



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„HPLC-Analyse von Meropenem in humanen
Plasmaproben und Ultrafiltraten“

Verfasserin

Sophie Brezowar

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, Juli 2012

Studienkennzahl lt.

A 449

Studienblatt:

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Pharmazie UniStG

Betreuerin / Betreuer:

Univ.-Prof.Dr. Walter Jäger

DANKSAGUNG

Die vorliegende Diplomarbeit entstand in der Zeit von März 2011 bis Juli 2012 am Departement für klinische Pharmazie und chemische Diagnostik an der Fakultät für Lebenswissenschaften der Universität Wien.

Ein großer Dank gilt Herrn Ao. Univ. Prof. Mag. Dr. Walter Jäger, der mir die Möglichkeit gab diese Arbeit am Departement durchzuführen und mir mit Rat und Tat immer hilfreich zur Seite stand.

Frau Dr. Martina Höferl möchte ich für die Unterstützung und ihre Geduld bei der praktischen Arbeit herzlich danken.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Mag. Josef Kodritsch bedanken der mir als MARS-Spezialist hilfsbereit Frage und Antwort stand.

Besonderer Dank gilt Frau Mag. pharm. Elisabeth Bauer-Soos und Frau Dr. Alexandra Maier-Salamon, sowie dem Team der Apotheke zum Papst, die mich in jeder Hinsicht auf meinem Werdegang unterstützt und gefördert haben.

Ich danke meiner Familie, vor allem meinen Eltern und meinem Bruder, die mich zu jeder Tageszeit und in jeder Stimmungslage verständnisvoll unterstützt haben.

Abschließend möchte ich mich noch bei meinen engsten Studienkollegen/innen und Freunden bedanken, die mich während meiner Studienzeit begleitet haben.

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Problemstellung.....	1
2.	Einleitung.....	3
2.1.	Meropenem.....	3
2.1.1.	Eigenschaften von Meropenem.....	3
2.1.2.	Pharmakodynamik.....	4
2.1.3.	Pharmakokinetik.....	5
2.1.4.	Anwendungsgebiete und Dosierung.....	6
2.1.5.	Nebenwirkungen.....	7
2.1.6.	Wechselwirkungen und Kontraindikationen.....	7
2.2.	Die Leber.....	9
2.2.1.	Aufbau und Funktion der Leber.....	9
2.2.2.	Leberinsuffizienz.....	10
2.3.	Extrakorporale Leberersatzverfahren.....	12
2.3.1.	MARS® – Molecular Adsorbens Recirculating System.....	14
3.	Experimenteller Teil.....	19
3.1.	Materialien.....	19
3.1.1.	Applizierte Arzneiform.....	19
3.1.2.	Verwendete Geräte.....	19
3.1.3.	Verwendete Chemikalien.....	20
3.2.	Methodik.....	20
3.2.1.	Patienten.....	20
3.2.2.	Applikation und Probenentnahme.....	21
3.2.3.	Probenaufbearbeitung.....	22
3.2.4.	Herstellung des Ammonacetatpuffers.....	23
3.2.5.	HPLC-System.....	23

3.3.	Auswertung.....	24
3.3.1.	Ermittlung der Konzentration von Meropenem.....	24
4.	Ergebnisse und Diskussion.....	25
4.1.	Filtrationsleistung der einzelnen Kompartimente des MARS-System anhand boviner Plasmaproben.....	27
4.1.1.	Mittelwerte.....	36
4.2.	Filtrationsrate von Meropenem durch das MARS-System im Menschen.....	40
5.	Zusammenfassung.....	42
6.	Literaturverzeichnis.....	43
7.	Abbildungsverzeichnis.....	47
8.	Tabellenverzeichnis.....	49
9.	Curriculum Vitae.....	50

1. Problemstellung

Bei Patienten mit schwerem Leberversagen unterschiedlicher Genese, zirkulieren aufgrund der mangelnden Funktion der Leber zahlreiche Toxine im Blut, die eine Regeneration der Leberzellen blockieren. Diese Regeneration ist jedoch notwendig um die Funktion der Leber aufrecht zu erhalten. Durch eine Primärtherapie mittels Antibiotika, Elektrolytgabe oder Gabe von Gerinnungsfaktoren kann eine Verzögerung des Fortschreitens der Erkrankung erreicht werden. Früher oder später jedoch wird eine Lebertransplantation notwendig. Um die Zeitspanne bis zur Operation zu überbrücken, ist der Einsatz von extrakorporalen Blutreinigungsverfahren notwendig. Zunächst wurden Verfahren wie Hämofiltration, Plasmaperfusion oder Plasmaaustausch eingesetzt, diese erzielten aber nicht die gewünschte Wirksamkeit und konnten sich daher nicht behaupten.

Ein neues, effizientes Verfahren zur Blutreinigung bei Leberversagen ist das Molecular Adsorbens Recirculating System (MARS®). Das MARS-System ist eine Kombination aus Nierendialyse und Leberdialyse. Hierbei wird das Patientenblut zunächst über eine Hämofiltration von den nierenpflichtigen Substanzen gereinigt. In einem zweiten Schritt, werden dann im eigentlichen MARS-Kreislauf alle albumingebundenen Giftstoffe aus dem Blut entfernt. Ein Vorteil des MARS-Systems gegenüber anderen vergleichbaren Systemen ist die selektivere Filtration durch Verwendung einer speziellen semipermeablen Membran. Weiters arbeitet das MARS-System kostengünstiger, da ein geschlossener Albuminkreislauf verwendet wird, wodurch sich das Albumin regeneriert.

Ein Problem bei extrakorporalen Blutreinigungsverfahren ist jedoch, dass neben den Giftstoffen auch Arzneistoffe aus dem Blut entfernt werden. Dadurch ist eine Anpassung der Dosierung erforderlich. Derzeit gibt es jedoch wenige Daten über die Eliminationsrate von Arzneistoffen durch das MARS-System. Patienten mit Leberinsuffizienz zeigen durch die eingeschränkte Funktion der Leber eine Schwächung des Immunsystems und dadurch eine hohe Anfälligkeit für Infektionen. Dies führt oft zu

Problemstellung

monatelangen Intensivbehandlungen mittels Antibiotika. In der vorliegenden Diplomarbeit wurde daher Meropenem, ein Antibiotikum aus der Wirkstoffklasse der Carbapeneme als Beispiel gewählt, um die Hämofiltration von Arzneistoffen durch das MARS-System zu untersuchen. Meropenem ist ein bakterizides Antibiotikum mit breitem Wirkspektrum und hoher Stabilität, wodurch es bei schweren Infektionen, starker Immunschwäche und Infektionen mit Keimen, die gegen andere Antibiotika resistent sind zum Einsatz kommt.

