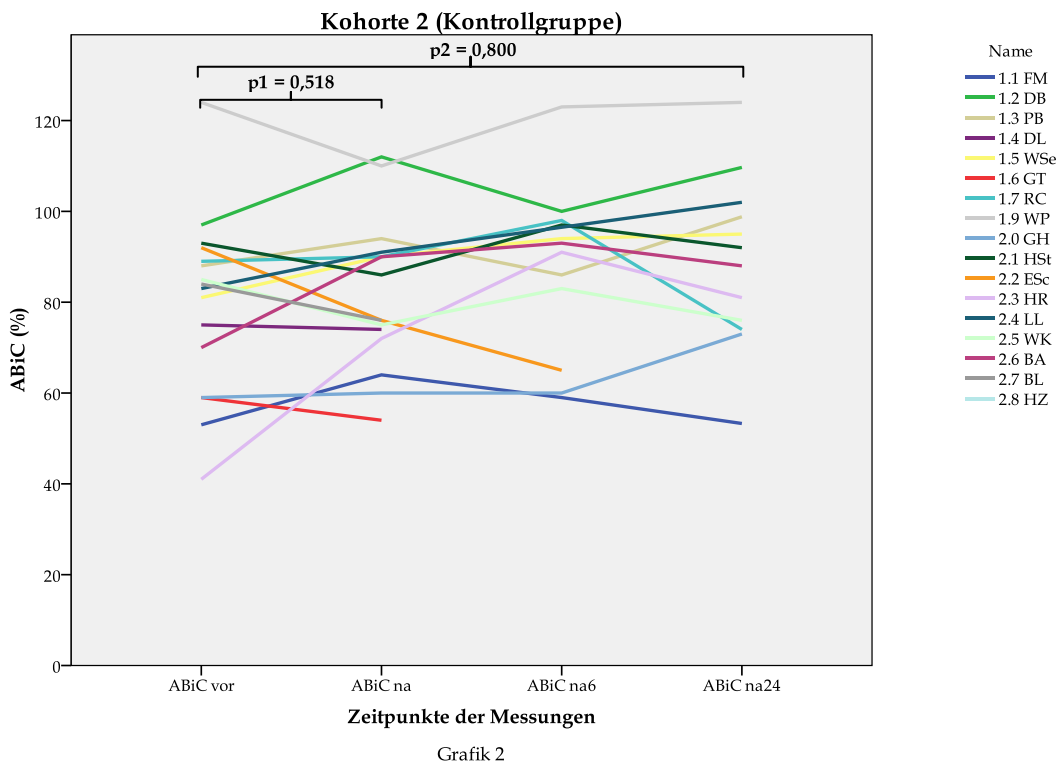
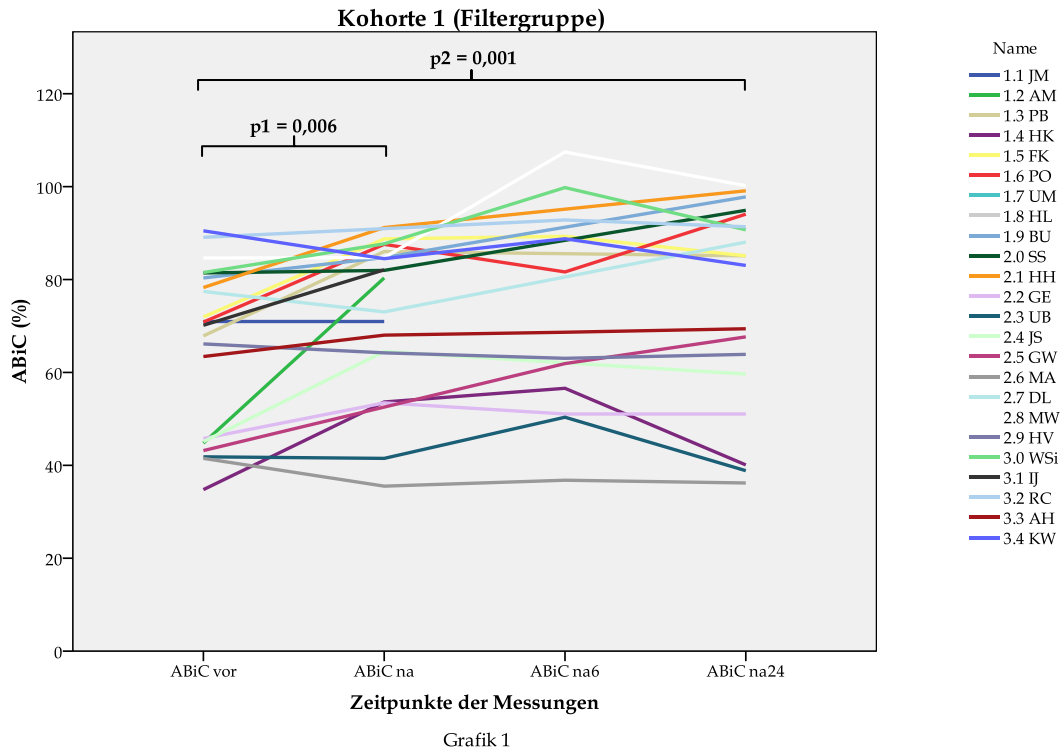
vT verbundener T - Test
 SN Signifikanzniveau
 AP Aszitesparazentese

W Wilcoxon - Test
 ns nicht signifikant

*** hochsignifikant (<0,001)
 ** sehr signifikant (<0,01)

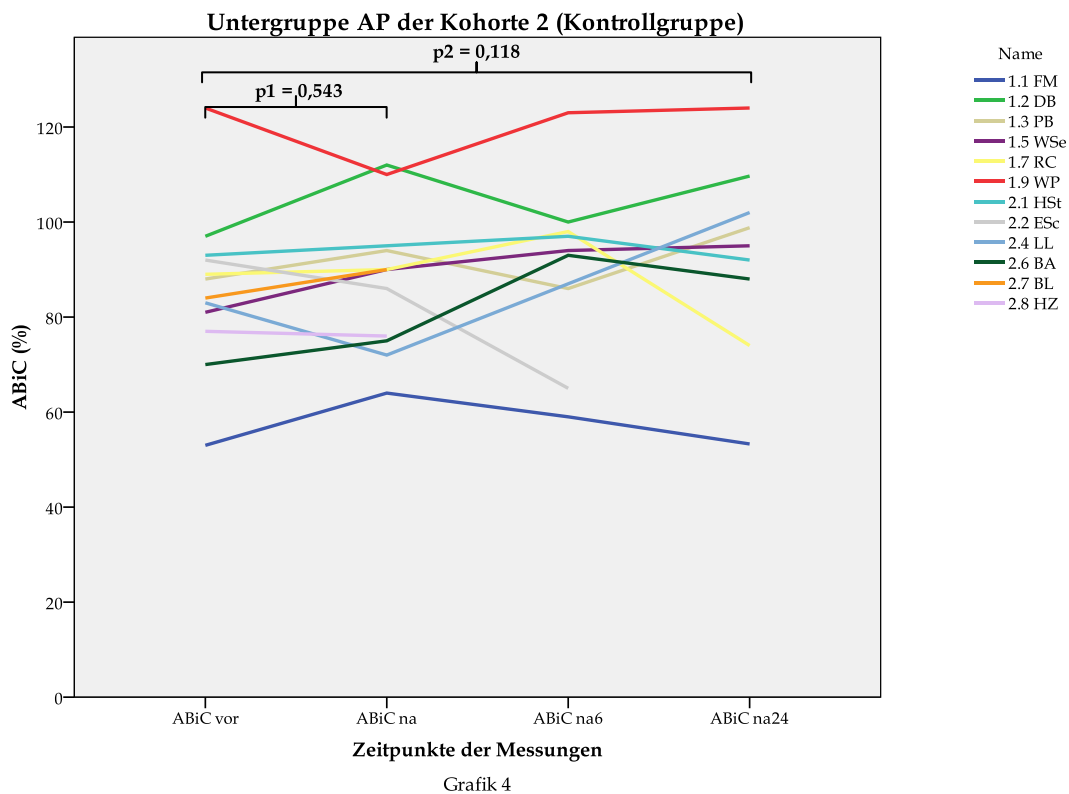
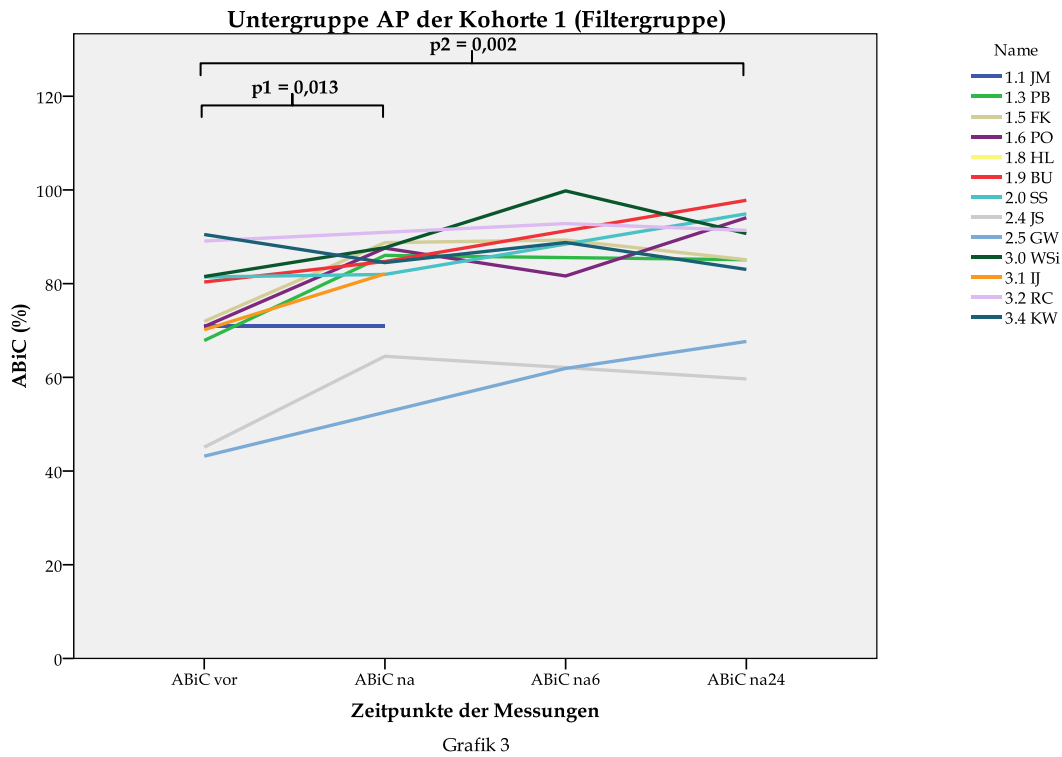
* signifikant (<0,05)

ABiC - Verlauf



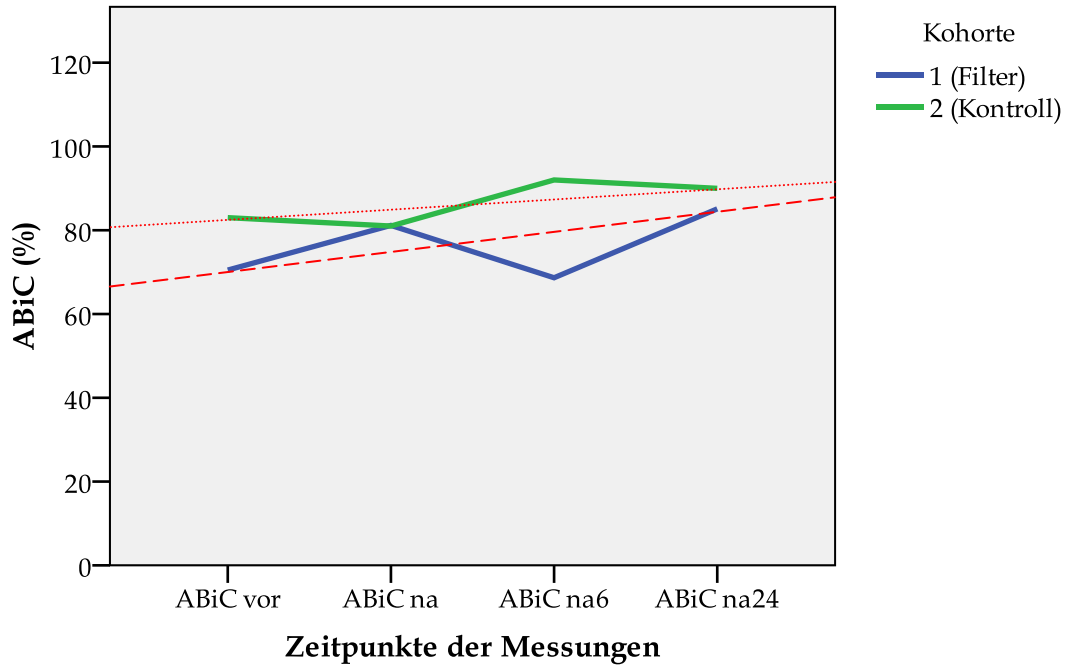
Grafik 1 und 2: Zeitverläufe der ABiC pro Proband in den Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen p1 und p2 (s. Tab. 13 und 14)

ABiC - Verlauf in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP)



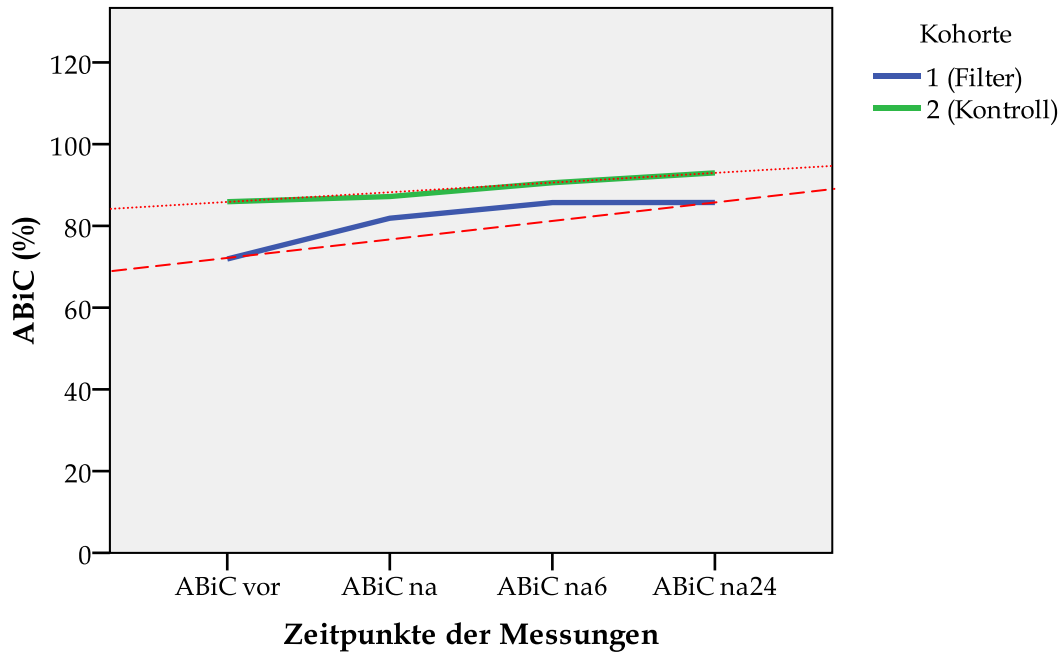
Grafik 3 und 4: Zeitverläufe der ABiC pro Proband in den Untergruppen AP der Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen $p1$ und $p2$ (s. Tab. 13 und 14)

ABiC - Verlauf in den Kohorten



Grafik 5: zusammengefasster Zeitverlauf der ABiC in den Kohorten 1 und 2

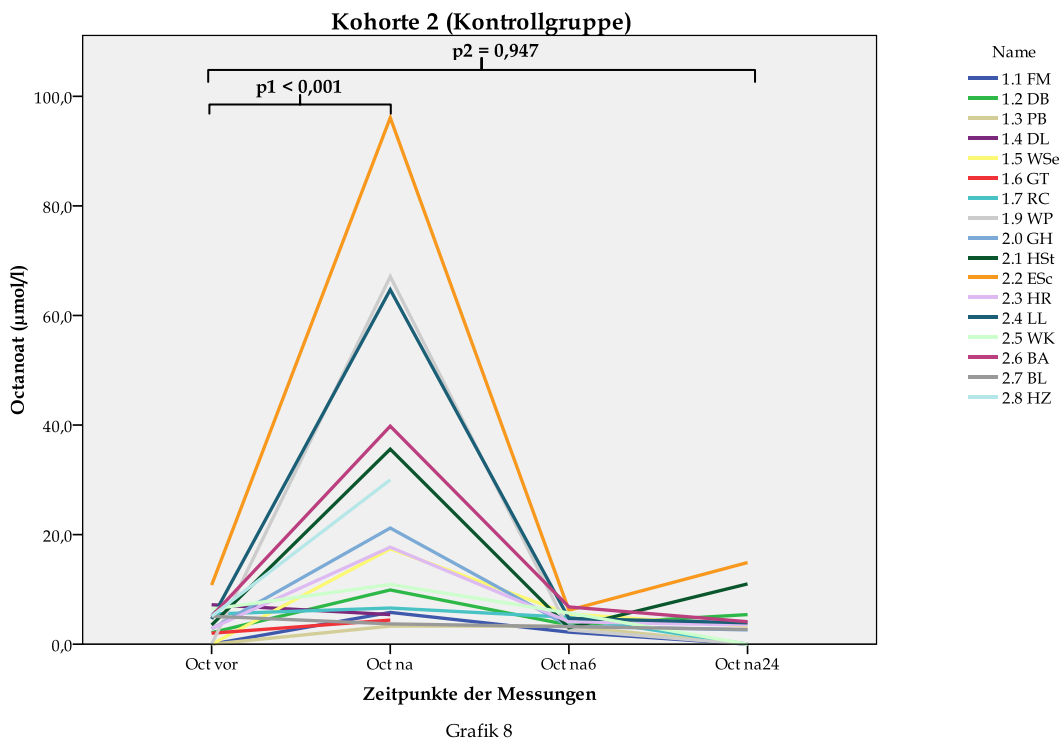
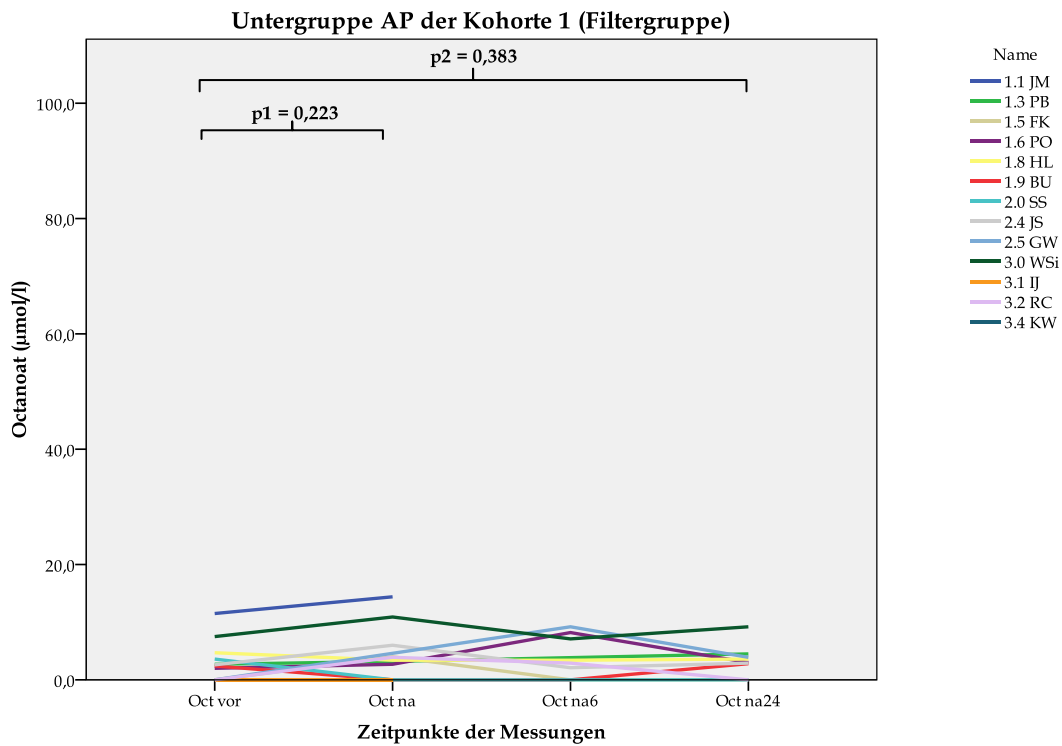
ABiC - Verlauf in den Kohorten Untergruppe AP