Das Ziel dieser Diplomarbeit war es das Ausmaß der Filtration von Meropenem über das MARS-System zu charakterisieren. Um die Filtrationsleistung der einzelnen Teilabschnitte des MARS-Systems zu charakterisieren, sollten während einer ersten Versuchsreihe mit Rindern, die Meropenem erhielten, Proben an verschiedenen Punkten des Systems entnommen und mittels HPLC-Analyse auf ihren Gehalt an Meropenem untersucht werden. Weiters sollte die Filtrationsrate des Antibiotikums im Menschen durch Analyse des Blutes und des Ultrafiltrates bestimmt werden. Die daraus gewonnenen Daten sollten Aufschluss geben, ob und wie weit das Dosierschema von Antibiotika der Carbapenem-Gruppe bei Patienten, die mit dem MARS-System therapiert werden, angepasst werden muss.

2. Einleitung

2.1. Meropenem

Meropenem gehört zur Gruppe der Beta-Lactam-Antibiotika und zur Wirkstoffklasse der Carbapeneme. Carbapeneme haben eine Penicillin-ähnliche Grundstruktur, jedoch an Position 4 der Ringstruktur ein C-Atom („Carba“) anstelle eines Schwefel-Atoms. Zusätzlich gibt es an Position 2-3 eine Doppelbindung.⁽¹⁾

2.1.1. Eigenschaften von Meropenem

Meropenem ($C_{17}H_{25}N_3O_5S$; (4R,5S,6S)-3-[[[(2S,5S)-5-(dimethylcarbamoyl)pyrrolidin-2-yl]sulfonyl]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carbonsäure) ist ein weißes bis leicht gelblich gefärbtes, kristallines Pulver, mit einem Molekulargewicht von $383,463 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$.⁽²⁾⁽³⁾⁽¹²⁾

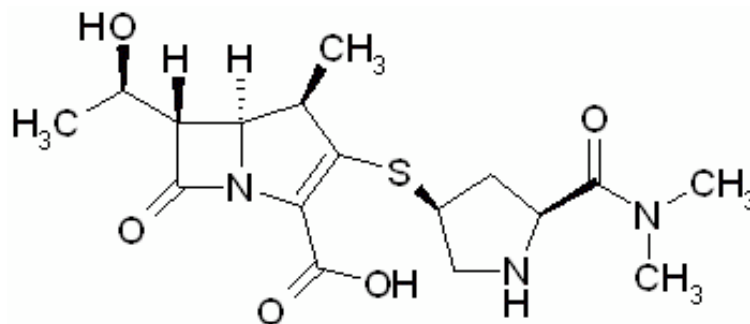


Abb. 1: Strukturformel von Meropenem⁽²⁾

Meropenem wird aufgrund seiner Hydrophilie oral kaum resorbiert und kann nur parenteral appliziert werden. Da Meropenem bei längerer Lagerung und bei schwankenden Temperaturen instabil sein kann, wird empfohlen nur frisch zubereitete Lösungen zu verwenden. Falls es notwendig ist können die Lösungen bei Raumtemperatur von 15 - 25°C bis zu 2 Stunden und bis zu maximal 12 Stunden im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt werden, jedoch dürfen sie auf keinen Fall eingefroren werden.⁽⁵⁾

2.1.2. Pharmakodynamik

Meropenem ist ein Zellwandsynthese-Inhibitor, der mit Penicillinbindeproteinen (PBP) interagiert und somit in die Peptidoglykansynthese der Bakterien eingreift, um so seine endgültige Wirkung zu entfalten.⁽⁴⁾ Meropenem weist eine ähnliche Struktur wie die PBPs auf und kann somit an diese binden. Der Aufbau der Peptidoglycanschicht, die Zellwandsynthese der Bakterien kann dadurch unterbrochen werden. Dies führt zu einer Zerstörung der Zellwand und zur Lyse des Bakteriums. Daher zeigt Meropenem eine bakterizide Wirkung.⁽¹⁾ Meropenem weist eine hohe Stabilität gegen renale Dehydropeptidasen, vor allem DHP-1 auf. Dies beruht auf der 1-Beta-Methylgruppe am Beta-Lactam-Ring wodurch die metabolische Inaktivierung im Organismus stark eingeschränkt ist.⁽⁶⁾

Das Wirkspektrum von Meropenem umschließt gram-positive Aerobier, wie *Streptococcus agalactiae*, *S. milleri*, *S. pneumoniae*, oder *S. pyogenes*, weiters gram-negative Aerobier, wie Citrobacter-Arten, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae* und Klebsiella-Arten. Das Spektrum umfasst auch gram-positive Anaerobier, wie *Clostridium perfringens*, *Peptoniphilus asaccharolyticus*, Peptostreptococcus species, als auch gram-negative Anaerobier, wie *Bacteroides caccae*, *Bacteroides fragilis*, *Prevotella bivia*, *Prevotella disiens*.⁽¹⁾⁽⁷⁾

Meropenem weist trotz seiner hohen Stabilität bereits resistente Bakterienstämme auf.⁽⁴⁾ Diese Resistenz kann bedingt sein durch:⁽⁵⁾

- eingeschränkte Durchlässigkeit der Bakterienmembran, z.b. bei Pseudomonas-Stämmen
- reduzierte Affinität der Meropenem-bindenden PBPs, z.b. bei Enterococcus faecium, MRSA-Stämme.
- erhöhte Expression der Efflux-Pumpen Proteine
- Synthese von Beta-Laktamasen, wie z.b. Stenotrophomonas- und Aeromonas-Arten

Resistenz zeigen Bakterienstämme wie *Stenotrophomonas*, *Actinobacter*, *Enterococcus faecium*, *Chlamydien*, *Mykoplasmen*, *Legionellen*, *Clostridium difficile*, *Corynebacterium jeikeium*, MRSA, MRSE, *Burkholderia cepacia*, *Mykobakterien*.⁽³⁾⁽⁸⁾⁽⁷⁾

2.1.3. Pharmakokinetik

Das mittlere Verteilungsvolumen liegt bei etwa 0,25 L/kg. Die mittlere Plasma-Clearance beträgt 287 ml/min bei 250mg, während sie bei einer Dosis von 2 g auf 205 ml/min sinkt.⁽³⁾ Nach intravenöser Gabe über 30 min von 1000 mg liegt die Spitzenkonzentration im Plasma bei etwa 49 mg/L, und der dazu entsprechende AUC-Wert beträgt 62,3. Bei einer Bolus-i.v. Injektion von 1000 mg erreichte $C_{\max}$ einen Wert von 112 $\mu\text{g/ml}$. Die Gabe von wiederholten gleichen Dosen Meropenem im Abstand von 8 Stunden führte zu keiner Akkumulation im Plasma oder Urin.⁽⁹⁾ Meropenem weist, mit nur 2%, eine sehr geringe Plasmaproteinbindung auf, die unabhängig von der Konzentration ist. Allerdings wurde in Studien gezeigt, dass Meropenem sehr gut in die meisten Körperflüssigkeiten und Gewebe, einschließlich des Liquors penetrieren kann.⁽¹⁰⁾