Grafik 6: zusammengefasster Zeitverlauf der ABiC in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP) der Kohorten 1 und 2

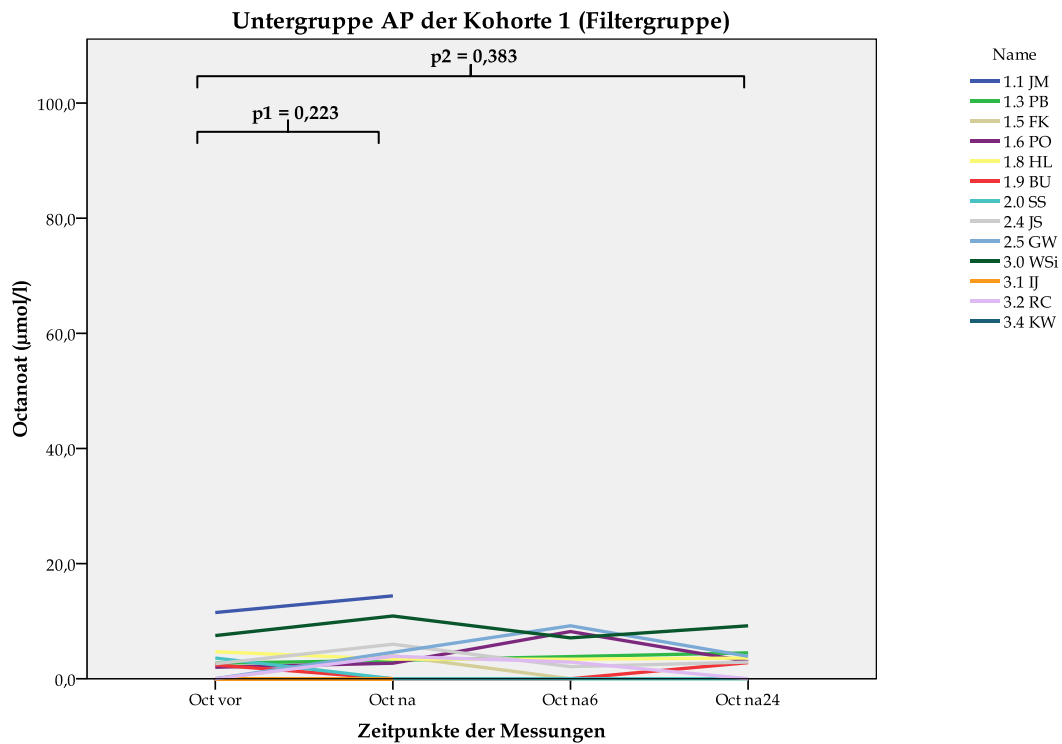
Die rote Gerade verdeutlicht die jeweilige Verlaufstendenz.

Octanoat - Verlauf

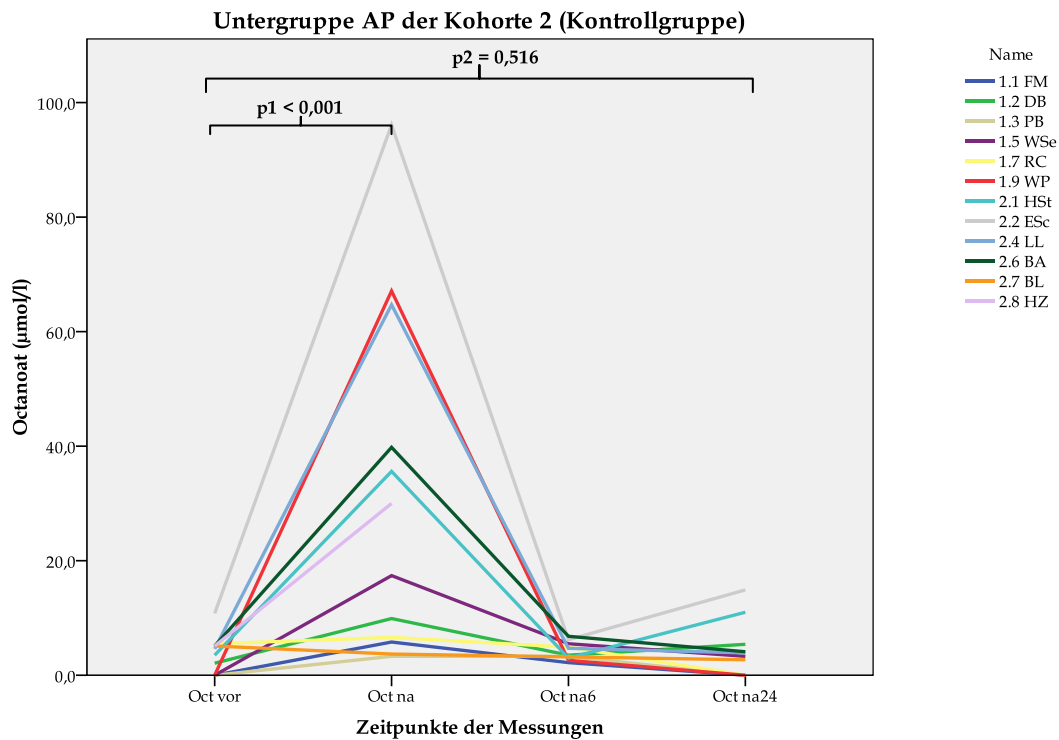


Grafik 7 und 8: Zeitverläufe des Octanoats (Oct) pro Proband in den Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen $p1$ und $p2$ (s. Tab. 13 und 14)

Octanoat - Verlauf in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP)

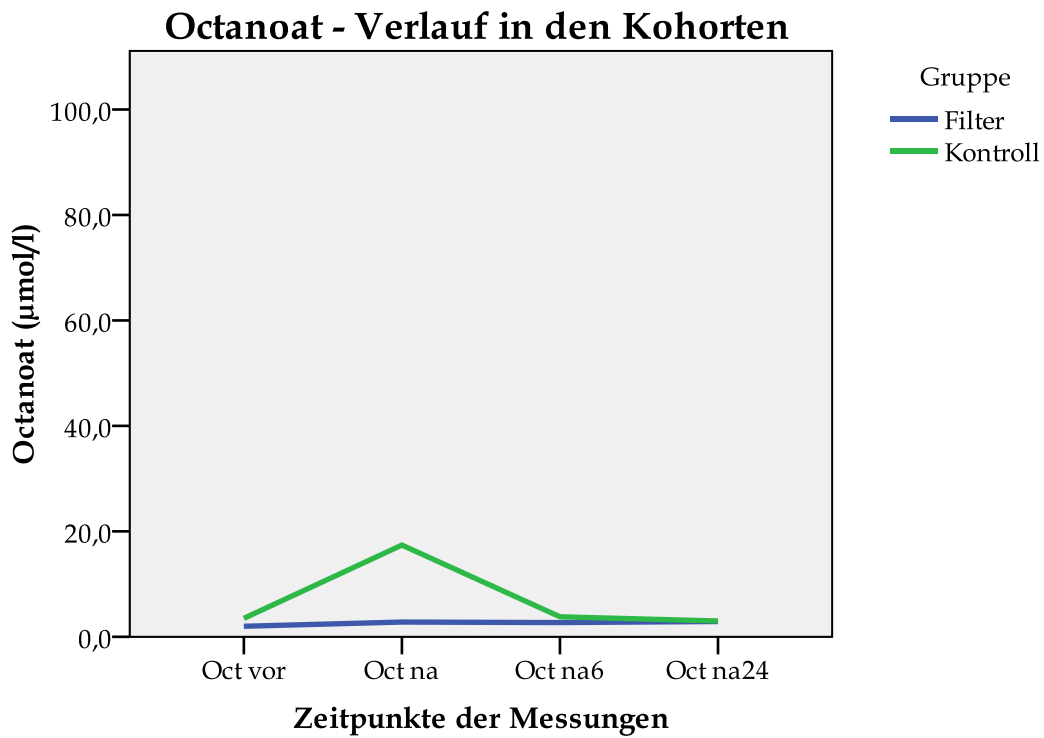


Grafik 9

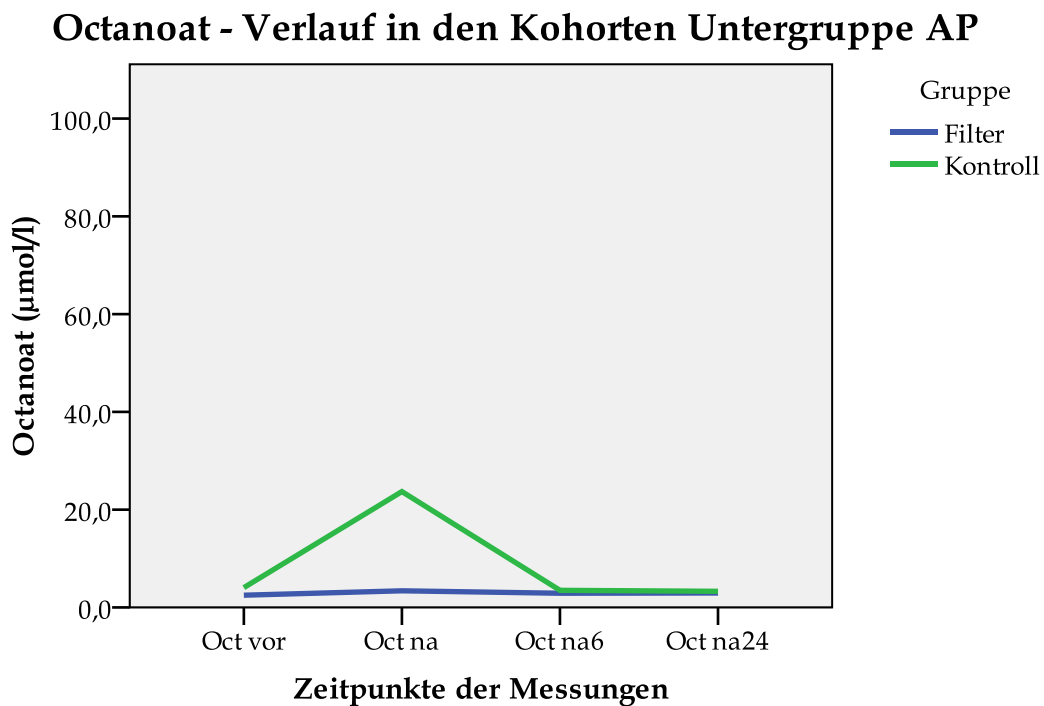


Grafik 10

Grafik 9 und 10: Zeitverläufe des Octanoats (Oct) pro Proband in den Untergruppen AP der Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen $p1$ und $p2$ (s. Tab. 13 und 14)

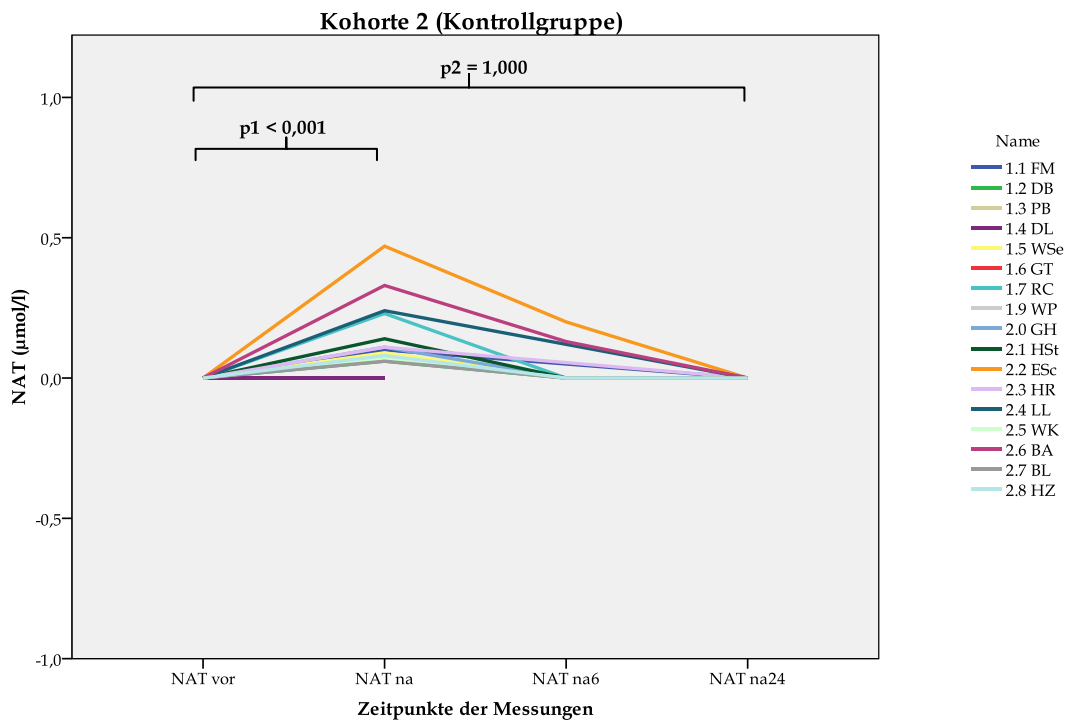
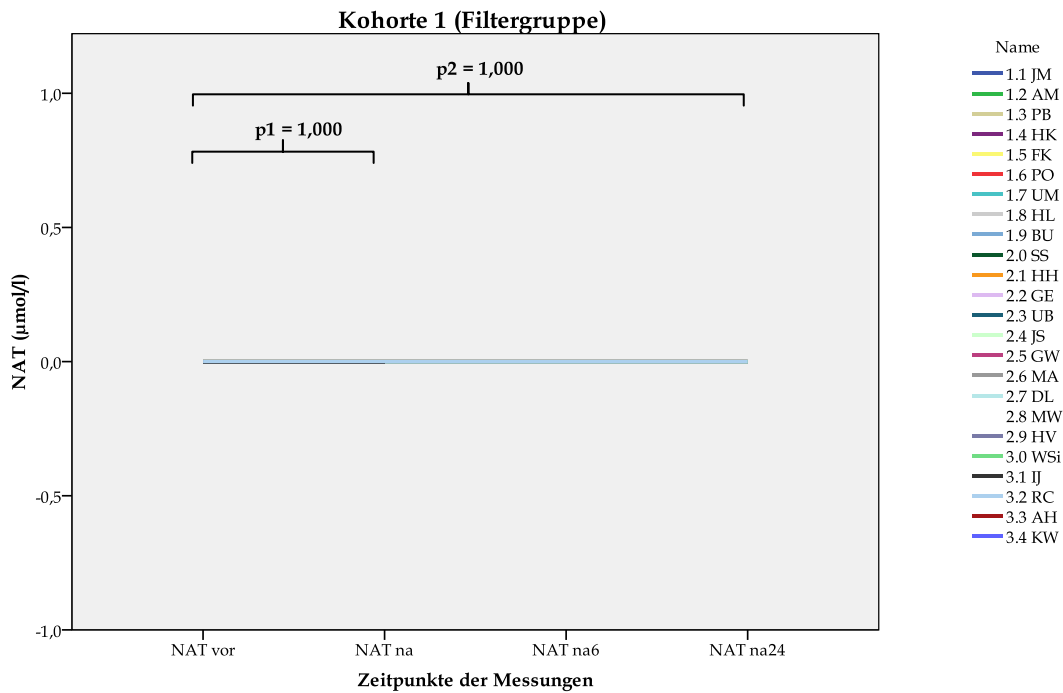


Grafik 11: zusammengefasster Zeitverlauf des Octanoats in den Kohorten 1 und 2



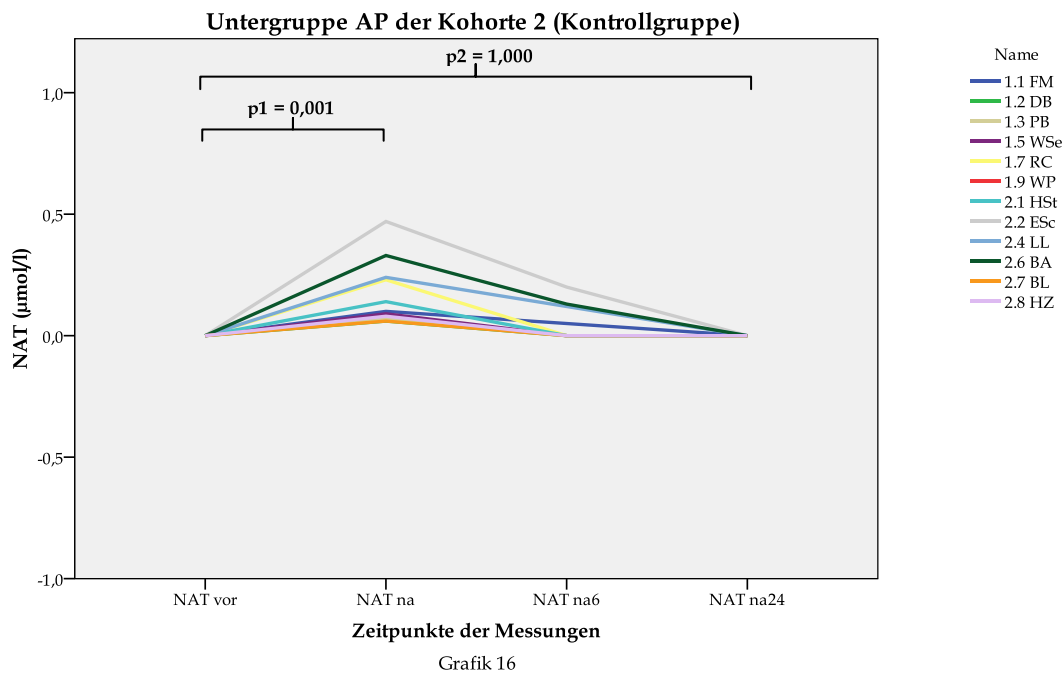
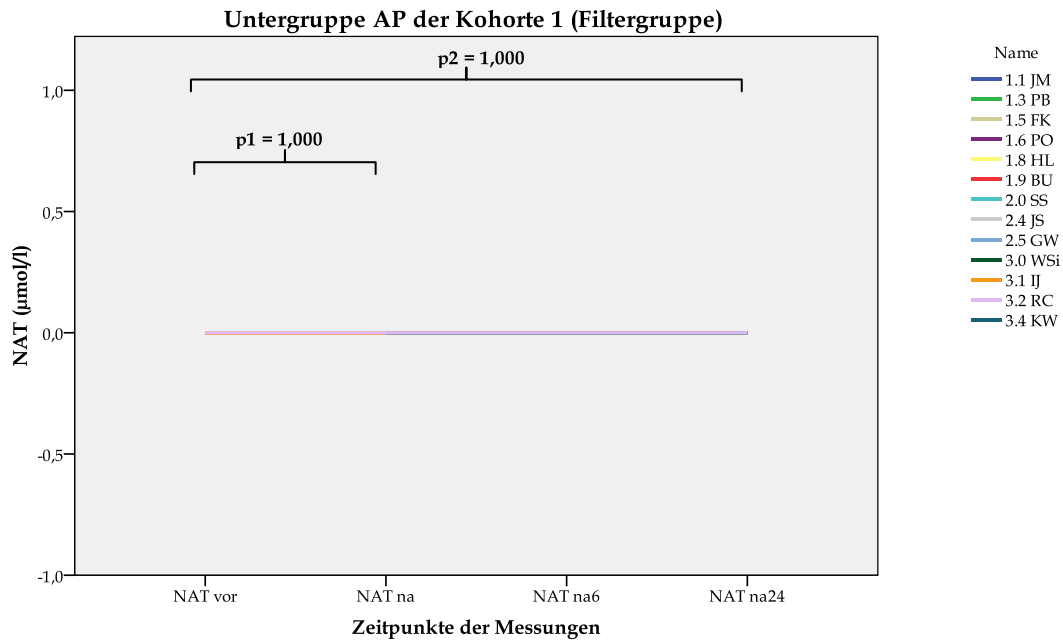
Grafik 12: zusammengefasster Zeitverlauf des Octanoats in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP) der Kohorten 1 und 2

NAT - Verlauf



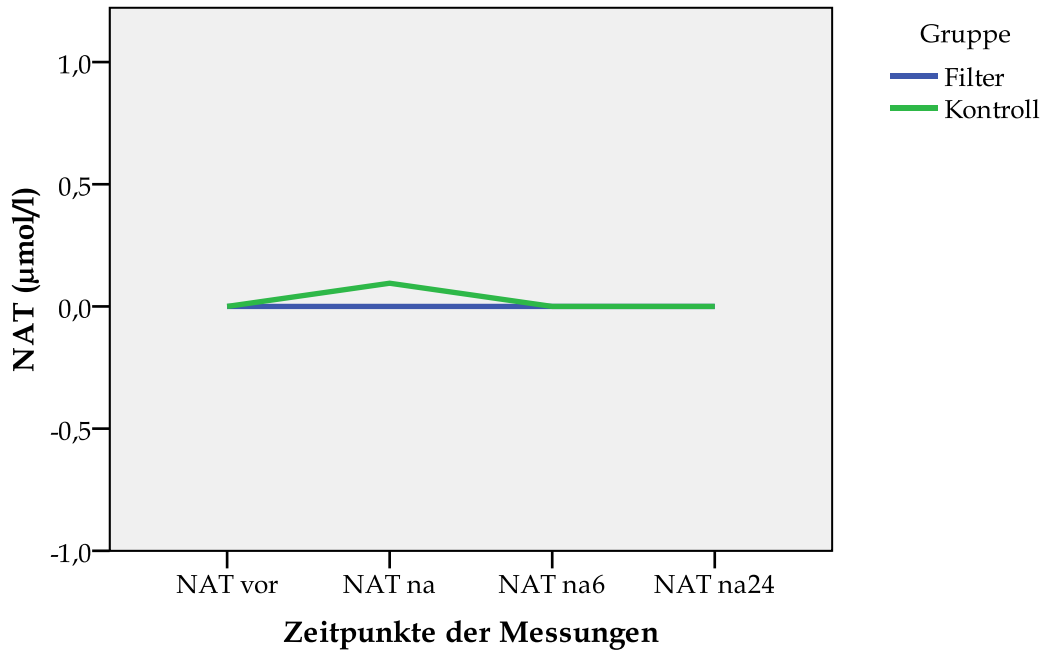
Grafik 13 und 14: Zeitverläufe des NATs pro Proband in den Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen p1 und p2 (s. Tab. 13 und 14)

NAT - Verlauf in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP)



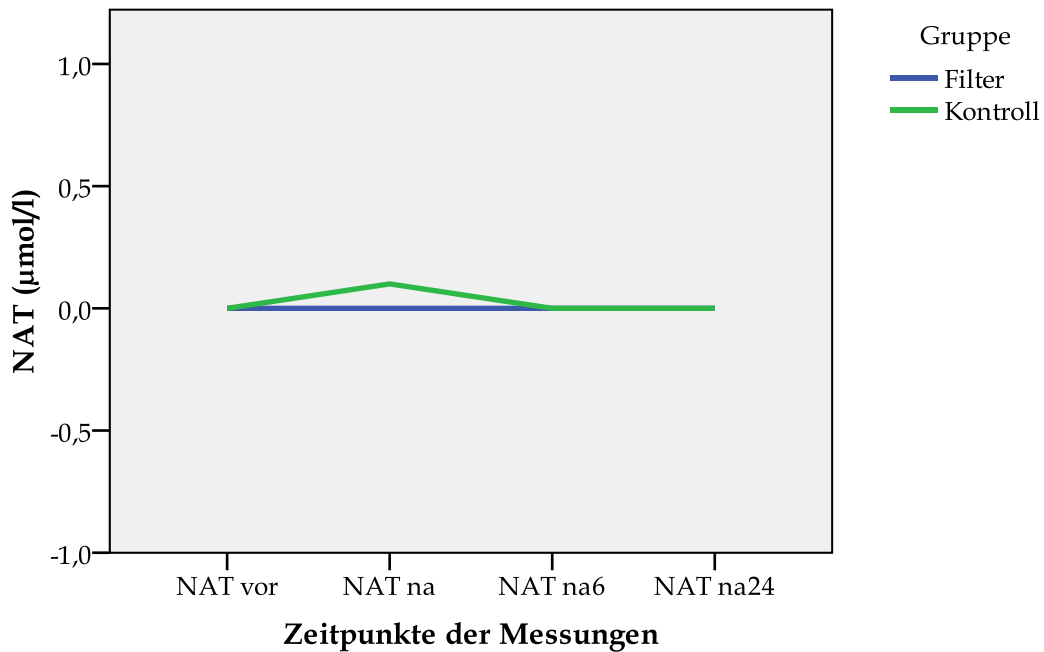
Grafik 15 und 16: Zeitverläufe des NATs pro Proband in den Untergruppen AP der Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen p1 und p2 (s. Tab. 13 und 14)

NAT - Verlauf in den Kohorten



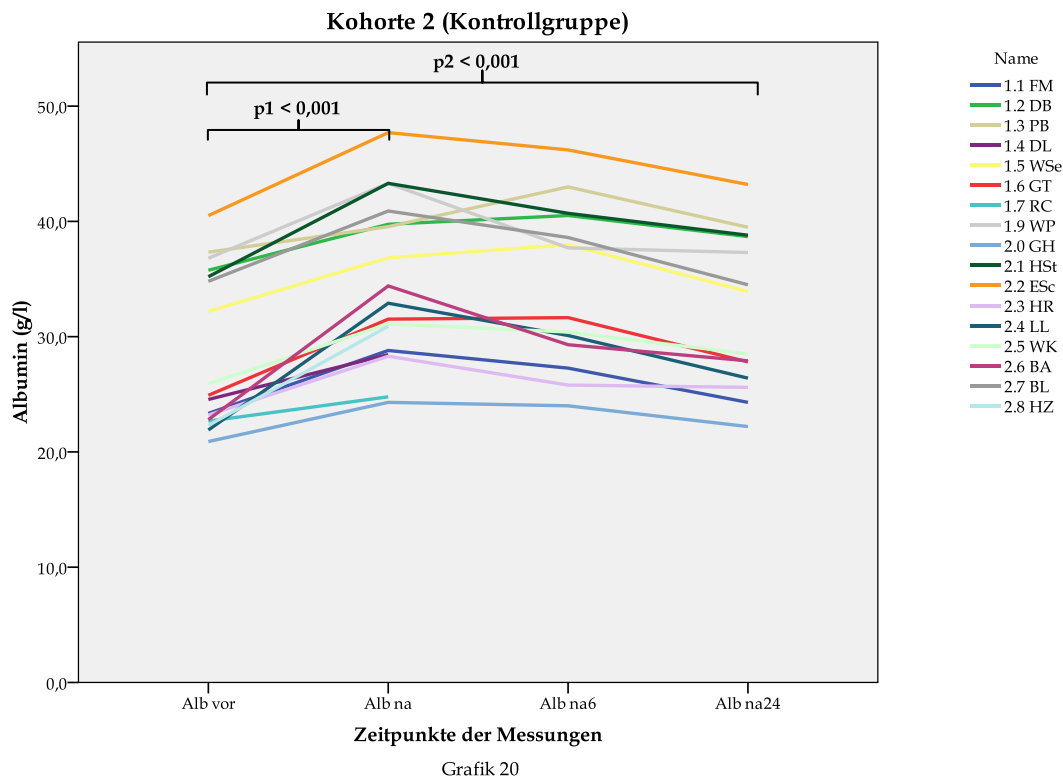
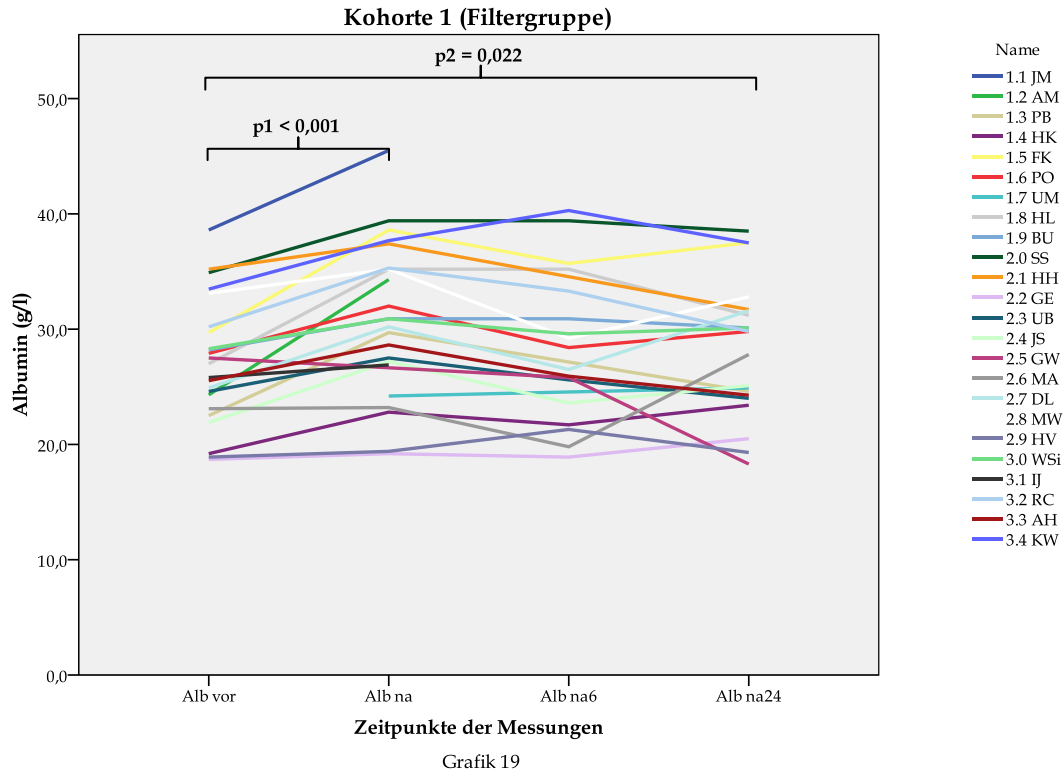
Grafik 17: zusammengefasster Zeitverlauf des NATs in den Kohorten 1 und 2

NAT - Verlauf in den Kohorten Untergruppe AP



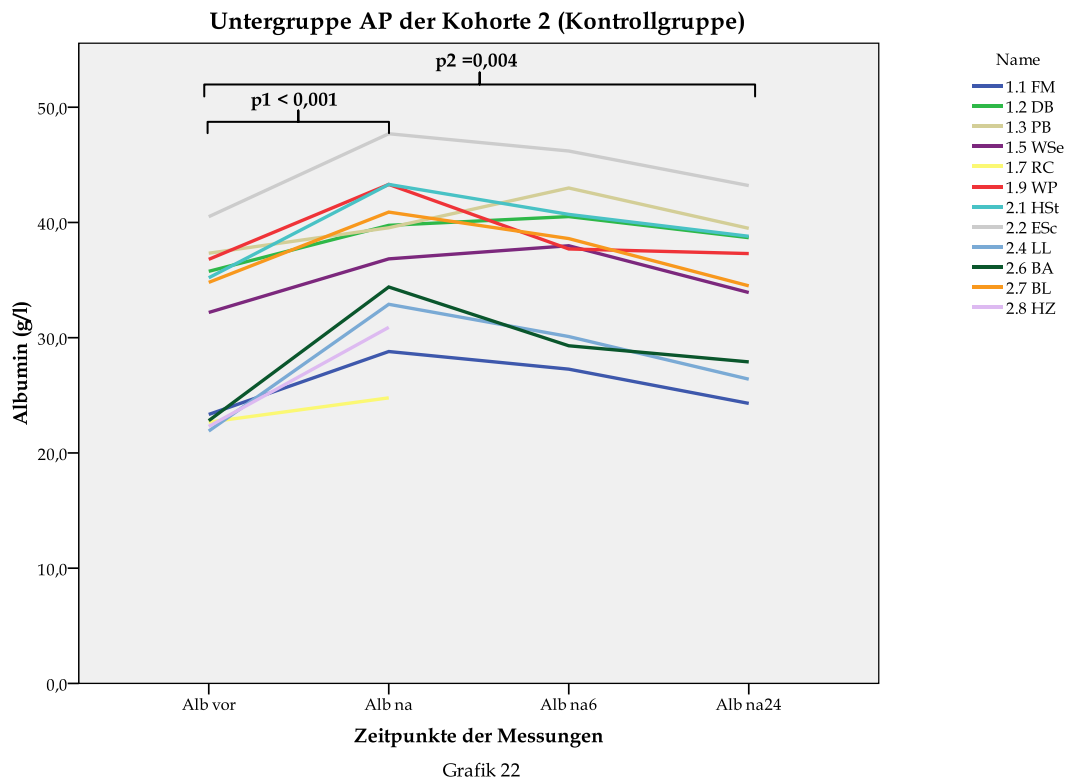
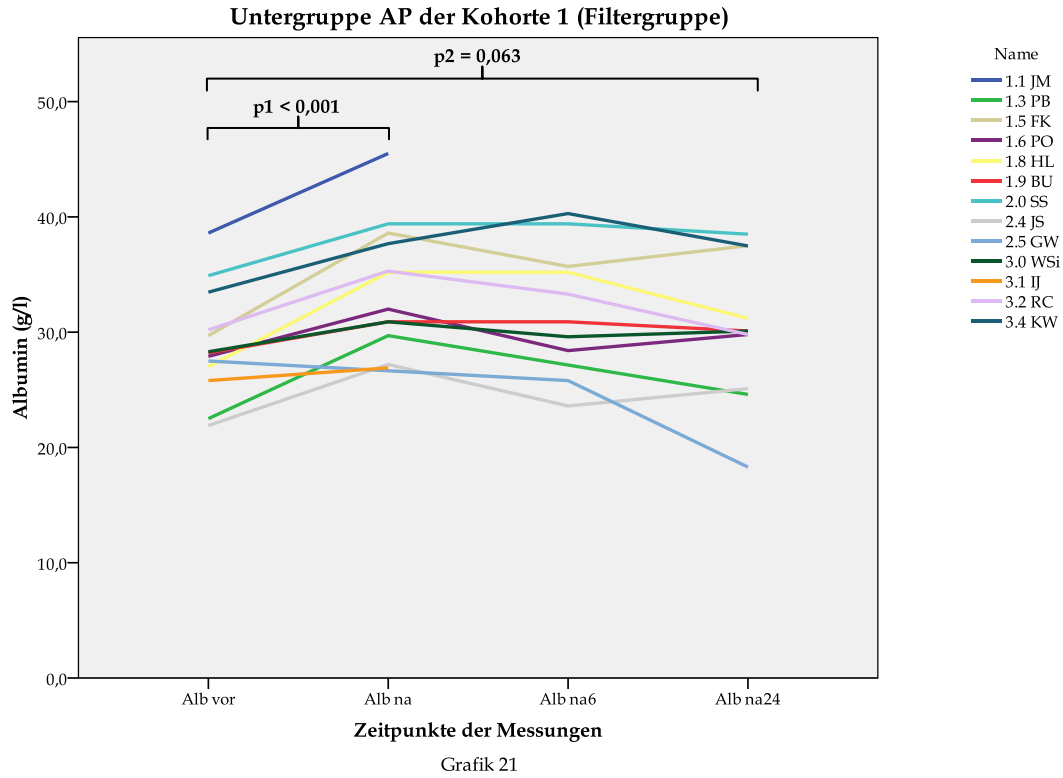
Grafik 18: zusammengefasster Zeitverlauf des NATs in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP) der Kohorten 1 und 2

Albumin - Verlauf



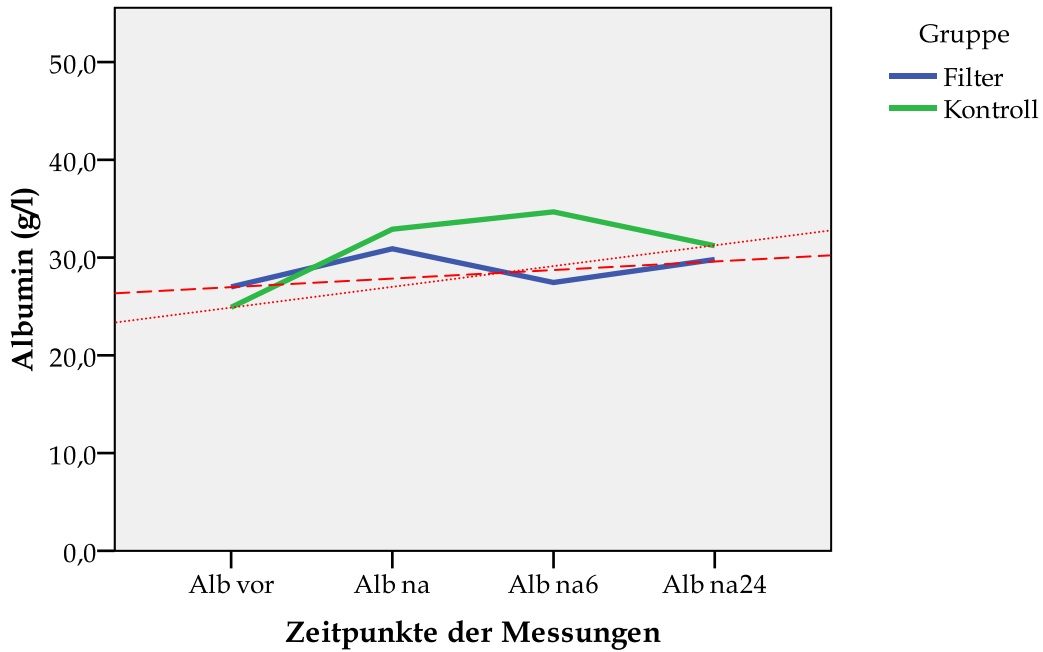
Grafik 19 und 20: Zeitverläufe des Albumins (Alb) pro Proband in den Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen p1 und p2 (s. Tab. 13 und 14)

Albumin - Verlauf in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP)