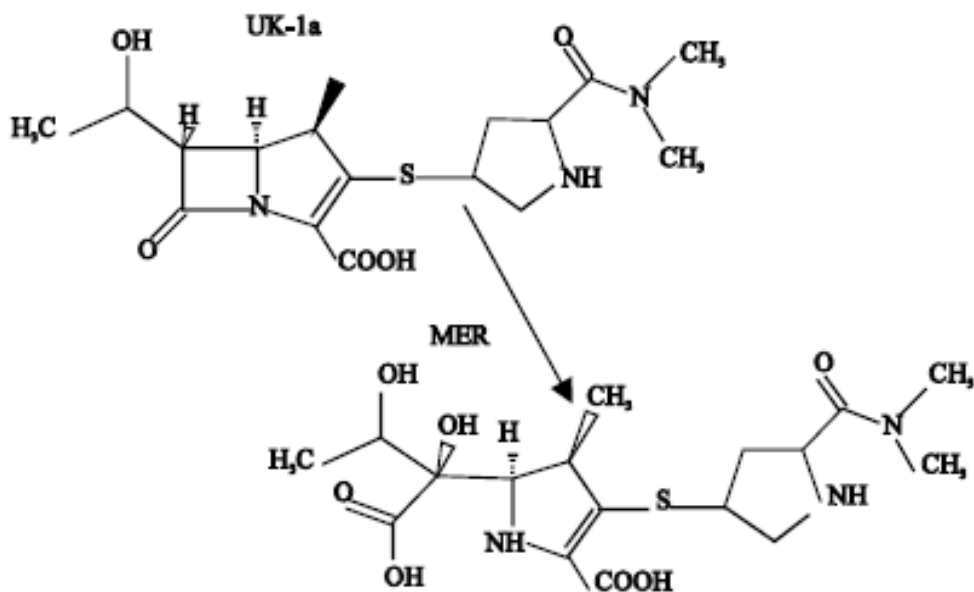


Abb. 2: Inaktiver Metabolit von Meropenem⁽¹¹⁾

Durch Bildung eines inaktiven Metaboliten wird durch Hydrolyse des Beta-Lactam-Rings, Meropenem verstoffwechselt. Durch Öffnung des für die Wirkung verantwortlichen Beta-Laktam Ringes weist dieser Metabolit keine Aktivität auf.

Meropenem wird mit einer Halbwertszeit von 1 Stunde bei Erwachsenen und Kindern über 2 Jahren renal eliminiert. Bei Kindern in einem Alter zwischen 3 Monaten und 2 Jahren beträgt die Halbwertszeit hingegen 1,5 Stunden.⁽⁴⁾ Die Pharmakokinetik von Meropenem läuft bis zu einer Dosis von 1000mg linear.⁽⁹⁾ Die Elimination von Meropenem erfolgt hauptsächlich über die Niere. Dabei wurden nach 12 Stunden etwa 70 % der verabreichten Substanz unverändert im Urin nachgewiesen, während 28 % als antibakteriell inaktiver Metabolit wiedergefunden worden sind. Die restlichen 2% wurden über die Faeces eliminiert.⁽³⁾

2.1.4. Anwendungsgebiete und Dosierung

Bei folgenden Infektionen wird Meropenem zur Behandlung bei Erwachsenen und Kindern über 3 Monaten eingesetzt.

- Bei Pneumonien, Infektionen der Nieren und ableitenden Harnwege, intraabdominelle Infektionen, intra- und postpartale Infektionen und komplizierte Haut- und Weichteilinfektionen werden 500mg bis 1000mg Meropenem alle 8 Stunden gegeben
- Bei broncho-pulmonal Infektionen (bei zytischer Fibrose), oder akut bakterieller Meningitis werden 2000 mg alle 8 Stunden verabreicht.
- Bei Fieberepisoden von neutropenischen Patienten erfolgt eine Dosis von 1000 mg alle 8 Stunden.
- Bei Kindern von 3 Monaten und bis zu einem Körpergewicht von 50kg werden je nach Infektion zwischen 10-40mg/kg Körpergewicht alle 8 Stunden gegeben.

Die Tagesmaximaldosis soll dem Schweregrad, der Art der Infektion, der Keimempfindlichkeit als auch der Nierenfunktion angepasst werden.⁽³⁾ Üblicherweise wird die Gabe als intravenöse Infusion über 15-30 min

verabreicht, während alternativ auch die Möglichkeit besteht eine Bolusinjektion über 5 min zu injizieren.⁽³⁾

Bei Erwachsenen mit eingeschränkter Nierenfunktion sollte die Dosierung, bei einer Kreatinin-Clearance <51 ml/min angepasst werden. Dabei wird die Tagesdosis auf 12 Stunden verlängert (bei Kreatinin-Clearance 26-50 ml/min), während bei einer Clearance unter 26 ml/min eine Halbierung der Dosis und eine Verlängerung von 12 bis 24 Stunden erfolgt. Bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion, und bei älteren Patienten mit einer Kreatinin-Clearance >50 ml/min und normaler Nierenfunktion, ist keine Dosisanpassung erforderlich.⁽⁵⁾ Meropenem wird sowohl durch Hämodialyse als auch durch Hämofiltration aus dem Blutkreislauf eliminiert, wodurch nach Beendigung einer solchen Therapie das Präparat erneut wieder in der erforderliche Dosierung verabreicht werden muss.⁽⁹⁾

2.1.5. Nebenwirkungen

Die Nebenwirkungen sind im Allgemeinen über den Zeitraum der Einnahme, von leichter Art. Schwerwiegende Nebenwirkungen treten sehr selten auf. Die am häufigsten ausgelösten Nebenwirkungen sind lokale Reaktionen an der Injektionsstelle, wie Rötung, Erythembildung, Urtikaria, Thrombophlebitis und Schmerzen.⁽⁹⁾ Übelkeit, Erbrechen, Diarrhoe und abdominale Schmerzen können als gastrointestinale Symptome auftreten. Eosinophilie, Leukopenie und reversible Thrombozytopenie können im Blutbild erkennbar sein.⁽⁸⁾ Die Werte der Serum-Transaminasen der Leber können ansteigen, sowie kann es zu einer Erhöhung des Bilirubins, der alkalischen Phosphatase und der Laktatdehydrogenase kommen. Durch eine Störung des Zentralnervensystems kann es häufig auch zu Kopfschmerzen und gelegentlich zu Parästhesien kommen.⁽¹⁰⁾

2.1.6. Wechselwirkungen und Kontraindikationen

Meropenem wurde gleichzeitig mit vielen verschiedenen anderen Medikamenten verabreicht, ohne dass maßgebliche Wechselwirkungen beobachtet werden konnten. In eine Interaktionsstudie mit Probenecid wurde

Einleitung

gezeigt, dass Probenecid die renale Ausscheidung von Meropenem hemmt, wodurch es zu einem Anstieg der Halbwertszeit und der Plasmakonzentration von Meropenem kommt.⁽⁹⁾ Weiters wurde ein Abfall des Serumspiegels von Valproinsäure um 60 - 100 % bei gleichzeitiger Verabreichung mit Meropenem beobachtet, daher soll von einer gleichzeitigen Einnahmen mit Meropenem abgesehen werden.⁽³⁾ Die Verabreichung von oralen Anticoagulantien, vor allem Warfarin, kann in Kombination mit Meropenem die gerinnungshemmende Wirkung verstärken.⁽³⁾