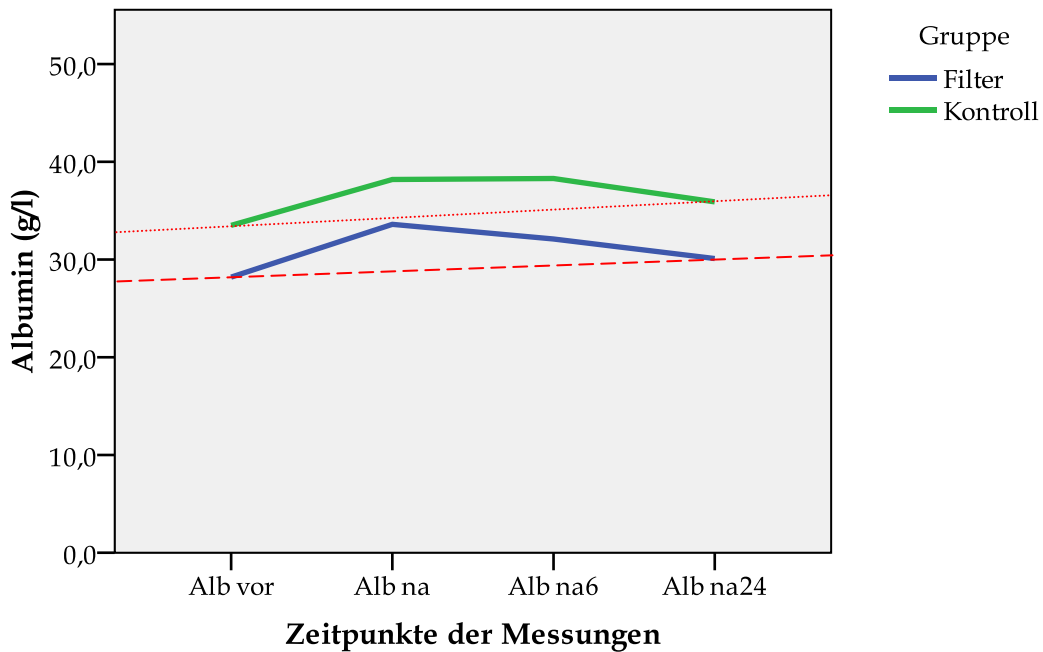
Grafik 21 und 22: Zeitverläufe des Albumins (Alb) pro Proband in den Untergruppen AP der Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen p1 und p2 (s. Tab. 13 und 14)

Albumin - Verlauf in den Kohorten



Grafik 23: zusammengefasster Zeitverlauf des Albumins in den Kohorten 1 und 2

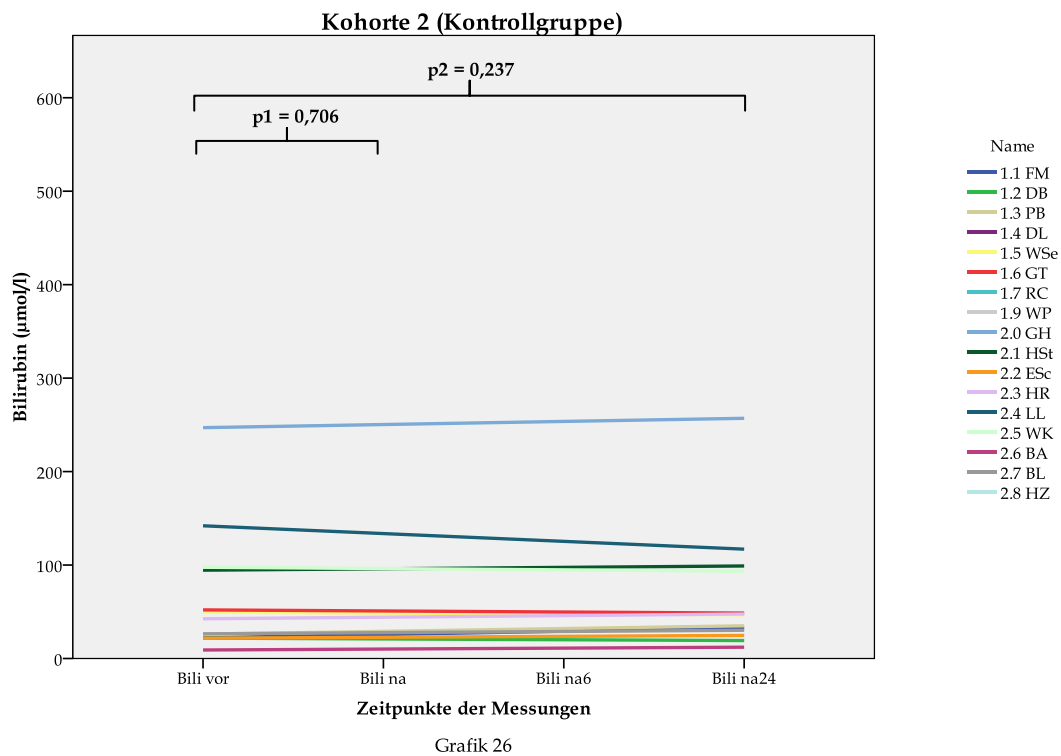
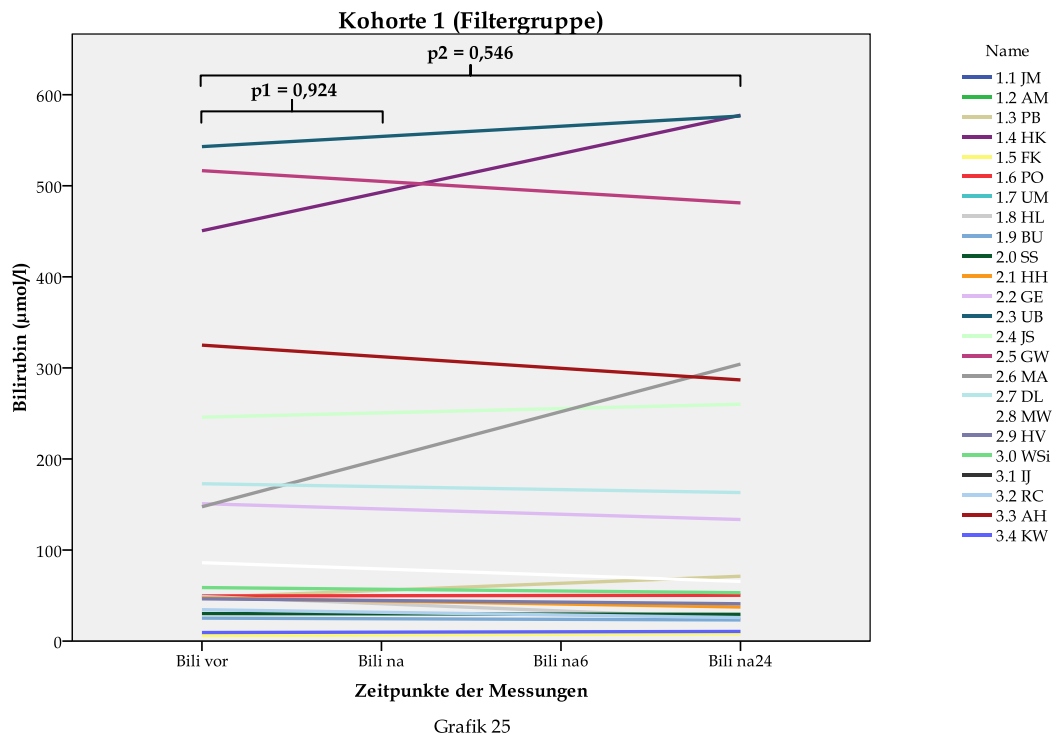
Albumin - Verlauf in den Kohorten Untergruppe AP



Grafik 24: zusammengefasster Zeitverlauf des Albumins in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP) der Kohorten 1 und 2

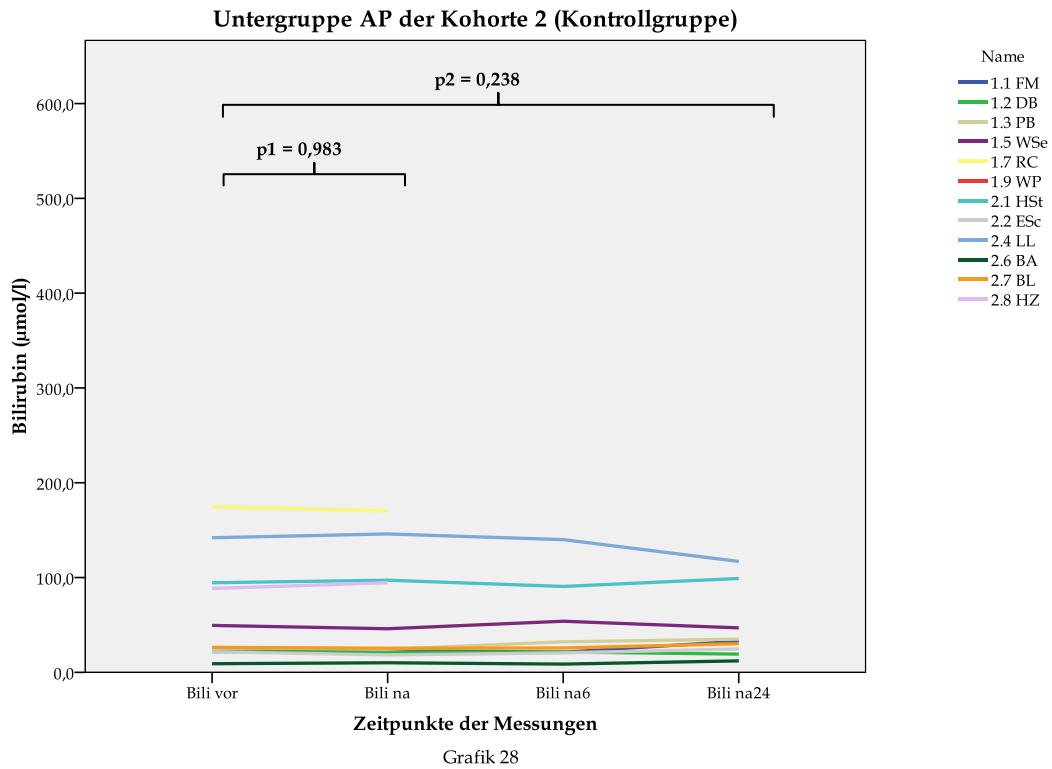
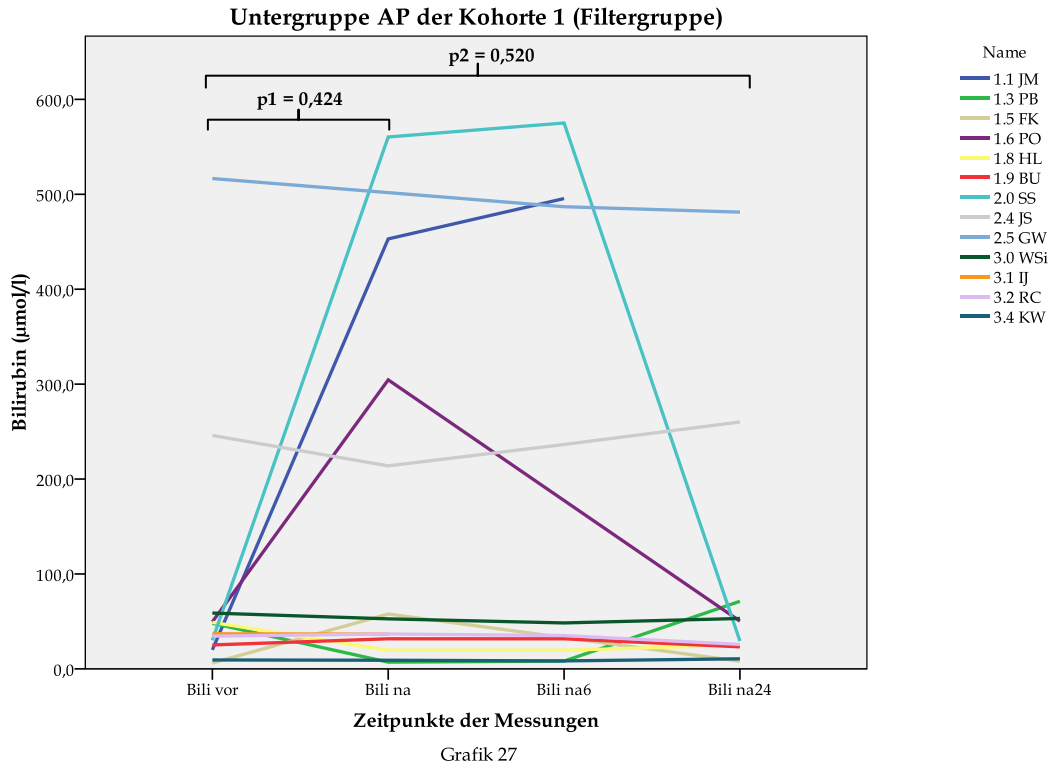
Die rote Gerade verdeutlicht die jeweilige Verlaufstendenz.

Bilirubin - Verlauf



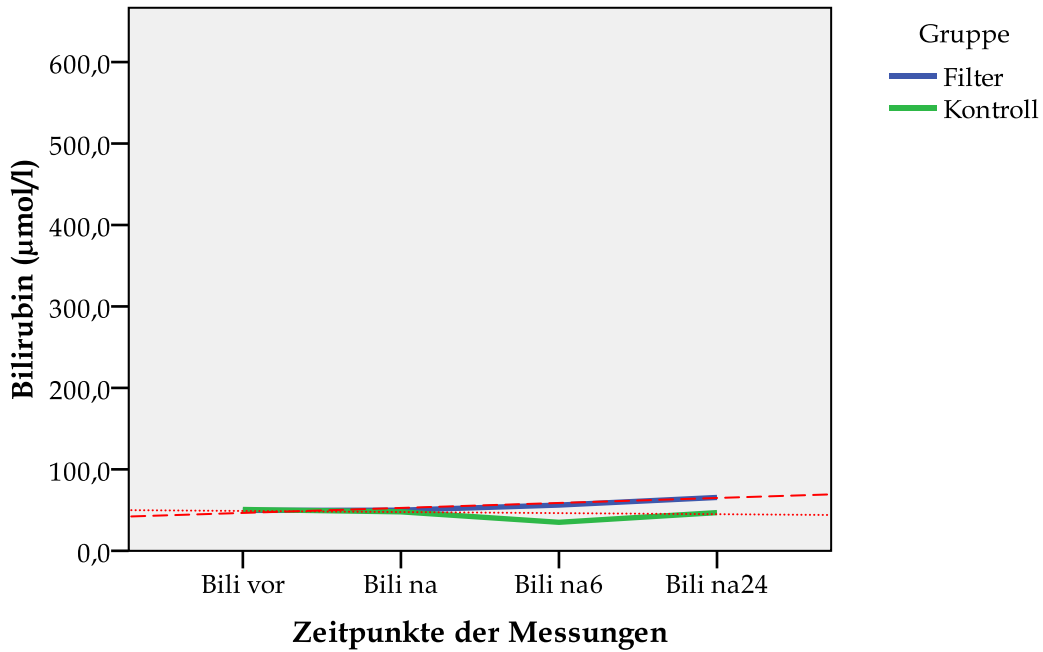
Grafik 25 und 26: Zeitverläufe des Bilirubins (Bili) pro Proband in den Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen p1 und p2 (s. Tab. 13 und 14)

Bilirubin - Verlauf in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP)



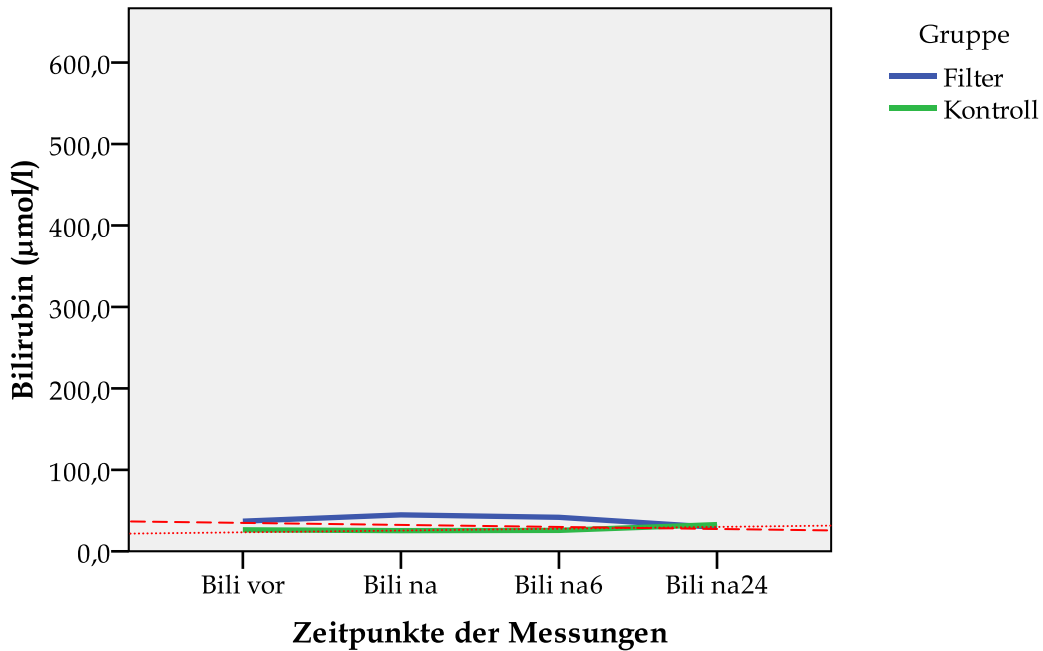
Grafik 27 und 28: Zeitverläufe des Bilirubins (Bili) pro Proband in den Untergruppen AP der Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen p1 und p2 (s. Tab. 13 und 14)

Bilirubin - Verlauf in den Kohorten



Grafik 29: zusammengefasster Zeitverlauf des Bilirubins in den Kohorten 1 und 2

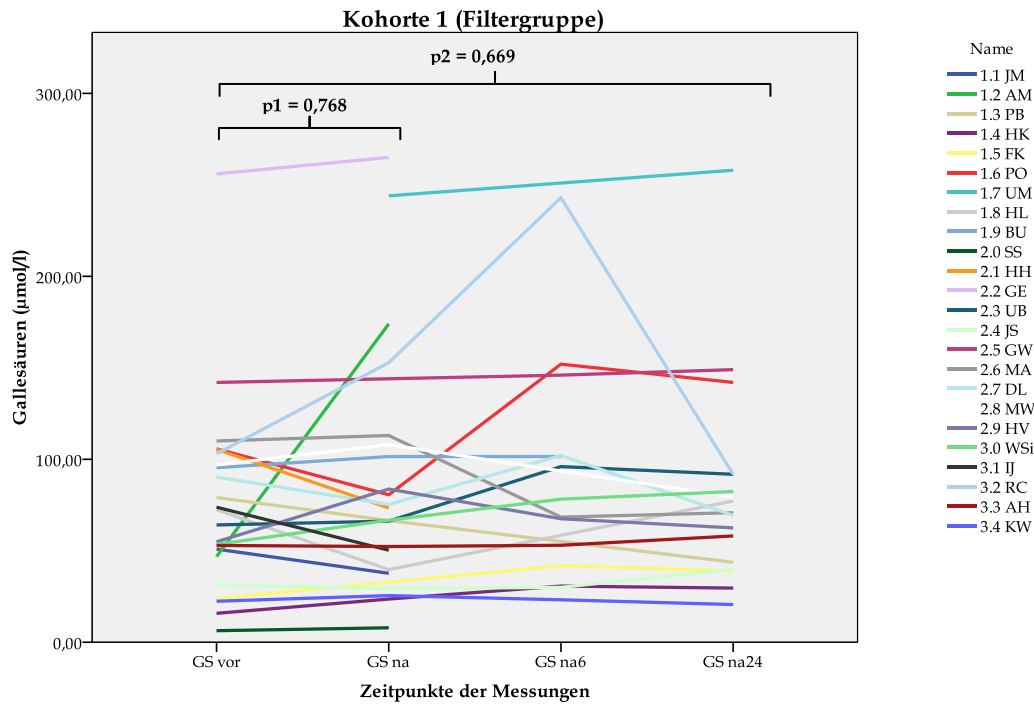
Bilirubin - Verlauf in den Kohorten Untergruppe AP