Über Schwangerschaft und Stillzeit liegen nur begrenzte Daten vor. In Tierstudien an Affen und Ratten wurde gezeigt, dass kein mutagenes oder teratogenes Potential, sowie eine Reproduktionstoxizität vorhanden ist. Allerdings kam es bei Affen ab einer Dosis von 500mg/kg zu einem erhöhten Auftreten von Aborten.⁽⁵⁾

Um dieses Risiko zu vermeiden soll daher in der Schwangerschaft und bei Kindern unter 3 Monaten, sowie beim Vorliegen einer Überempfindlichkeit gegenüber Meropenem sollte auf gar keinen Fall eine Applikation erfolgen. Bei einer bereits bekannten Überempfindlichkeit gegenüber Imipenem, Pencillinen, Cephalosporinen oder ähnlichen Wirkstoffen kann es zum Auftreten einer Parallelallergie kommen, deswegen sollte die Einnahme von Meropenem nur unter bestimmten Vorsichtsmaßnahmen erfolgen.⁽⁸⁾

2.2. Die Leber

2.2.1. Aufbau und Aufgaben der Leber

Die Leber ist mit ca 1,5 kg die größte endokrine Drüse des menschlichen Körpers⁽¹²⁾ und liegt im Bereich des rechten Oberbauches, unter der rechten Zwerchfellkuppel. Sie liegt direkt der vorderen Bauchwand an und zieht sich vom rechten 9. Rippenbogen schräg aufwärts zum linken 7. Rippenbogen. ⁽¹³⁾

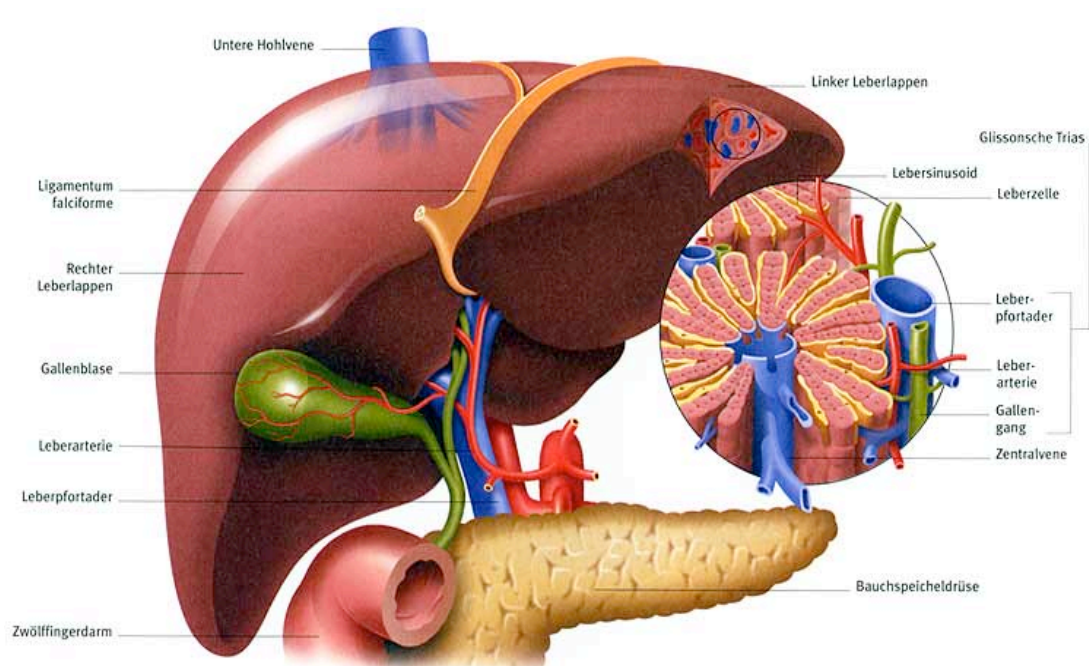


Abb 3: Aufbau der Leber und Leberläppchen⁽¹⁴⁾

Makroskopisch kann man die Leber in vier Lappen unterteilen, die zwei größeren Lappen, Lobus dexter und Lobus sinister und zwei kleineren Lappen, Lobus caudatus und Lobus quadratus.⁽¹³⁾ Morphologisch kann man sagen, dass sich die Leber in ca 50000 - 100000 Leberläppchen unterteilen lässt, welche wiederum aus mehr als drei Millionen Leberzellen (Hepatozyten) aufgebaut sind.⁽¹²⁾

Als zentrales Organ des Intermediärstoffwechsels, ist die Leber der wichtigste Speicher und Syntheseort vieler Verbindungen, und tätigt somit wichtige Funktionen bei Metabolisierung und Ausscheidung körperfremder und auch körpereigener Substanzen.⁽¹³⁾

Zu den wichtigsten Aufgaben zählen:

- Kohlenhydratstoffwechsel (Glycogen, Fructose, Galactose)
- Aminosäuren und Proteinstoffwechsel (Albumin, Harnstoff, Ammoniak)
- Lipidstoffwechsel
- Biotransformation: Entgiftung, Inaktivierung, Umwandlung und Ausscheidung körpereigener und körperfremder Stoffe
- Abwehrfunktion
- Speicherfunktion (Vit B12, Folsäure, Kupfer, Glycogen)
- Synthese von Hormonen und Mediatorsubstanzen
- Regulation des Säure-Base-Haushalts
- Pränatale Hämatopoiese
- Postnataler Erythrozytenabbau
- Regulation der Eisen-Homöostase
- Sekretion von Gallensäure, Gallebildung

2.2.2. Leberinsuffizienz

Unter Leberinsuffizienz versteht man einen lebensbedrohlichen Zustand, der durch eine unzureichende Funktion der Leber charakterisiert ist. Dies betrifft die Syntheseleistung, die biliäre Sekretionsleistung und die Entgiftungsfunktion der Leber in unterschiedlichen Ausmaßen. Die Leberinsuffizienz lässt sich somit laut Child-Pugh-Klassifikation in drei Stadien einteilen:⁽¹⁵⁾

1. **Stadium A:** leichte Leberinsuffizienz, die nur Teilbereich der Funktionen betrifft; charakterisiert durch eine leicht Gelbsucht und/oder Aszites
2. **Stadium B:** mittelschwere Leberinsuffizienz, welche alle Funktionsbereiche betrifft und durch portale Hypertension mit Aszitesbildung symptomatisiert ist.

3. **Endstadium:** schwere Leberinsuffizienz, die die gesamte Leberleistung betrifft.

Resultierend kommt es zur Ausprägung der sogenannten klassischen Symptomen-Trias: Ikterus, gefolgt von Gerinnungsstörung und Bewusstseinsstörung. Folgende klinische Anzeichen können weiters auf ein Leberversagen zurückzuführen sein: ⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾

- Foeter nepaticus: Atem riecht nach roher Leber
- Flaping Tremor: grobschlägiges Händezittern
- Hepatische Enzephalopathie: von Bewusstseinsstörung bis zum Koma
- Arterielle Hypertonie
- Hyperventilation: aufgrund von Ammoniakablagerungen
- Hepatomegalie
- Leber-Haut Zeichen: z.B. Lackzunge, Spider naevi, Blutungen
- Laborwertveränderungen

Kommt es zu einer Schädigung bzw. Absterben der Hepatozyten und zu einer Verminderung der Leberdurchblutung, resultiert daraus ein Leberversagen. Folgende Ursachen können dafür verantwortlich sein: ⁽¹³⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁵⁾

- Virushepatitis: häufigste Ursache
- Hepatotoxine: können irreversibel die Leber schädigen: Arzneistoffe (Paracetamol, Ecstasy), Chemikalien (Tetrachlorkohlenstoff), Toxine (Knollenblätterpilz)
- Leberzirrhose
- Schwangerschaftsfettleber
- Morbus Wilson

Leberinsuffizienz sollte so früh wie möglich behandelt werden. Bei Vergiftungen werden entsprechende Antidots verabreicht, z.B. bei Paracetamolintoxikation die Gabe von Acetylcystein. Es werden weiters Gerinnungsfaktoren, bei Abnahme der Gerinnungsparameter im Blut, als auch Elektrolyte und Glucose, bei hämodynamischen Versagen verabreicht. Da die Leber eine wichtige Funktion im Immunsystem einnimmt, kann es zu

einer immunsuppressiven Lage kommen und daher sollte dem mit der Gabe von Antibiotika bereits prophylaktisch entgegengewirkt werden.⁽¹⁸⁾

In 50% aller Fälle benötigen Patienten mit Leberinsuffizienz eine Lebertransplantation. Um eine zeitliche Überbrückung bis zu einer Transplantatspende herzustellen, gibt es die Möglichkeit maschineller Verfahren für eine extrakorporale Detoxikation.⁽¹⁶⁾

2.3. Extrakorporale Leberersatzverfahren

Aufgrund einer unzureichenden Verfügbarkeit von Spenderorganen, und der hohen Zahl von transplantationsbedürftigen Patienten, nimmt die Wichtigkeit von Leberersatzverfahren immer mehr zu.⁽¹⁹⁾ Grundsätzlich unterscheidet man zwei Prinzipien der extrakorporalen Leberersatzverfahren:

Bioartifizielle Systeme:

Isolierte Hepatozyten übernehmen die Funktion der Leber, solange bis ein Transplantat vorhanden ist, oder es zu einer Erholung der Leber kommt.⁽²⁰⁾

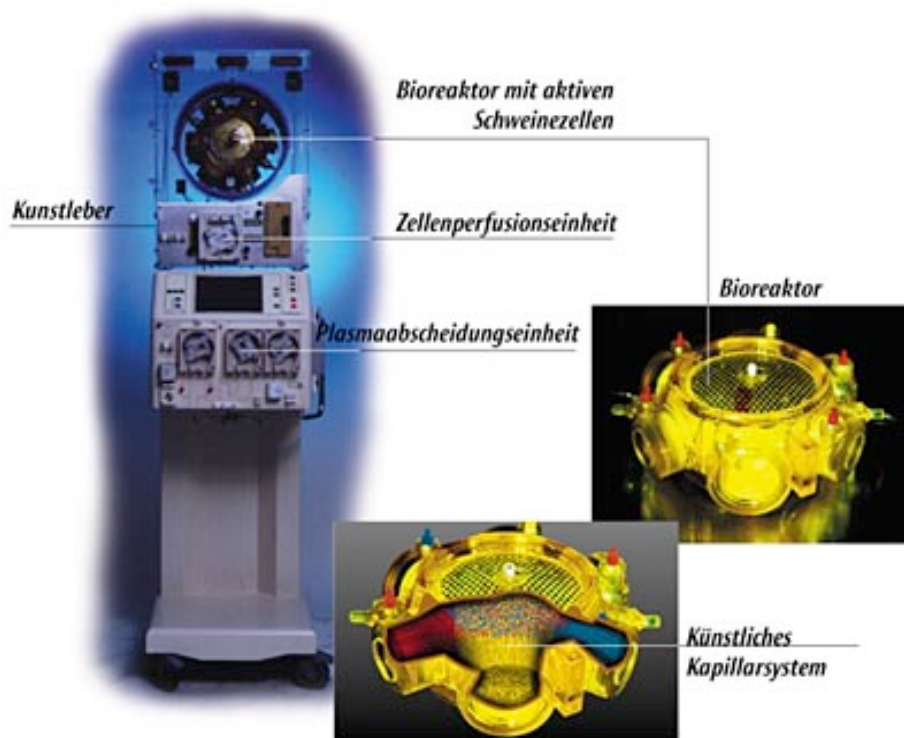


Abb. 4: Aufbau eines bioartifiziellen Systems⁽²¹⁾

Einleitung

Dieses System besteht aus zwei Kreisläufen, einmal dem Plasmapheresesystem, welches zur Abtrennung der Blutzellen dient und somit Blutplasma entsteht. Zweitens aus einem Bioreaktor, welcher aus Kapillarrohrfasermembranen besteht. Diese Membranen werden von Kapillarbündel gebildet und dienen dem Plasma als Durchtritt als auch zur Sauerstoffversorgung der sich im Reaktor befindenden Leberzellen. Somit gewährleistet der Bioreaktor optimale Bedingungen zur Vermehrung von Hepatozyten.⁽²²⁾

Bisher stehen vor allem Leberzellen des Hausschweins zur Verfügung, die allerdings den Nachteil mit sich führen, dass Zoonosen aufgrund von Retroviren in den Hepatocyten bei den Patienten auftreten können. Daraufhin wurden humane Hepatocyten Zelllinien gezüchtet, die allerdings noch nicht vollständig entwickelt sind. Ein weiterer Nachteil bringt die Kultivierung dieser Zellen, wo vor allem die niedrige Lagerungstemperatur von 4°C Komplikationen mit sich führt. Bereits eingefrorene Zellen, die wieder aufgetaut wurden verloren bis zu 40% ihrer Funktion und waren somit unbrauchbar.⁽²³⁾

Rein maschinelle Verfahren:

Auch als Leberdialyse bezeichnet werden. Die Funktion läuft analog zur Hämodialyse, über die Grundlage der Filtration.⁽²⁰⁾

a.) Single Pass Albumin Dialysis (SPAD):

Es zählt zu den modifizierten Dialyseverfahren. Über den Kreislauf einer Hämodifiltration wird der Dialysierflüssigkeit in kleinen Mengen Albumin hinzugesetzt um somit albumingebundene Toxine im Blut zu reduzieren. Nachteile sind vor allem eine mangelnde Wirksamkeit in der Reduzierung albumingebundener Toxine als auch dass die Dialysierflüssigkeit bereits nach einem Kreislauf verworfen wird.

b.) FPSA (=Fractionated Plasma Separation and Adsorption System, Prometheus®)⁽²⁵⁾

Das Prometheus® System arbeitet in zwei separaten Schritten. Zuerst wird körpereigenes Albumin mittels einer speziellen Membran, die rein für Albumin und albumingebundene Stoffe durchlässig ist abgetrennt. Das Blut passiert nun zwei Adsorber, die albumingebundene Toxine zurückhalten.⁽²⁶⁾ Diese Adsorber zeigen eine enorm hohe Affinität zu den albumingebundenen Toxinen und können diese daher aus ihrer Bindung lösen und an sich binden.⁽²⁴⁾ Somit kann das gereinigte Albumin wieder ins Blut zurückgeleitet werden. Zuletzt werden über einen Dialysekreislauf noch wasserlösliche Toxine über eine Membran entfernt.