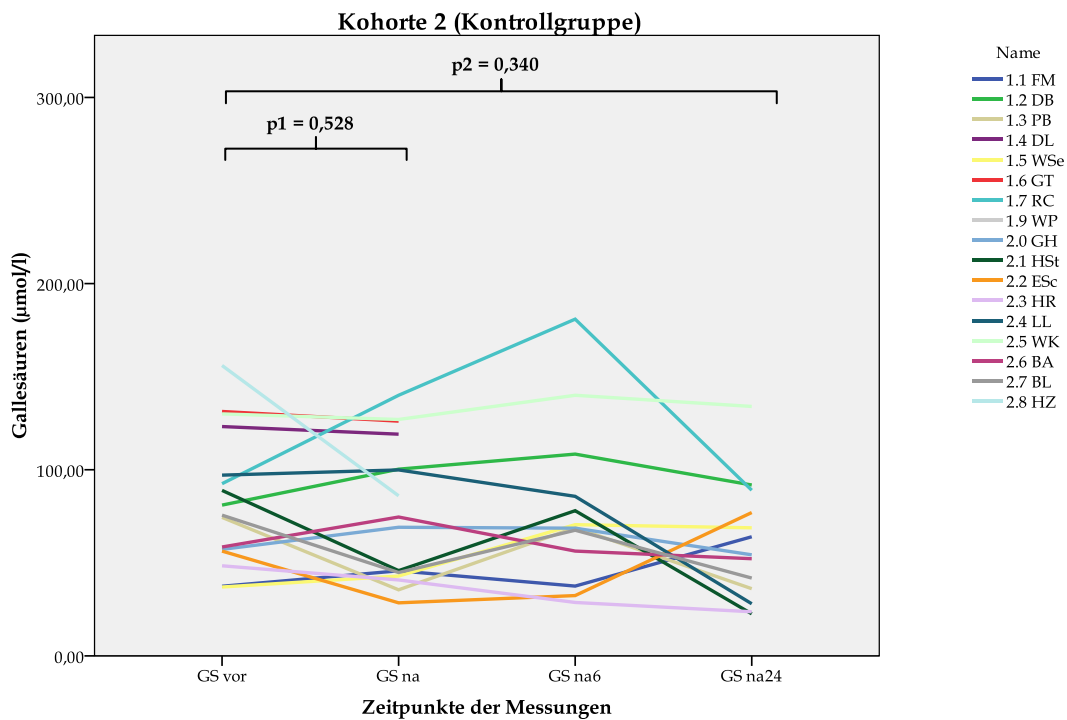
Grafik 30: zusammengefasster Zeitverlauf des Bilirubins in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP) der Kohorten 1 und 2

Die rote Gerade verdeutlicht die jeweilige Verlaufstendenz.

Gallesäuren - Verlauf



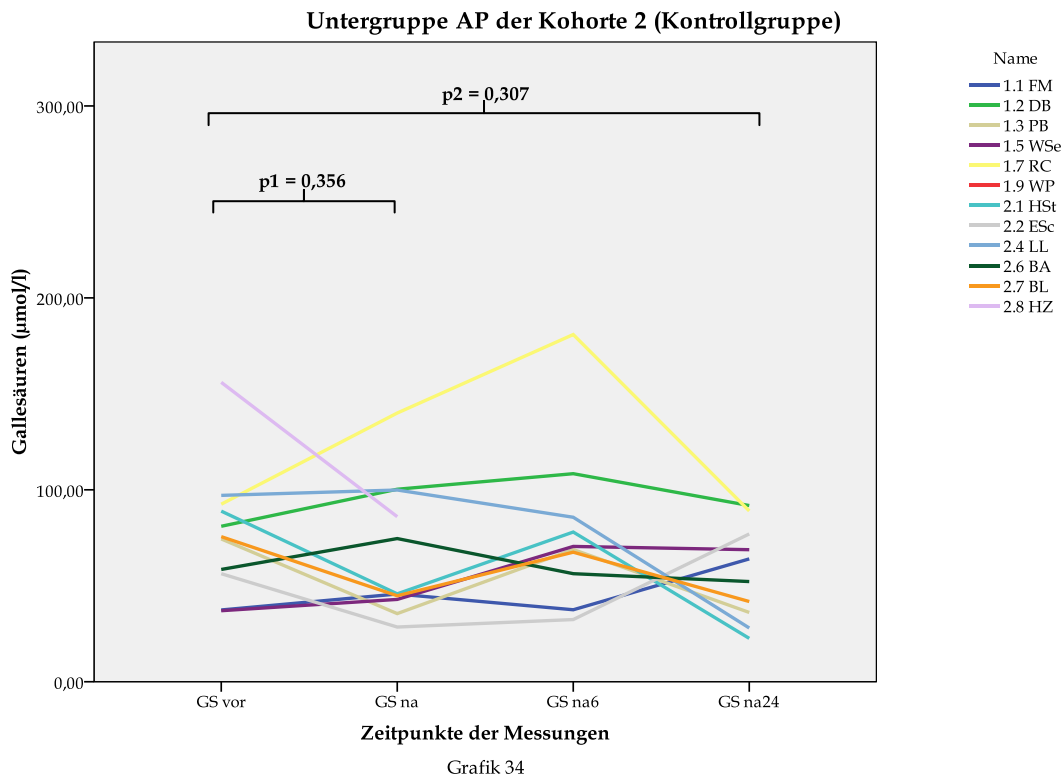
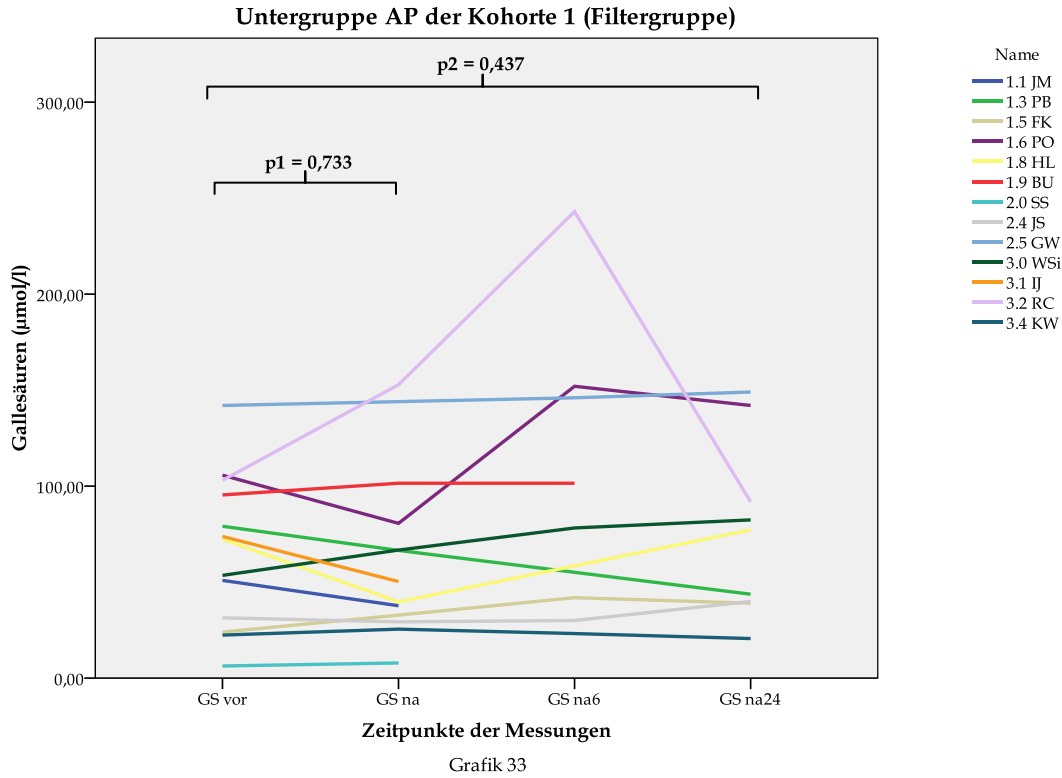
Grafik 31



Grafik 32

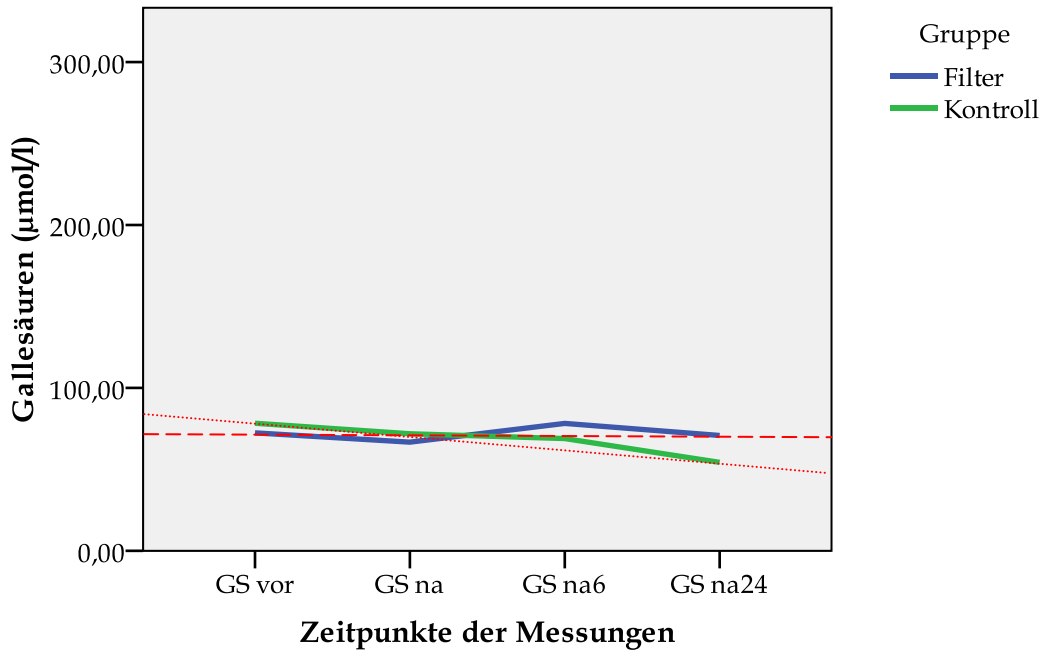
Grafik 31 und 32: Zeitverläufe der Gallensäuren (GS) pro Proband in den Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen $p1$ und $p2$ (s. Tab. 13 und 14)

Gallesäuren - Verlauf in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP)



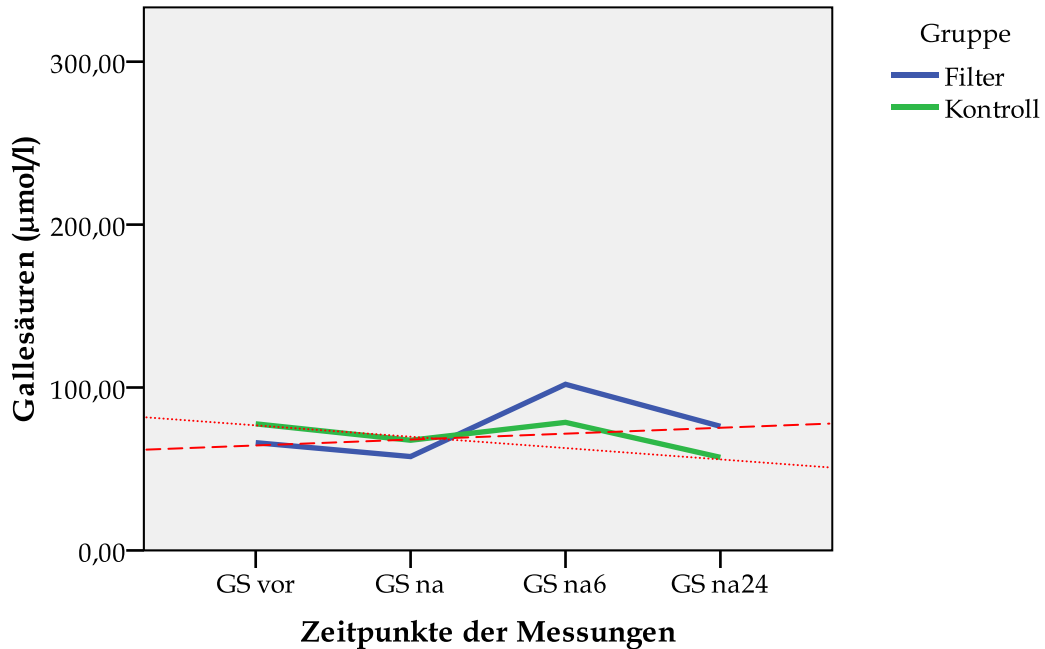
Grafik 33 und 34: Zeitverläufe der Gallesäuren (GS) pro Proband in den Untergruppen AP der Kohorten 1 und 2 mit den Signifikanzen p1 und p2 (s. Tab. 13 und 14)

Gallesäuren - Verlauf in den Kohorten



Grafik 35: zusammengefasster Zeitverlauf der Gallensäuren in den Kohorten 1 und 2

Gallesäuren - Verlauf in den Kohorten Untergruppe AP



Grafik 36: zusammengefasster Zeitverlauf der Gallensäuren in den Untergruppen Aszitesparazentese (AP) der Kohorten 1 und 2

Die rote Gerade verdeutlicht die jeweilige Verlaufstendenz.

Den Abschluss der Auswertung bildete die Erstellung und Analyse von Streudiagrammen mit Regressionsgrade (Grafik 37 - 42). Hierbei wurden die Konzentrationen der Parameter Octanoat, Bilirubin und Gallensäuren einzeln und in verschiedenen Kombinationen auf die Albuminkonzentration bezogen, um eine Beladung des Albuminmoleküls und den dazugehörigen Einfluss auf die ABiC darzustellen. Für den Parameter NAT wurde, aufgrund der geringen Probenanzahl in denen NAT nachweisbar war, kein separates Streudiagramm mit Regressionsgerade erstellt. In die Kombinationen wurde NAT miteinbezogen. Es galt herauszufinden welchen Einfluss die Substanzen allein oder in Kombination auf die ABiC haben. Für diese Analyse erfolgte die Umrechnung der Albuminkonzentrationen von g/l in $\mu\text{mol/l}$. Danach konnten die Quotienten aus den Parametern/Parameterkombinationen und dem Albumin berechnet werden. Die jeweiligen Konzentrationen wurden entsprechend ihres Messzeitpunktes in die Berechnung eingefügt.

z. B. Octanoat vor Infusion/ Albumin vor Infusion

Octanoat 24h nach Infusion/ Albumin 24h nach Infusion

Es wurden folgende Quotienten berechnet:

- Octanoat/Albumin
- Bilirubin/Albumin
- Gallensäuren/Albumin
- (Octanoat + NAT)/Albumin
- (Octanoat + NAT + Gallensäuren)/Albumin
- (Octanoat + NAT + Bilirubin + Gallensäuren)/Albumin

Danach erfolgte die Erstellung der Grafiken, bei denen die Quotienten entsprechend den dazugehörigen ABiC - Werten abgetragen wurden. Die lineare Regression in den Diagrammen zeigt den Zusammenhang zwischen der abhängigen Variable ABiC und den unabhängigen Variablen: den Quotienten. Mit dem angegebenen Gütemaß R^2 wird die Stärke des linearen Zusammenhangs deutlich. R^2 kann Werte zwischen null und eins annehmen und ist somit als prozentualer Wert anzusehen. Je größer R^2 , desto umfassender wird die Streuung durch das Regressionsmodell aufgeklärt und umgekehrt. Im vorliegenden Fall ergaben sich für die gebildeten Quotienten in Bezug zur ABiC die folgenden R^2 - Werte:

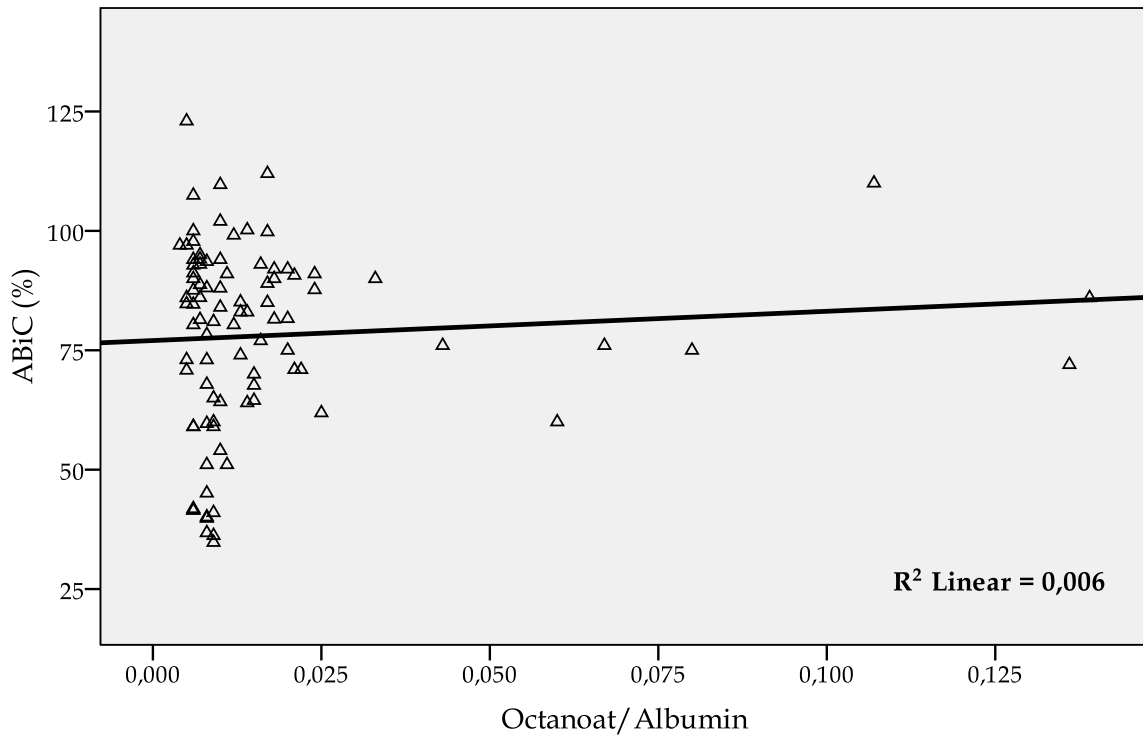
- $R^2 = 0,006$ für den Quotient Octanoat/Albumin (Grafik 37)
- $R^2 = 0,418$ für den Quotient Bilirubin/Albumin (Grafik 38)

- $R^2 = 0,065$ für den Quotient Gallensäuren/Albumin (Grafik 39)
- $R^2 = 0,006$ für den Quotient (Octanoat + NAT)/Albumin (Grafik 40)
- $R^2 = 0,064$ für den Quotient (Octanoat + NAT + Gallensäuren)/Albumin (Grafik 41)
- $R^2 = 0,430$ für den Quotient (Octanoat + NAT + Bilirubin + Gallensäuren)/Albumin (Grafik 42)

Damit ist die Stärke des linearen Zusammenhangs zwischen den Quotienten Octanoat/Albumin, (Octanoat + NAT)/Albumin und der ABiC in dem vorliegenden Fall gering ausgeprägt. Eine Aussage über die Beeinflussung der ABiC durch die beiden Substanzen kann aus den verwendeten Daten nicht getroffen werden.