Sowohl die Membran des Albuminfilters als auch die des Dialysators bestehen aus Polysulfone® Hohlfaser. Vorteil dieser Methode liegt darin, dass die Verwendung einerseits zur Leberunterstützung, als auch zur konventionellen Dialyse eingesetzt werden kann.⁽²⁶⁾ Weiters kann unkonjugiertes Bilirubin, welches fest an Albumin gebunden vorliegt, abgetrennt werden. Unkonjugiertes Bilirubin wird deutlich reduziert. Somit wird Bilirubin effektiv aus dem Blutkreislauf entfernt.⁽²⁴⁾

2.3.1. MARS® – Molecular Adsorbents Recirculating System

Das MARS® wurde 1990 von Dr. Jan Stange und Dr. Steffen Mitzner an der Universität in Rostock entwickelt und bereits 1993 neu auf den medizinischen Markt gebracht und ist seitdem ein weltweit genutztes Leberersatzverfahren.⁽²²⁾⁽²⁷⁾ Grundlage der MARS-Therapie ist eine extrakorporale Entfernung aller albumingebundenen Giftstoffe in Kombination mit einer Elimination toxischer Leberstoffwechselprodukten aus dem Blut, die aufgrund einer Lebererkrankung nicht mehr abgebaut werden können. Dabei steht eine Giftelimination durch das Lebergewebe über Trägermoleküle, wie Albumin, im Vordergrund.⁽²⁰⁾⁽²⁸⁾

Das Verfahren ist eine Kombination aus Nierendialyse und Leberdialyse. Für die Durchführung der Dialyse wird kein biologisches Material verwendet. Es zirkulieren drei Flüssig-Kompartimente durch das

Einleitung

MARS-System: Neben dem Blut des Patienten wird noch eine 20%ige Serum-Albumin-Lösung und eine Bicarbonat-Dialyselösung benötigt. ⁽²⁷⁾⁽²⁹⁾

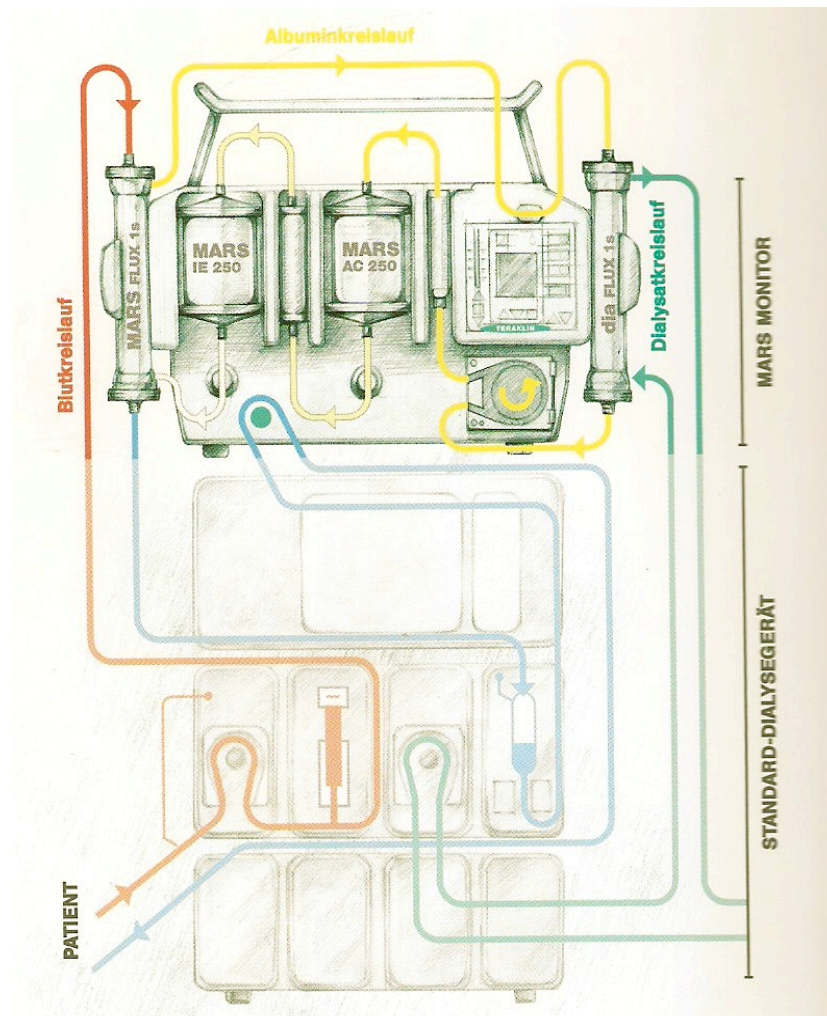


Abb. 5: MARS®-Monitor mit Standard-Dialysegerät⁽³⁰⁾

Das Blut wird über einen Zugang am Unterarm aus dem Körper geleitet. Dieser Gefäßzugang wird auch als Shunt bezeichnet, welcher Arterie und Vene verbindet.⁽³¹⁾ Das Blut wird, unterstützt durch Blutpumpen, vom Shunt über das Dialysegerät gepumpt.⁽³²⁾ Die Durchflussgeschwindigkeit des Blutes liegt bei 150 - 250 ml/min und ist abhängig von der hämodynamischen Situation des jeweiligen Patienten.⁽²⁹⁾ Gleichzeitig pumpt

Einleitung

das Dialysegerät auch Bicarbonat-Dialysat. Sowohl Blut als auch Dialysat gelangen dann zum eigentlichen MARS-System. Das Blut passiert über die Mars-Membran (MARS®-FLUX) und das Dialysat über die Dialysemembran (dia-FLUX) ins System.⁽³³⁾ Im MARS-Kreislauf zirkuliert mit ca. 150 ml/min eine 600 ml 20%ige Albumin-Lösung, angetrieben über eine MARS-Pumpe.⁽²⁹⁾ Das Albumin garantiert eine Aufnahme aller Toxine, nach der Passage des Blutes durch die semipermeable Membran.⁽³⁴⁾ Als Anticoagulans fungiert niedermolekulares Heparin in Kombination mit Citrat.⁽³³⁾

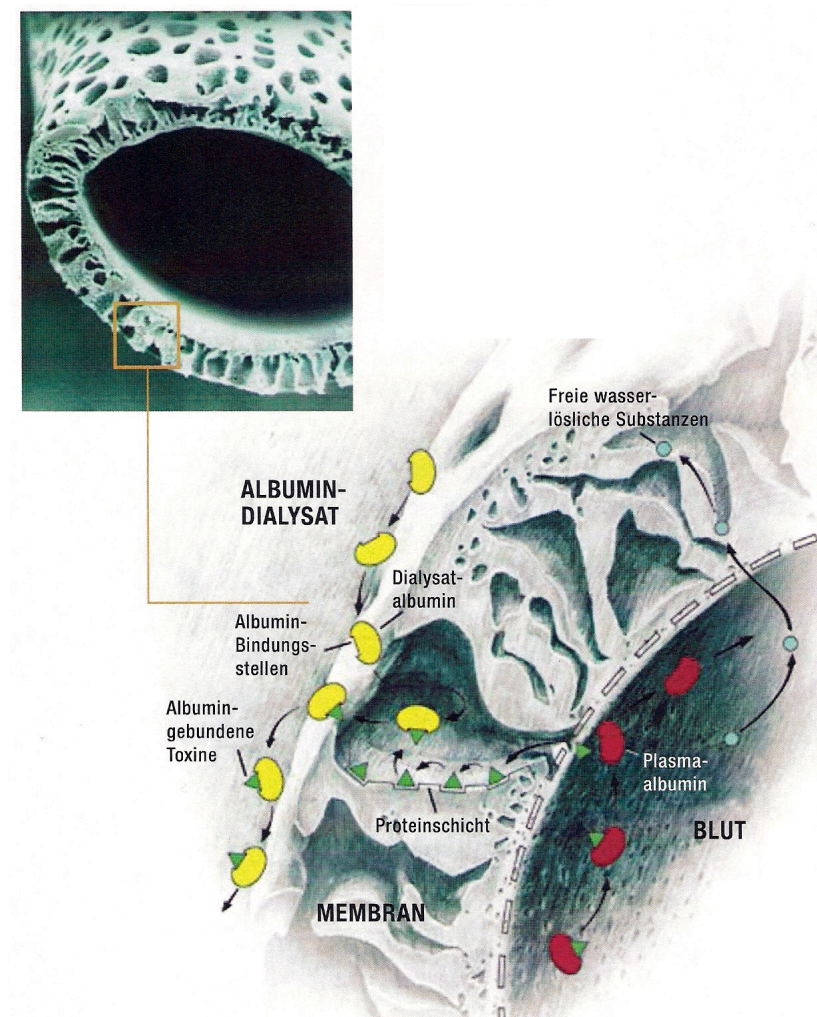


Abb. 6: Ausschnitt aus semipermeabler Membran⁽³⁰⁾

Einleitung

Die semipermeable Membran, lässt nur Substanzen mit einer Molekulargröße kleiner als 30 000 Dalton passieren. Dazu gehören Lactate, Kreatinin, Ammonium und Toxine. Albumin kann mit einer Molekulargröße von ca 67 000 Dalton somit die Membran nicht passieren.⁽³⁵⁾ Im Blut verbleiben alle Substanzen mit größerer Masse wie zum Beispiel Fibrinogen.⁽²⁴⁾ Diese nimmt nun aus dem Blut alle ungebundenen Giftstoffe auf und wird zunächst über den dia-FLUX, unter Regeneration mit dem Bicarbonat-Dialysat, und weiter über einen Aktivkohlefilter (MARS® AC250) und letztlich über einen Ionenaustauscher (MARS® IE250)⁽³³⁾ gepumpt.⁽²⁹⁾ Dabei werden die albumingebundenen Giftstoffe aufgenommen und somit das Albumin regeneriert. Das Albumin rezirkuliert zurück zur Membran, wo es erneut Toxine aus dem Blut aufnehmen kann um diese erneut abzutransportieren.⁽²⁸⁾ Die dabei anfallenden Durchflusszeiten schwanken zwischen 6 und 24 Stunden.⁽²⁹⁾

Tabelle 1: Eliminierte Stoffe im MARS®

Die MARS®-Therapie entfernt somit aus dem Blut:	
• Ammoniak	• Tryptophan
• Gallensäure	• Metalle
• Bilirubin	• Stickstoffmonoxid
• Aromatische Aminosäuren	• Kreatinin
• Mittel- und kurzkettige	• Elektrolyte
• Tryptophan	• Albumingebunden

Während des MARS-Systems kommt es zu einem zu signifikanten Rückgang des Serum-Bilirubins, der Alanin-Aminotransferase (ALT), der gamma-Glutamyltransferase (gamma-GT), des Serum-Kreatinin und des Harnstoffs im Blut. Diese Substanzen würden sonst zu einer weiteren Schädigung der Leber führen, da diese nicht normal eliminiert werden können Aufgrund dieser Reduzierungen über das MARS-System kommt es somit zu einem Schutz und einer Entlastung der Leber.⁽²⁷⁾

Der Vorteil gegenüber dem SPAD liegt einerseits in der höheren Wirksamkeit gegenüber albumingebundener Toxine als auch das MARS-System einen geschlossenen Flüssigkeitskreislauf besitzt. Somit muss keine Dialysierflüssigkeit verworfen werden, da nach jeder Passage über die Adsorber eine fast vollständige Regeneration der Flüssigkeit erfolgt. Der Vorteil gegenüber dem FPAD Verfahren liegt einerseits darin, dass die MARS-Membranaußenseite von einer zirkulierenden Albuminlösung gereinigt wird und andererseits in der Schonung von Blutbestandteilen wie Hormone, Wachstumsfaktoren und eben Albumin.⁽²²⁾ Weiters lässt sich das MARS® aufgrund der zirkulierenden Albuminlösung bis zu 24 Stunden zur Therapie der Leberinsuffizienz einsetzen.⁽³⁶⁾

Tabelle 2: Indikationsgruppen des MARS®

Indikationsgruppen für eine MARS-Therapie:
• Akute Dekompensation einer chronischen Leberinsuffizienz
• Akutes Leberversagen
• Akute Leberdysfunktion
• Transplantatversagen
• Therapiefraktärer Pruritus bei chronischen cholestatischen

3. Experimenteller Teil

3.1. Materialien

3.1.1. Applizierte Arzneiform

Die Patienten erhielten das Präparat Merinfec®, 500mg Pulver zur Herstellung einer Injektions- oder Infusionslösung. Zulassungsinhaber: Excalibur Pharma Limited, London, Vereinigtes Königreich; Vertrieb: Actavis, Salzburg

3.1.2. Verwendete Geräte

- HPLC-Anlage:
 - MERCK-HITACHI, LaChrom L-7250, Autosampler (Darmstadt, Deutschland)
 - MERCK-HITACHI, LaChrom L-7400, UV-Detector (Darmstadt, Deutschland)
 - MERCK-HITACHI, LaChrom L-7100, Pump (Darmstadt, Deutschland)
 - Jetstream 2plus Column Thermostat, Säulenofen (Thermotechnic Products GmbH, Langenzersdorf, Österreich)
- Magnetrührer
 - IKA-Combimag Ret mit Heizung, Janke & Kunkel, IKA Werke (Staufen, Deutschland)
- Mikropipette
 - Eppendorf Research, 100-1000 µl, Eppendorf AG (Hamburg, Deutschland)
- Minishaker
 - Vortex Wizard with infrared Detector, VELP Scientifica (Mailand, Italien)
- pH-Meter:
 - Orion 250A+, Orion Research Inc. (Boston, MA, USA)

- Ultraschallbad
 - Starsonic 60 PMT (Wien, Österreich)
- Vakuumpumpe
 - Diaphragma Vakuumpumpe, Vacuubrand MZ 2C (Wertheim, Deutschland)
- Waage
 - Satorius, Bauart H51-A1, Satorius Instruments (Göttingen, Deutschland)
- Zentrifuge
 - Biofuge 13, Heraeus Instruments GmbH (Osterode, Deutschland)
- Extraction Cartridges
 - Waters Oasis HLB 1cc (30 mg) Extraction Cartridges (Waters Corporation, Milfort, USA)

3.1.3. Verwendete Chemikalien

- Methanol für HPLC-Analyse, LiChrosolv, Merck (Darmstadt, Deutschland)
- Ammonacetat 97+%, A.C.S. Reagent, Sigma-Aldrich Co. Ltd (Dorset, UK)

Alle verwendeten Chemikalien waren von analytischer Reinheit, sind ohne Vorreinigung verwendet worden und eindeutig für die HPLC-Analyse geeignet.