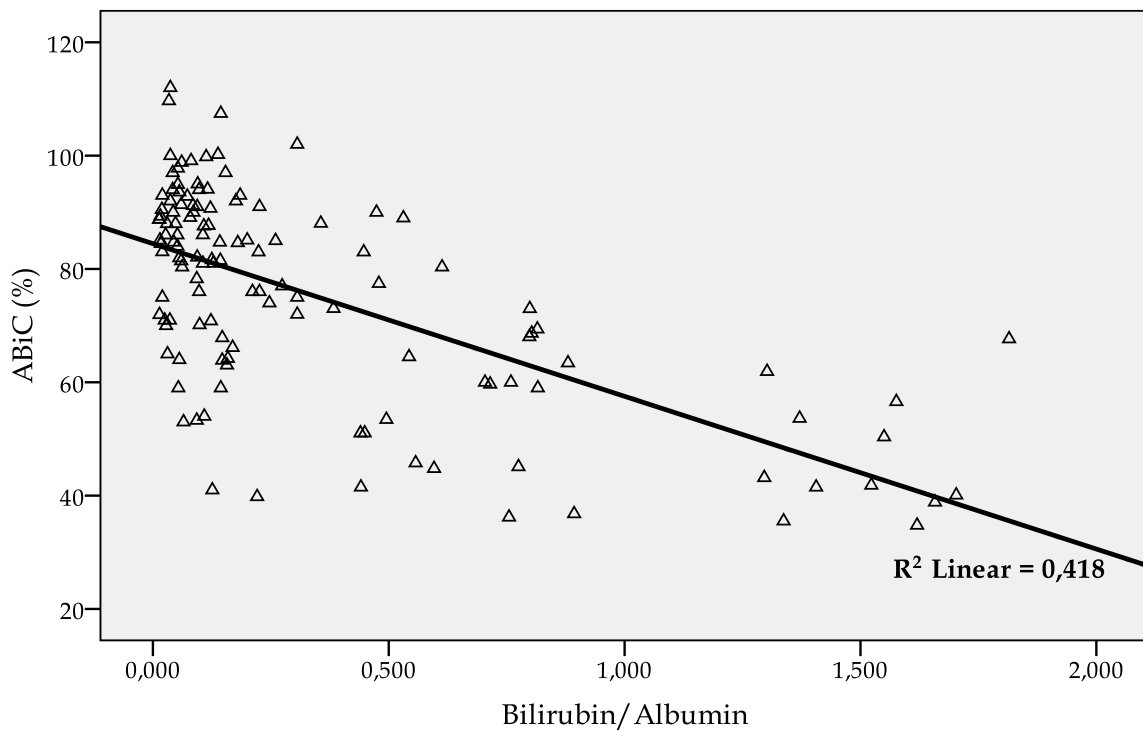
Für die Quotienten Bilirubin/Albumin, Gallensäuren/Albumin, (Octanoat + NAT + Gallensäuren)/Albumin, (Octanoat + NAT + Bilirubin + Gallensäuren)/Albumin ergibt sich eine bessere Aufklärung der Streuung durch das Regressionsmodell, so dass von einer Beeinflussung der ABiC durch diese Quotienten anhand der vorliegenden Daten gesprochen werden kann. Den größten R^2 - Wert hat der Quotient (Octanoat + NAT + Bilirubin + Gallensäuren)/Albumin, dessen Streuung somit am besten durch die erstellte lineare Regression dargestellt wird.

Einfluss Octanoatbeladung des Albuminmoleküls auf ABiC



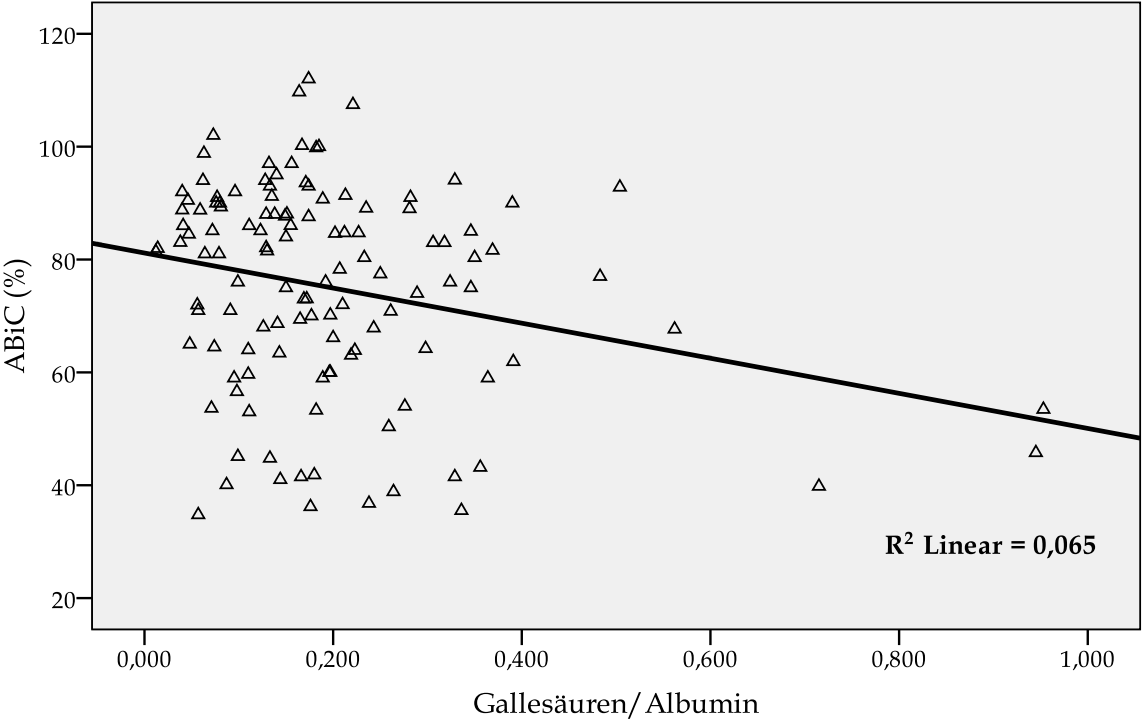
Grafik 37: Lineare Regression über Octanoat - Albumin - Quotient im Bezug zur ABiC

Einfluss Bilirubinbeladung des Albuminmoleküls auf ABiC



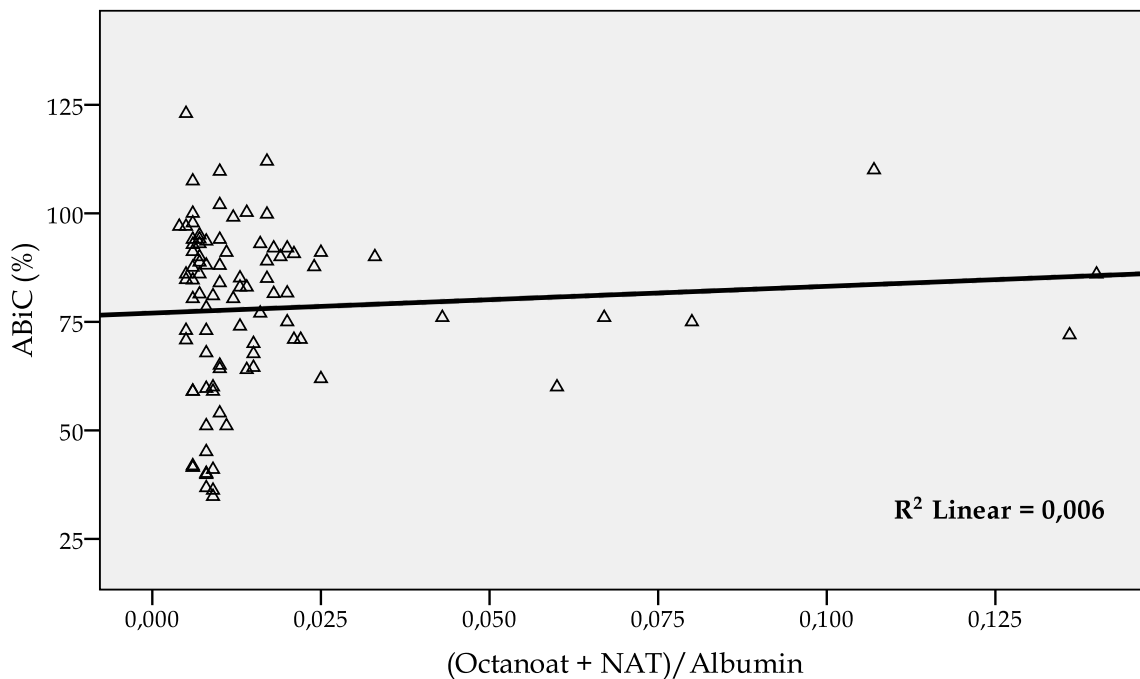
Grafik 38: Lineare Regression über Bilirubin - Albumin - Quotient im Bezug zur ABiC

Einfluss Gallensäurenbeladung des Albuminmoleküls auf ABiC



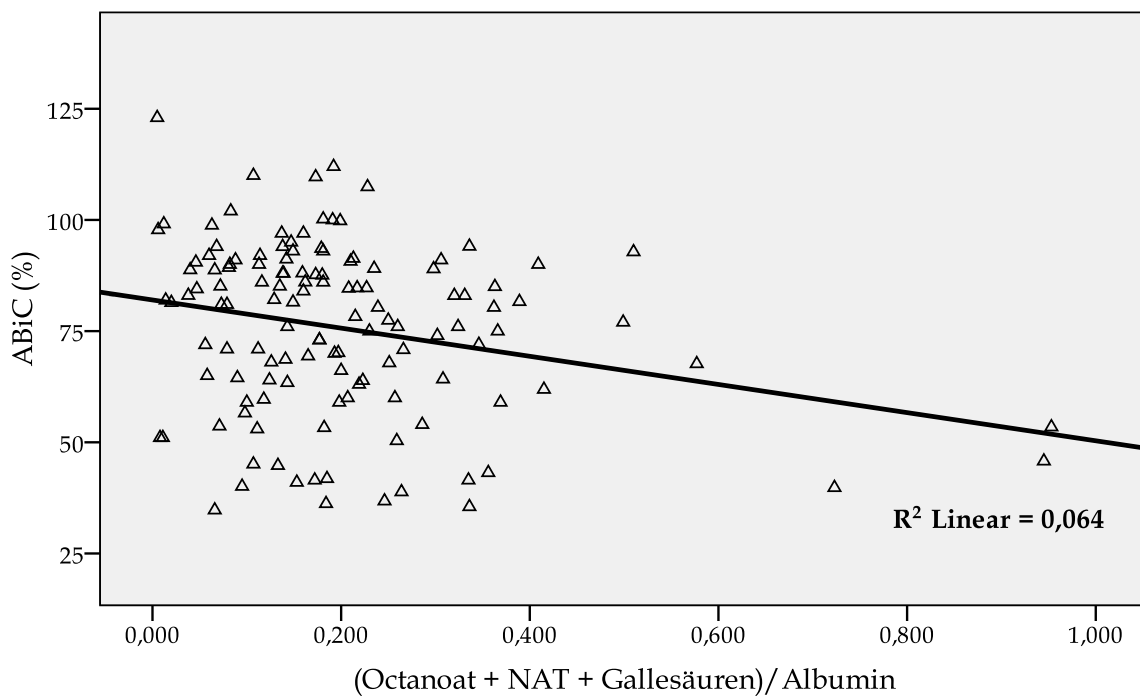
Grafik 39: Lineare Regression über Gallensäuren - Albumin - Quotient im Bezug zur ABiC

Einfluss Octanoat + NAT - Beladung des Albuminmoleküls auf ABiC



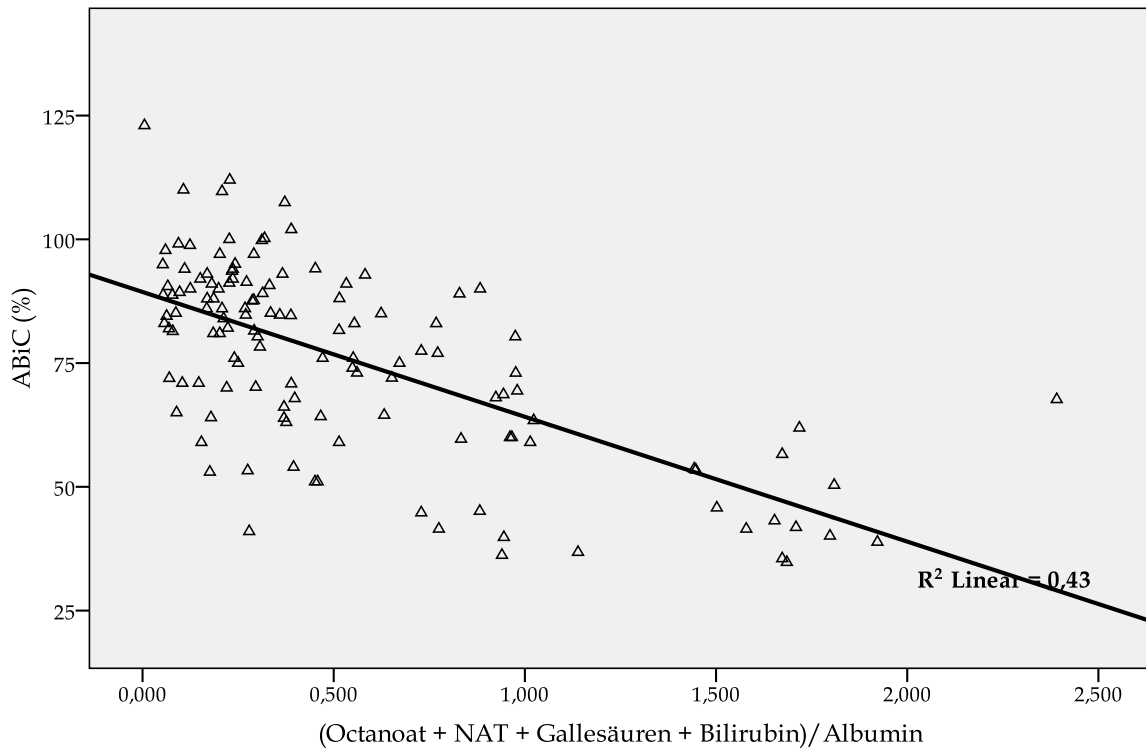
Grafik 40: Lineare Regression über Octanoat + NAT - Albumin - Quotient im Bezug zur ABiC

Einfluss Octanoat + NAT + Gallensäurenbeladung des Albuminmoleküls auf ABiC



Grafik 41: Lineare Regression über Octanoat + NAT + Gallensäuren - Albumin - Quotient im Bezug zur ABiC

Einfluss Octanoat + NAT + Galle Säuren + Bilirubinbeladung des Albuminmoleküls auf ABiC



Grafik 42: Lineare Regression über Octanoat + NAT + Bilirubin + Galle Säuren - Albumin Quotient im Bezug zur ABiC

5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die bettseitige Filtration pharmazeutischer Humanalbuminpräparationen mit dem Hepalbin® - Adsorber getestet. Das Ziel war es, den Effekt dieser Filtration im Hinblick auf die mögliche Veränderung der Plasmakonzentrationen der in Humanalbuminlösungen enthaltenen Stabilisatoren Octanoat und NAT zu prüfen. Weiterhin wurde die mögliche Auswirkung auf die Albuminbindungskapazität (ABiC) untersucht. Zu diesem Zweck wurden im Rahmen einer klinischen Studie im Zeitraum von 10/07 - 07/08 insgesamt 41 Probanden in zwei Kohorten untersucht. Die Gabe der vor Studieneinschluss angeordneten Albumininfusionen erfolgte entweder gefiltert mit dem Hepalbin® - Adsorber oder konventionell d. h. ungefiltert. Um den Verlauf der Plasmakonzentrationen der beiden Stabilisatoren und der ABiC aufzuzeigen, wurden den Probanden zu definierten Zeitpunkten Blutproben entnommen. Danach erfolgten die Aufbereitung der Blutproben und die Messung der verschiedenen Parameter (s. 3.1.).

Anhand der erbrachten Ergebnisse (s. 4.2.) lässt sich eine sehr signifikante Verbesserung der ABiC durch den Hepalbin® - Adsorber sowohl direkt nach Abschluss der Infusion als auch nach 24 Stunden in der Filterkohorte messen. Bei der Betrachtung der Untergruppe Aszitesparazentese war eine signifikante Verbesserung der ABiC direkt nach Beendigung der Infusion zu messen, die nach 24 Stunden sehr signifikant war. Hingegen war eine signifikante Verbesserung der ABiC in der Kohorte mit dem ungefilterten Albumin (Kohorte zwei) weder direkt nach Abschluss der Infusion noch nach 24 Stunden messbar. Auch in der Untergruppe Aszitesparazentese der Kohorte zwei war keine signifikante Verbesserung zu messen.

Die in der Zielstellung dieser Dissertation formulierte Nullhypothese bezüglich des Effekts der Filtration auf die ABiC kann somit eindeutig beantwortet werden. Durch die bettseitige Filtration von konventionellen Humanalbuminpräparationen mit dem Hepalbin® - Adsorber wurde eine signifikante Änderung der in vivo Albuminbindungskapazität (ABiC) erreicht. Darüber hinaus wurde herausgearbeitet, dass diese signifikante Änderung eine signifikante Verbesserung der ABiC bedeutet. Deutlich wurde die Verbesserung anhand der gemessenen Plasmakonzentrationen. Die Medianwerte der ABiC - Plasmakonzentrationen stiegen von 70,5% vor Infusion auf 81,2% nach Infusion und 85,1% 24 Stunden nach Infusion in der gesamten Kohorte. In der Untergruppe Aszitesparazentese war ein Anstieg der

Mittelwerte von 71,9% (± 15) vor Infusion auf 81,9% ($\pm 7,9$) nach Infusion und 85,7% (± 12) 24 Stunden nach Infusion nachweisbar. Infolgedessen konnte mit dieser Arbeit gezeigt werden, dass das Problem der reduzierten ABiC in konventionelle Humanalbuminpräparationen lösbar geworden ist.

Die Plasmakonzentrationen der Stabilisatoren Octanoat und NAT blieben in der Filterkohorte nahezu unverändert. Beim Octanoat zeigte sich 24 Stunden nach Infusion ein Anstieg des Medianwertes im Vergleich zum Vorwert in der Filtergruppe von 2,0 $\mu\text{mol/l}$ auf 2,9 $\mu\text{mol/l}$, der zwar statistisch signifikant, aber klinisch nicht relevant ist, da erst eine Konzentration $> 6 \mu\text{mol/l}$ symptomatisch wird [88]. In der Kontrollkohorte hingegen waren für Octanoat direkt nach Beendigung der Albumininfusion hochsignifikant bzw. sehr signifikant (Untergruppe Aszitesparazentese) erhöhte Plasmakonzentrationen messbar. Im Gegensatz zu der oben genannten rein statistischen Signifikanz bezüglich des Octanoats in der Filtergruppe sind die Signifikanzen in der Kontrollgruppe auch klinisch relevant. Der Medianwert der Octanoatkonzentration im Serum stieg nach der ungefilterten Humanalbumininfusion von 3,5 $\mu\text{mol/l}$ (Octanoat vor Infusion) auf 17,4 $\mu\text{mol/l}$, in der gesamten Kohorte zwei, und von 4,1 $\mu\text{mol/l}$ (Octanoat vor Infusion) auf 23,7 $\mu\text{mol/l}$ in der Untergruppe Aszitesparazentese der Kohorte zwei. Hierbei wird deutlich, dass die Plasmakonzentrationen des Octanoats aus einem klinisch unbedeutenden Bereich ($< 6 \mu\text{mol/l}$) in einem klinisch durchaus relevanten Bereich ansteigen. Auch für die Substanz NAT waren direkt nach Beendigung der Albumininfusion hochsignifikant bzw. sehr signifikant (Untergruppe Aszitesparazentese) erhöhte Plasmakonzentrationen messbar. Die Medianwerte der Plasmakonzentrationen lagen vor der ungefilterten Humanalbumininfusion unter der Nachweisgrenze und stiegen direkt danach auf 0,1 $\mu\text{mol/l}$ sowohl in der gesamten Kohorte als auch in der Untergruppe Aszitesparazentese an. NAT ist physiologischerweise nicht in humanem Plasma zu bestimmen, so dass eine messbare Konzentration immer eine exogenen Ursache hat.

Der klinische Stellenwert der angestiegenen Konzentrationen von Octanoat und NAT zeigte sich z. B. in einer stärker ausgeprägten hepatischen Enzephalopathie sowie in einer nur wenig gebesserten Hämodynamik und Nierenfunktion in der Kontrollkohorte im Vergleich zur Filterkohorte nach der Humanalbumininfusion. Hierzu werden weitere Arbeiten folgen, die diesen Sachverhalt ausführlicher diskutieren.

Ein möglicher Ansatz zur Erklärung der angestiegenen Plasmakonzentrationen für Octanoat und NAT ist, dass es im Stadium der Leberinsuffizienz, wie in 1.5. beschrieben, zu einem verzögerten Abbau und einer Akkumulation der beiden Substanzen kommt. Demzufolge

könnten die erhöhten Konzentrationen in der Kohorte zwei durch diese pathologischen Vorgänge bedingt sein. Nach 24 Stunden lagen die Messwerte in beiden Kohorten wieder im Referenzbereich. Für die Normalisierung der Plasmakonzentration nach 24 Stunden insbesondere von Octanoat ist eher eine Umverteilung ins Gewebe als ein Abbau ausschlaggebend. Hinweise dazu liefert eine Studie von 1995, in der radioaktiv markiertes Octanoat in Ratten injiziert wurde und das Maximum der Octanoatkonzentration im Plasma nach 30 Sekunden zu messen war. Bereits nach zwei Minuten war die Konzentration im Blut um $> 50\%$ abgefallen. Bis zur letzten Messung nach 30 Minuten war die Plasmakonzentration des Octanoats die zweitniedrigste aller untersuchten Körperregionen. Im Vergleich dazu fielen die Konzentrationen in den Geweben (Lunge, Niere, Leber, Gehirn) erheblich langsamer ab bzw. stiegen sie in Leber und Gehirn zuerst sogar noch an [66]. Entsprechende Untersuchungen gibt es bei humanen Probanden nicht.

Des Weiteren sind gezielte Aussagen zu den Halbwertzeiten von Octanoat und NAT bei lebergesunden Menschen in der aktuellen Literatur nur unzureichend vorhanden. In einer aktuellen Studie von Reine *et al.* wird eine Halbwertzeit von weniger als 15 Minuten für Octanoat und 30 Minuten für NAT angegeben. Für diese Ergebnisse wurden allerdings nur sechs gesunde humane Probanden untersucht [89]. Bei früheren Untersuchungen an Tieren wurde für Octanoat eine Halbwertzeit von ca. 35 Sekunden beschrieben, welches sich mit der bekannten raschen Metabolisierung von mittelkettigen Fettsäuren vereinbaren lässt [68, 88]. Eine weitere Aussage zur Halbwertzeit von NAT findet sich in der Literatur nicht [88].

Für eine abschließende Erklärung der Konzentrationsanstiege von Octanoat und NAT im Plasma in der Kohorte zwei der dieser Dissertation zugrundeliegenden klinischen Studie wäre eine genaue Aussage über die Halbwertzeiten hilfreich.

Eine Tatsache, die durch diese Untersuchung klar herauszuarbeiten war, ist, dass der Unterschied zwischen den beiden Kohorten bezüglich der Plasmakonzentrationen von Octanoat und NAT durch die Filtration der Humanalbuminpräparationen mit dem Hepalbin® - Adsorber bedingt ist, da die beeinträchtigte Metabolisierung für beide Kohorten zutraf. Den Probanden der Kohorte eins (Filterkohorte) wurden hingegen mit der Albumininfusion keine Stabilisatoren zugefügt. Somit ergibt sich für die Fragestellung, in welchem Umfang die bedside - Filtration die Plasmakonzentrationen der Stabilisatoren Octanoat und NAT beeinflusst, die Aussage, dass durch eine Filtration der

Humanalbuminlösungen eine Erhöhung der Plasmakonzentrationen von Octanoat und NAT im Patienten vermieden werden kann.

Die Datenauswertung und die Analyse der eben aufgeführten Fakten führten zu der Fragestellung, inwieweit die Verbesserung der ABiC durch das Entfernen der Stabilisatoren aus den Humanalbuminpräparationen beeinflusst wird. In vitro erkannte man einen direkten Zusammenhang, da eine Verschlechterung der ABiC bei gleichzeitiger Anwesenheit der Stabilisatoren im Blut auftrat [90]. Zur Erläuterung, ob dies auch in vivo nachzuweisen ist, wurden die Streudiagramme mit Regressionsgerade erstellt.

Bei der Interpretation der hier durchgeführten statistischen Untersuchung ergibt sich, dass die Stabilisatoren Octanoat und NAT (Grafik 37, 40) allein, gemäß den Ergebnissen dieser Studie, in vivo keinen maßgeblichen negativen Einfluss auf die ABiC haben. Weiterhin entsteht bei Betrachtung der Regressionsdiagramme der Eindruck, als hätte Octanoat einen positiven Einfluss auf die ABiC. Wie dem Ergebnisstil zu entnehmen ist, kann diese Regressionsgerade aufgrund des geringen Gütemaßes ($R^2 = 0,006$) nicht verwendet werden. Für die endogenen Substanzen Bilirubin und Gallensäuren besteht jeweils eine Beeinträchtigung der ABiC (Grafik 38, 39). Insbesondere in der Kombination der verschiedenen Substanzen ist eine Verminderung der ABiC deutlich nachweisbar (Grafik 41, 42).

Ein direkter Zusammenhang zwischen der Abreicherung der Stabilisatoren und der Verbesserung der ABiC besteht den Ergebnissen dieser Studie zufolge in vivo nicht. Da eine Verbesserung der ABiC aber nur dann auftrat, wenn keine erhöhten Stabilisatorenkonzentrationen gemessen wurden, ist ein indirekter Zusammenhang anzunehmen.

Als Erklärungsansatz ist der Austausch der albumingebundenen Stabilisatoren mit gewebeständigen Toxinen denkbar. Gefiltertes Albumin bietet bei Infusion mehr freie Bindungsstellen. Es ist somit in der Lage, sofort endogene Toxine, auch gewebeständige, zu binden. Bei ungefiltertem Albumin findet womöglich auch eine Bindung endogener Toxine statt, dies allerdings nur im Austausch mit „mitgebrachten“ Toxinen, den Stabilisatoren Octanoat und NAT. Die Gesamtoxinmenge würde nach Infusion von konventionellem Humanalbumin somit nicht vermindert, sondern vielmehr noch erhöht werden [90]. Für die Funktionsfähigkeit des Albumins (ABiC) war die Gesamtoxinmenge aber der bedeutendste Faktor, wie sich aus dem Streudiagramm der Grafik 42 dieser Arbeit ersehen lässt.

Zu dieser Hypothese würde ebenfalls passen, dass die Plasmakonzentrationen von Bilirubin und Gallensäuren auch in der Kohorte eins (Filterkohorte) nicht gesunken sind. An die freien Bindungsstellen des gefilterten Albumins lagerten sich, der Hypothese zufolge, die im Blut befindlichen endogenen Toxine an und gleichzeitig strömten neue aus den Geweben nach, so dass sich dadurch bei den Plasmakonzentrationen keine signifikanten Änderungen ergäben. Im Gegensatz dazu akkumulierten im Fall des ungefilterten Albumins Toxine in erhöhtem Maße in den Geweben, da vorhandene Toxine, wenn überhaupt, nur durch neue ersetzt würden und eine Verminderung des Toxingehaltes im Gewebe sowie eine Verminderung des Gesamttoxingehaltes nicht stattfände. Als Folge sind sowohl eine Verschlechterung der klinischen Symptomatik der Patienten als auch das Auftreten neuer bzw. weiterer Komplikationen denkbar. Dies wird hervorgerufen durch die in 1.5. beschriebenen Eigenschaften der Stabilisatoren und die fortbestehende Toxinbelastung.

Des Weiteren ergab die hier durchgeführte statistische Auswertung der erhobenen Daten interessante Ergebnisse für den Parameter Albumin (Grafik 23 und 24). In beiden Kohorten und den jeweiligen Untergruppen Aszitesparazentese resultierte die statistische Analyse in einem hochsignifikanten Anstieg der Plasmakonzentration direkt nach der Albumininfusion. Nach 24 Stunden war dieser in der Kohorte eins (Filterkohorte) noch signifikant; in der entsprechenden Untergruppe Aszitesparazentese nicht mehr signifikant. Demgegenüber steht ein noch nach 24 Stunden bestehender hochsignifikanter Anstieg der Plasmakonzentration von Albumin in der Kohorte zwei (Kontrollkohorte) und ein sehr signifikanter Anstieg in der entsprechenden Untergruppe Aszitesparazentese. Bei den Überlegungen zur Interpretation dieser Ergebnisse entstand die Theorie, dass deligandisiertes (gefiltertes) Albumin womöglich besser und schneller in Gewebe aufgenommen wird. Insbesondere bei der Betrachtung der Grafik 23 fällt ein deutlicher Unterschied zwischen den Kohorten bei der Messung nach sechs Stunden auf. Durch die aufgestellte Hypothese ließen sich diese Verläufe erklären. Es könnte sein, dass durch die Beladung des Albumins mit den Stabilisatoren und die damit verbundenen Konformations- und Lageänderungen die Aufnahme in das paravasale, extrazelluläre Kompartiment erschwert ist und sich dadurch verzögert. Damit könnte der verlangsamte zeitliche Verlauf des ungefilterten Albumins erklärt werden. Durch seine Trägheit hinsichtlich der Gewebegängigkeit verbliebe es länger intravasal als gefiltertes, unbeladenes Albumin. Dies würde eine bessere Funktionalität des unbeladenen Albumins bezüglich seiner Aufgaben

und Eigenschaften im Gewebe bedeuten, da es mobiler wäre und zügiger das Kompartiment erreichte, in dem es gebraucht wird [91].

Obwohl die Theorie erstmals durch die Diskussion der erstellten statistischen Auswertungen entstand, weist sie doch, in Kombination mit den bereits vorgestellten Ergebnissen, auf die Notwendigkeit der Filtration humaner Albuminpräparationen hin und unterstreicht damit die Wichtigkeit der durchgeführten klinischen Prüfung.

Die in dieser Dissertation herausgearbeiteten Ergebnisse können sehr gut zur Analyse klinischer Fragestellungen verwendet werden. Dank dieser Vorarbeit ist es möglich, die klinischen Veränderungen bei den Probanden in den Kohorten genauer zu verifizieren. Insbesondere mit dem Einfluss der Hepalbin® - Filtration von Humanalbuminpräparationen auf die hämodynamische Situation und die hepatische Enzephalopathie werden sich weitere Dissertationen ausführlich beschäftigen. Dazu sollte mit der vorliegenden Arbeit die Grundlage geschaffen werden.

Rückblickend betrachtet war die Studie gemäß ihrer Planung praktisch durchführbar. Im Verlauf ergaben sich lediglich die für klinisch erhobene Werte bekannten Fehlerquellen wie z. B. Verzögerung oder Ausfall der Messungen durch Abwesenheit der Patienten. Die verwendeten Verfahren zur Messung der Parameter sind allgemein üblich und vielfach angewandt. Zur Bestimmung der ABiC wurde die aktuell effektivste Methode angewandt (siehe 1.4. und 3.2.) [39]. Um die angestrebte klinische Überprüfung des Effekts der bettseitigen Filtration auf den Verlauf der Plasmakonzentrationen von Octanoat, NAT und der ABiC in Humanalbuminpräparationen durchzuführen, erwiesen sich der Studienablauf, die angewandten Methoden und verwendeten Materialien als geeignet.

Nachdem die Effektivität des Hepalbin® - Adsorbers in vivo in dieser Ergebniserhebung nachgewiesen werden konnte, ist es nunmehr notwendig, die Fallzahlen zu vergrößern und durch eine prospektive Randomisierung der Probanden die Aussagekraft der Ergebnisse zu steigern. Durch eine Erhöhung der Fallzahlen wird ebenfalls eine höhere Quantität der Ergebnisse in den möglichen Untergruppen erzielt, die eine differenziertere Betrachtung des Patientengutes zulässt. Mithilfe der Match Pair Technik wäre es außerdem möglich, gleich starke, kontrollierte Stichproben der einzelnen medizinischen Indikationen zu erstellen.

Zur Verifizierung der in der vorliegenden Dissertation erbrachten Ergebnisse sind multizentrische Studien notwendig. Dazu dient die hier durchgeführte kontrollierte

klinische Studie als Ausgangspunkt. Von der Universität Rostock sind in Zusammenarbeit mit Kliniken in den USA und Europa bereits Multicenterstudien geplant. Konkret vorbereitet ist, in Kooperation mit der Universität Barcelona, eine Reproduktion der Ergebnisse in der Subgruppe der Probanden mit Aszitesparazentese, im Sinne einer multizentrischen, prospektiv randomisierten, kontrollierten Doppel - Blindstudie.

Zusammenfassend wurde mit dieser klinischen Studie der Nachweis erbracht, dass eine Verbesserung der ABiC durch bedside - Filtration von pharmazeutischen Humanalbuminpräparationen erreichbar ist. Durch die Entwicklung des Hepalbin® - Adsorbers wurde diese innovative Therapieoption geschaffen, so dass es nunmehr möglich ist, das Wissen über die verbesserte Überlebenschance der betroffenen Patienten durch Erhöhung ihrer ABiC zu nutzen [49, 52]. Darüber hinaus könnte nach weiteren klinischen Studien das hier vorgestellte Therapieverfahren mit dem Hepalbin® - Adsorber eine unterstützende Therapieoption zum „bridging - to - transplant“ darstellen. Vielerorts wird an der Entwicklung künstlicher Organe gearbeitet. Die hier vorgestellte Methode kann nun zumindest im Bezug auf die Leber durch die Verbesserung der Überlebenschance den Wartelisten - Patienten etwas mehr Zeit verschaffen.

6. Thesen zur Dissertation

Klinische Prüfung des Effektes der bettseitigen Filtration von konventionellen Humanalbuminpräparationen auf den Verlauf der Plasmakonzentrationen von Octanoat, N - Acetyltryptophanat und der Albuminbindungskapazität (ABiC)

1. Die Leberzirrhose ist eine irreversible Erkrankung mit vielgestaltigen Symptomen und einem häufig schweren, komplikationsreichen Verlauf bis hin zum Organversagen. Für eine kurative Therapie ist eine Lebertransplantation notwendig, die aber aufgrund fehlender Ersatzorgane leider nicht in der erforderlichen Häufigkeit durchgeführt werden kann. Deshalb ist eine Optimierung der vorhandenen Therapieoptionen ein Ziel der Forschung in diesem Bereich.
2. Zu den vorhandenen Behandlungsstrategien gehört die Humanalbumintherapie, deren Bedeutung allerdings heftig umstritten ist. Mit den gegenwärtig vielfach nachgewiesenen unübertroffenen Eigenschaften des Humanalbumins wurde das Interesse an dieser Therapieoption neu entfacht.
3. Durch aktuelle Studien wurde ein Parameter herausgearbeitet, der die Funktionalität des Albuminmoleküls anzeigt. Hierbei handelt es sich um die Albuminbindungskapazität (ABiC), die in lebergesunden Probanden annähernd 100% erreicht. Bedingt durch die Organinsuffizienz der Leber und damit u. a. eingeschränkte Entgiftungsfunktion ist die ABiC im Stadium der dekompensierten Leberzirrhose reduziert.
4. Die ABiC ist besser als jeder Laborparameter oder die bisher bekannten klinisch relevanten Einteilungssysteme (CHILD, MELD) dazu geeignet Aussagen über die Schwere und die Prognose des Leberversagens zu treffen. Dementsprechend sollte es ein grundlegendes Ziel der Humanalbumintherapie sein die ABiC bei Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose wieder auf das Niveau lebergesunder Probanden zu steigern.
5. Trotz aller neuen Erkenntnisse halten die Kontroversen bezüglich der Humanalbumintherapie nicht zuletzt durch die erhebliche Diskrepanz zwischen

theoretisch erwartetem und klinisch beobachtetem Benefit der Therapie weiter an. Die Ursache dieser Abweichung liegt in der signifikanten Überladung des konventionellen Humanalbumins mit den Stabilisatoren Octanoat und N - Acetyltryptophanat (NAT) und einer daraus resultierenden eingeschränkten ABiC (30% - 40%).

6. Eine industrielle Herstellung therapeutisch nutzbaren Humanalbumins ohne Octanoat und NAT ist den Pharmaunternehmen nicht möglich. Die innovative Lösung des Problems liegt in der Verwendung des Hepalbin® - Adsorbers zu jeder Humanalbumingabe.
7. Anhand der zugrundeliegenden Studie konnte die Effektivität der bettseitigen Filtration von konventionellen Humanalbuminpräparationen mithilfe des Hepalbin® - Adsorbers herausgearbeitet werden.
8. Durch die Filtration können erhöhte Plasmakonzentrationen der Stabilisatoren Octanoat und NAT signifikant vermieden werden. Ebenso ist eine signifikante Steigerung der ABiC realisierbar.
9. Die Ergebnisse dieser klinischen Studie zeigten keinen direkten Zusammenhang zwischen der Abreicherung der Stabilisatoren und dem Anstieg der ABiC. Hier muss ein indirekter Zusammenhang angenommen werden, da eine Verbesserung der ABiC nur dann auftritt, wenn keine erhöhten Stabilisatorenkonzentrationen gemessen werden.
10. Mit der Verwendung des Hepalbin® - Adsorbers ist das Wissen um die verbesserte Überlebenschancen der Patienten mit dekompenzierter Leberzirrhose durch Steigerung ihrer ABiC nutzbar geworden.

7. Literaturverzeichnis

1. Prof.Dr.Hans-PeterBuscher, *Leberzirrhose* - *Facharztwissen* <http://www.medicoconsult.de/wiki/Leberzirrhose>, MedicoConsult GmbH: Berlin.
2. Herold, G., *Innere Medizin*. 2009, Köln: Herold Verlag.
3. Enzyklopädie, W., *MELD - Score* <http://de.wikipedia.org/wiki/MELD-Score>. 2010.
4. LaborDr.Limbach, *MELD - Score* <http://www.labor-limbach.de/index.php?id=351>. 2009.
5. *Human albumin administration in critically ill patients: systematic review of randomised controlled trials*. Cochrane Injuries Group Albumin Reviewers. *BMJ*, 1998. **317**(7153): p. 235-40.
6. Starling, E.H., *Contributions to the Physiology of Lymph Secretion*. *J Physiol*, 1893. **14**(2-3): p. i1-153.
7. Wilkinson, P. and S. Sherlock, *The effect of repeated albumin infusions in patients with cirrhosis*. *Lancet*, 1962. **2**(7266): p. 1125-9.
8. Lieberman, F.L.e.a., *Relationship of plasma volume, portal hypertension, ascites and renal sodium retention in cirrhosis - OVERFLOW THEORY OF ASCITES FORMATION*. *Ann N Y Acad Sci*, 1970: p. 11.
9. Fernandez-Seara, J., et al., *Systemic and regional hemodynamics in patients with liver cirrhosis and ascites with and without functional renal failure*. *Gastroenterology*, 1989. **97**(5): p. 1304-12.
10. Schrier, R.W., et al., *Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis*. *Hepatology*, 1988. **8**(5): p. 1151-7.
11. Altman, C., et al., *Randomized comparative multicenter study of hydroxyethyl starch versus albumin as a plasma expander in cirrhotic patients with tense ascites treated with paracentesis*. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1998. **10**(1): p. 5-10.
12. Gines, P., et al., *Review article: albumin for circulatory support in patients with cirrhosis*. *Aliment Pharmacol Ther*, 2002. **16 Suppl 5**: p. 24-31.
13. Ruiz-del-Arbol, L., et al., *Paracentesis-induced circulatory dysfunction: mechanism and effect on hepatic hemodynamics in cirrhosis*. *Gastroenterology*, 1997. **113**(2): p. 579-86.
14. Garcia-Compean, D., et al., *Treatment of cirrhotic tense ascites with Dextran-40 versus albumin associated with large volume paracentesis: a randomized controlled trial*. *Ann Hepatol*, 2002. **1**(1): p. 29-35.
15. Gines, A., et al., *Randomized trial comparing albumin, dextran 70, and polygeline in cirrhotic patients with ascites treated by paracentesis*. *Gastroenterology*, 1996. **111**(4): p. 1002-10.
16. Sola-Vera, J., et al., *Randomized trial comparing albumin and saline in the prevention of paracentesis-induced circulatory dysfunction in cirrhotic patients with ascites*. *Hepatology*, 2003. **37**(5): p. 1147-53.
17. Fernandez, J., et al., *A randomized unblinded pilot study comparing albumin versus hydroxyethyl starch in spontaneous bacterial peritonitis*. *Hepatology*, 2005. **42**(3): p. 627-34.
18. Sort, P., et al., *Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis*. *N Engl J Med*, 1999. **341**(6): p. 403-9.

19. Maor, Y., *The use of albumin in patients with decompensated cirrhosis: the case in favor*. *Isr Med Assoc J*, 2005. **7**(2): p. 115-8.
20. Ortega, R., et al., *Terlipressin therapy with and without albumin for patients with hepatorenal syndrome: results of a prospective, nonrandomized study*. *Hepatology*, 2002. **36**(4 Pt 1): p. 941-8.
21. Uriz, J., et al., *Terlipressin plus albumin infusion: an effective and safe therapy of hepatorenal syndrome*. *J Hepatol*, 2000. **33**(1): p. 43-8.
22. Tandon, P., et al., *The effect of 1 month of therapy with midodrine, octreotide-LAR and albumin in refractory ascites: a pilot study*. *Liver Int*, 2009. **29**(2): p. 169-74.
23. Gines, P., et al., *Randomized comparative study of therapeutic paracentesis with and without intravenous albumin in cirrhosis*. *Gastroenterology*, 1988. **94**(6): p. 1493-502.
24. Moore, K.P., et al., *The management of ascites in cirrhosis: report on the consensus conference of the International Ascites Club*. *Hepatology*, 2003. **38**(1): p. 258-66.
25. Quintero, E., et al., *Paracentesis versus diuretics in the treatment of cirrhotics with tense ascites*. *Lancet*, 1985. **1**(8429): p. 611-2.
26. Patch, D. and A. Burroughs, *Intravenous albumin in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis*. *N Engl J Med*, 1999. **341**(23): p. 1773-4.
27. Runyon, B.A., *Albumin infusion for spontaneous bacterial peritonitis*. *Lancet*, 1999. **354**(9193): p. 1838-9.
28. Sort, P.G., Pere; Arroyo, Vicente, *Intravenous Albumin in Patients with Cirrhosis and Spontaneous Bacterial Peritonitis*. *The New England Journal of Medicine*, 1999. **341**(23): p. 1.
29. Salerno, F., et al., *Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis*. *Gut*, 2007. **56**(9): p. 1310-8.
30. Stamler, J.S., *S-nitrosothiols in the blood: roles, amounts, and methods of analysis*. *Circ Res*, 2004. **94**(4): p. 414-7.
31. Yang, J., et al., *Structural insights into human serum albumin-mediated prostaglandin catalysis*. *Protein Sci*, 2002. **11**(3): p. 538-45.
32. Zsila, F., Z. Bikadi, and S.F. Lockwood, *In vitro binding of leukotriene B4 (LTB4) to human serum albumin: evidence from spectroscopic, molecular modeling, and competitive displacement studies*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005. **15**(16): p. 3725-31.
33. Sen, S., R. Jalan, and R. Williams, *Liver failure: basis of benefit of therapy with the molecular adsorbents recirculating system*. *Int J Biochem Cell Biol*, 2003. **35**(9): p. 1306-11.
34. Stange, J., et al., *Dialysis against a recycled albumin solution enables the removal of albumin-bound toxins*. *Artif Organs*, 1993. **17**(9): p. 809-13.
35. Mitzner, S., et al., *Improvement in central nervous system functions during treatment of liver failure with albumin dialysis MARS--a review of clinical, biochemical, and electrophysiological data*. *Metab Brain Dis*, 2002. **17**(4): p. 463-75.
36. Steiner, C. and S. Mitzner, *Experiences with MARS liver support therapy in liver failure: analysis of 176 patients of the International MARS Registry*. *Liver*, 2002. **22 Suppl 2**: p. 20-5.
37. Garcovich, M., M.A. Zocco, and A. Gasbarrini, *Clinical use of albumin in hepatology*. *Blood Transfus*, 2009. **7**(4): p. 268-77.
38. Wong, F., *Drug insight: the role of albumin in the management of chronic liver disease*. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 2007. **4**(1): p. 43-51.

39. Mathias, U., *Entwicklung neuer in-vitro-Assays zur Bestimmung der Serumproteinbindung und zur Testung von Inhibitoren einer ADP-Ribosyltransferase*. 2008, Albert-Ludwigs-Universität: Freiburg. p. 199.
40. Sudlow, G., D.J. Birkett, and D.N. Wade, *Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin*. *Mol Pharmacol*, 1976. **12**(6): p. 1052-61.
41. Margaron, M.P. and N.C. Soni, *Changes in serum albumin concentration and volume expanding effects following a bolus of albumin 20% in septic patients*. *Br J Anaesth*, 2004. **92**(6): p. 821-6.
42. Carpenedo, R., G. Mannaioni, and F. Moroni, *Oxindole, a sedative tryptophan metabolite, accumulates in blood and brain of rats with acute hepatic failure*. *J Neurochem*, 1998. **70**(5): p. 1998-2003.
43. Derr, R.F. and L. Zieve, *Methanethiol and fatty acids depress urea synthesis by the isolated perfused rat liver*. *J Lab Clin Med*, 1982. **100**(4): p. 585-92.
44. Kragh-Hansen, U., *Octanoate binding to the indole- and benzodiazepine-binding region of human serum albumin*. *Biochem J*, 1991. **273 (Pt 3)**: p. 641-4.
45. McCandless, D.W., *Octanoic acid-induced coma and reticular formation energy metabolism*. *Brain Res*, 1985. **335**(1): p. 131-7.
46. Noctor, T.A., I.W. Wainer, and D.S. Hage, *Allosteric and competitive displacement of drugs from human serum albumin by octanoic acid, as revealed by high-performance liquid affinity chromatography, on a human serum albumin-based stationary phase*. *J Chromatogr*, 1992. **577**(2): p. 305-15.
47. Norenberg, M.D. and A.S. Bender, *Astrocyte swelling in liver failure: role of glutamine and benzodiazepines*. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*, 1994. **60**: p. 24-7.
48. Parker, W.D., Jr., et al., *Effects of octanoate on rat brain and liver mitochondria*. *Neurology*, 1983. **33**(10): p. 1374-7.
49. Klammt, S., et al., *Albumin-binding function is reduced in patients with decompensated cirrhosis and correlates inversely with severity of liver disease assessed by model for end-stage liver disease*. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2007. **19**(3): p. 257-63.
50. Mitzner, S.R., et al., *Improvement of hepatorenal syndrome with extracorporeal albumin dialysis MARS: results of a prospective, randomized, controlled clinical trial*. *Liver Transpl*, 2000. **6**(3): p. 277-86.
51. Hassanein, T.e.a., *Efficacy of albumin dialysis (MARS) in patients with cirrhosis and advanced grades of hepatic encephalopathy: A prospective, controlled, randomized multicenter trial*. *Hepatology*, 2004. **40**(4): p. 726A - 727A.
52. Klammt, S., et al., *Improvement of impaired albumin binding capacity in acute-on-chronic liver failure by albumin dialysis*. *Liver Transpl*, 2008. **14**(9): p. 1333-9.
53. Heemann, U., et al., *Albumin dialysis in cirrhosis with superimposed acute liver injury: a prospective, controlled study*. *Hepatology*, 2002. **36**(4 Pt 1): p. 949-58.
54. Schmidt, L.E., et al., *Systemic hemodynamic effects of treatment with the molecular adsorbents recirculating system in patients with hyperacute liver failure: a prospective controlled trial*. *Liver Transpl*, 2003. **9**(3): p. 290-7.
55. Universitätsklinikum_Rostock_Klinik_für_Innere_Medizin, *Studienprotokoll Klinische Pilotstudie: Veränderung der Albumin - Bindungskapazität (ABiC)*

- nach therapeutischer Gabe von Hepalbin™ – Adsorber behandelten humanen Serumalbuminpräparationen*, in HV - 2007 - 15. 2007: Rostock.
56. Produktflyer, *Hepalbin Adsorber*. 2007, Albutec GmbH: Rostock.
 57. Arndt, K. and M. Suraj, *Octanoate – and N-Acetyltryptophane free albumin for albumin dialysis and intravenous infusion*, U.o.R. Research Lab Extracorporeal Detoxification, Editor. 2005, 7. International Symposium on Albumin Dialysis in Liver Disease: Rostock.
 58. Edsall, J.T., *Stabilization of serum albumin to heat, and inactivation of the hepatitis virus*. Vox Sang, 1984. **46**(5): p. 338-40.
 59. Zieve, L., *Pathogenesis of hepatic coma*. Arch Intern Med, 1966. **118**(3): p. 211-23.
 60. Mitkov, D., *The role of the octanoic fatty acid in the pathogenesis of the metabolic alkalosis in experimental liver failure*. Folia Med (Plovdiv), 1993. **35**(1-2): p. 23-7.
 61. Paul, H.S. and S.A. Adibi, *Leucine oxidation and protein turnover in clofibrate-induced muscle protein degradation in rats*. J Clin Invest, 1980. **65**(6): p. 1285-93.
 62. Paul, H.S. and S.A. Adibi, *Mechanism of increased conversion of branched chain keto acid dehydrogenase from inactive to active form by a medium chain fatty acid (octanoate) in skeletal muscle*. J Biol Chem, 1992. **267**(16): p. 11208-14.
 63. Vazquez, J.A., H.S. Paul, and S.A. Adibi, *Regulation of leucine catabolism by caloric sources. Role of glucose and lipid in nitrogen sparing during nitrogen deprivation*. J Clin Invest, 1988. **82**(5): p. 1606-13.
 64. Blei, A.T., et al., *Ammonia-induced brain edema and intracranial hypertension in rats after portacaval anastomosis*. Hepatology, 1994. **19**(6): p. 1437-44.
 65. James, J.H., et al., *Hyperammonaemia, plasma amino acid imbalance, and blood-brain amino acid transport: a unified theory of portal-systemic encephalopathy*. Lancet, 1979. **2**(8146): p. 772-5.
 66. Kuge, Y., et al., *Brain uptake and metabolism of [1-11C]octanoate in rats: pharmacokinetic basis for its application as a radiopharmaceutical for studying brain fatty acid metabolism*. Ann Nucl Med, 1995. **9**(3): p. 137-42.
 67. Olson, J.E., et al., *Octanoic acid inhibits astrocyte volume control: implications for cerebral edema in Reye's syndrome*. J Neurochem, 1989. **52**(4): p. 1197-202.
 68. Rowley, H. and R.C. Collins, *[1-14C]Octanoate: a fast functional marker of brain activity*. Brain Res, 1985. **335**(2): p. 326-9.
 69. Tavares-Almeida, I., et al., *Aromatic amino acid metabolites as potential protein binding inhibitors in human uremic plasma*. Biochem Pharmacol, 1985. **34**(14): p. 2431-8.
 70. Curzon, G. and P.J. Knott, *Environmental, toxicological and related aspects of tryptophan metabolism with particular reference to the central nervous system*. CRC Crit Rev Toxicol, 1977. **5**(2): p. 145-87.
 71. Knell, A.J., et al., *Dopamine and serotonin metabolism in hepatic encephalopathy*. Br Med J, 1974. **1**(5907): p. 549-51.
 72. Ono, J., et al., *Tryptophan and hepatic coma*. Gastroenterology, 1978. **74**(2 Pt 1): p. 196-200.
 73. Takada, A., et al., *Rapid steady-state analysis of blood-brain transfer of L-Trp in rat, with special reference to the plasma protein binding*. Neurochem Int, 1993. **23**(4): p. 351-9.

74. al Mardini, H., et al., *Brain indoles in human hepatic encephalopathy*. Hepatology, 1993. **17**(6): p. 1033-40.
75. Borg, J., et al., *Neurotransmitter modifications in human cerebrospinal fluid and serum during hepatic encephalopathy*. J Neurol Sci, 1982. **57**(2-3): p. 343-56.
76. Fernstrom, J.D. and R.J. Wurtman, *Brain serotonin content: physiological regulation by plasma neutral amino acids*. Science, 1972. **178**(59): p. 414-6.
77. Hamon, M., et al., *Role of active transport of tryptophan in the control of 5-hydroxytryptamine biosynthesis*. Adv Biochem Psychopharmacol, 1974. **11**(0): p. 153-62.
78. Hartmann, E. and C.L. Spinweber, *Sleep induced by L-tryptophan. Effect of dosages within the normal dietary intake*. J Nerv Ment Dis, 1979. **167**(8): p. 497-9.
79. Hortnagl, H., et al., *Plasma catecholamines in hepatic coma and liver cirrhosis: role of octopamine*. Klin Wochenschr, 1981. **59**(20): p. 1159-64.
80. Mannaioni, G., et al., *Tryptophan metabolism and hepatic encephalopathy. Studies on the sedative properties of oxindole*. Adv Exp Med Biol, 1999. **467**: p. 155-67.
81. Moroni, F., et al., *Oxindole in pathogenesis of hepatic encephalopathy*. Lancet, 1998. **351**(9119): p. 1861.
82. Kristev, A., D. Mitkov, and J. Lukanov, *Effects of the medium chain octanoic fatty acid on the contractile activity of vascular smooth muscle tissues*. Folia Med (Plovdiv), 1992. **34**(1): p. 12-8.
83. Wojtczak, L. and P. Schonfeld, *Effect of fatty acids on energy coupling processes in mitochondria*. Biochim Biophys Acta, 1993. **1183**(1): p. 41-57.
84. *Revision of requirements applicable to albumin (human), plasma protein fraction (human), and immune globulin (human)*. Food and Drug Administration, HHS. Final rule. Fed Regist, 2000. **65**(167): p. 52016-8.
85. *Revision of requirements applicable to albumin (human), plasma protein fraction (human), and immune globulin (human); confirmation in part and technical amendment*. Food and Drug Administration, HHS. Direct final rule; confirmation in part and technical amendment. Fed Regist, 2000. **65**(50): p. 13678-9.
86. Produktinformation, *Fachinformation zu den Einsatzmöglichkeiten und zur Anwendung des Hepalbin® - Adsorbers*. 2008, Albutec GmbH: Rostock.
87. Produktflyer, *Hepalbin® - Adsorber*. 2008, Albutec GmbH: Rostock.
88. Stange, P.D.J. 18.03.2011: Rostock.
89. Reine, P.A., et al., *Infusions of albumin increase free fraction of naproxen in healthy volunteers: a randomized crossover study*. Acta Anaesthesiol Scand, 2010. **54**(4): p. 430-4.
90. Stange, P.D.J. 07.03.2011: Rostock.
91. Stange, P.D.J. 27.03.2011: Rostock.

7. Abkürzungsverzeichnis

*:	signifikant
**:	sehr signifikant
***:	hochsignifikant
ABIC:	Albumin Binding Capacity
ALAT:	Alanin-amino-transferase
ASAT:	Aspartat-amino-transferase
aP:	alkalische Phosphatase
AP:	Aszitesparazentese
CHILD:	Child-Turcotte-Pugh-Score
DS:	Dansylsarcosine
ECAD:	Extracorporal Albumin Dialysis
EDTA:	Ethylidiamintetraacid
EKK:	Erythrozytenkonzentrate
ETLZ:	Ethyltoxische Leberzirrhose
F:	Furosemid
FDA:	Food and Drug Administration
γ -GT:	Gamma-Glutamyltransferase
GC:	Gaschromatographie
H:	Hydrochlorothiazid
HA:	Humanalbumin
HAES:	Hydroxyäthylstärke
Hb:	Hämoglobin
HE:	Hepatische Enzephalopathie
HESA:	Hepatic Encephalopathy Scoring Assessment
Hk:	Hämatokrit
HPLC:	High-perfusion-liquid-chromatography
HRS:	Hepatorenales Syndrom
HSA:	Humanes Serumalbumin
i.S.:	im Serum
INR:	International Normalized Ratio
IRMA:	Immunradiometrisches Essay
ITS:	Intensivstation

kDa:	Kilodalton
LZ:	Leberzirrhose
m:	männlich
M:	Median
MAP:	Mid-arterial-pressure
MARS:	Molecular Adsorbent Recirculating System
MARS_ELF:	Molecular Adsorbent Recirculating System _ Excretory Liver Failure
Max:	Maximum
MELD:	Model for End-Stage Liver Disease
Min:	Minimum
MPG:	Medizinproduktegesetz
MS:	Massenspektrometrie
MW:	Mittelwert
NaK-ATPase:	Natrium-Kalium-ATPase
na:	nach Infusion
na6:	6 Stunden nach Infusion
na24:	24 Stunden nach Infusion
NaCl:	Natriumchlorid
NAT:	N-acetyl-tryptophanat
NG:	Nachweisgrenze
NIR:	near-infra-red
ns:	nicht signifikant
p:	Signifikanz
Perz:	Perzentile
PTT:	Partial-thromboplastin-time
R ² :	Gütemaß
RAAS:	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RIA:	Radioimmun-Assay
S:	Spironolacton
SA:	Standardabweichung
SAE:	Severe Adverse Event
SN:	Signifikanzniveau
SPAD:	Single Pass Albumin Dialysis
SPB:	Spontan bakterielle Peritonitis
SPR:	Surface-Plasmon-resonance

SWT:	Shapiro-Wilk-Test
T:	Torasemid
TIPS:	Transjugulärer intrahepatischer Portosystemischer Shunt
TRA:	Therapierefraktärer Aszites
UNOS:	United network for organ sharing
vor:	vor Infusion
vT:	verbundener T-Test
X:	Xipamid
w:	weiblich
W:	Wilcoxon
ZVK:	Zentral-venöser Katheter