3.2.Methodik

3.2.1. Patienten

Die Proben, die im Rahmen dieser Diplomarbeit untersucht worden sind, stammen aus einer klinischen Studie am Allgemeinen Krankenhaus der Stadt Wien. Es wurde drei bovine Plasmaproben als auch eine humane Plasmaprobe innerhalb von 4 Tagen entnommen und zur weiteren Aufbereitung für die HPLC-Analyse bei -80°C tiefgefroren. Sowohl die bovinen Patienten, als auch der Human-Patient wurden aufgrund einer

Leberinsuffizienz einem Leberersatzverfahren (MARS®) unterzogen. Des Weiteren wurde das Antibiotikum Meropenem (Merinfec®), aufgrund von möglich auftretenden Infektionen parenteral appliziert.

3.2.2. Applikation und Probenentnahme

Die bovinen Patienten und der Humanpatient bekamen vor der Durchführung der Dialyse die Arzneispezialität Merinfec mit dem Wirkstoff Meropenem parenteral appliziert. Nach Applikation von Meropenem und Anschluss an das MARS® Dialysesystems wurden zu sieben verschiedenen Orten in diesem System Blutproben entnommen.

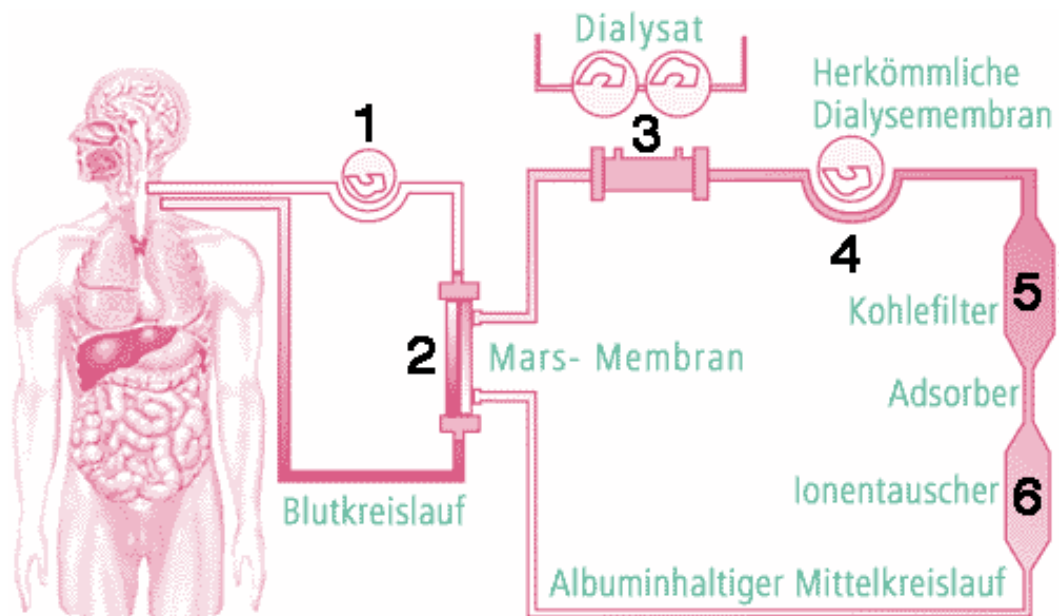


Abb. 7: Probenentnahmeorte im MARS®⁽³⁷⁾

Diese Abnahmeorte weisen gleichzeitig auf die Passage des Blutes im MARS-System hin. Diese wurden folgendermaßen bezeichnet:

- 1: Systemisch: Bezeichnet die Entnahme vor der MARS-Membran
- Nach 2: Nach Maschine: Probenentnahme nach der MARS-Membran
- Zwischen 2 und 3: Vor Dialyse: Entnahme aus dem Albuminkreislauf vor der Dialyse

Experimenteller Teil

- 3: Dialysat
- 4: Nach Dialyse: bezeichnet die Entnahme aus dem Albuminkreislauf nach der Dialyse
- 5: Nach Aktivkohle: Entnahme nach Passage des Aktivkohlefilters
- 6: Nach Anionenaustauscher: Probenentnahme nach dem Anionenaustauschers

Bei der Humanprobe wurde vor der Injektion von Meropenem als „Prä“ und nach der Injizierung als „Bolus“ eine Probe gezogen. Zusätzlich gab es noch Probenentnahmen vor der Dialyse, aus dem Dialysat und nach der Dialyse. Die jeweiligen Proben wurde zu den Zeitpunkten 0 min, 15 min, 30 min, 60 min, 120 min, 240 min, 480 min und nach 24 Stunden entnommen. Alle Plasmaproben wurden direkt aus dem Dialysesystem entnommen und in entsprechende Phiolen injiziert.



Abb. 8: Plasmaphiolen

3.2.3. Probenaufarbeitung

Die Proben wurden für ihre weitere Aufarbeitung aus dem Eis entnommen und bei Raumtemperatur aufgetaut. Anschließend wurden 200 µl der Plasmaproben in 1,5ml Eppendorf-Reaktionsgefäße pipettiert und mit 400 µl 20°C gekühltem reinem Methanol, zur Fällung der Proteine versetzt. Die Mischung wurde dann mithilfe eines Mini-Shakers durchmischt und

schließlich 5 Minuten bei 13000 x g zentrifugiert. 200 µl des Überstandes wurden dann mit 400 µl Ammonacetatpuffer direkt in ein Vial pipettiert.

3.2.4. Herstellung des Ammonacetatpuffers

Zur Herstellung von zwei Liter 10mM Ammonacetatpuffer, wurden 1,55 g Ammonacetat in zwei Liter destilliertem Wasser mittels Magnetrührer gelöst und mit Essigsäure auf einen pH-Wert von 4,00 eingestellt. Anschließend wurde der Puffer am Ultraschallbad für 30 min entgast.

3.2.5. HPLC-System

Zur quantitativen Analyse von Meropenem im Plasma wurde ein isokratisches HPLC-System verwendet. Tabelle 3 zeigt die Parameter des Systems für Meropenem.

Tabelle 3: Parameter des HPLC-Systems

Vorsäule	Hypersil BDS-C18 Precolumn 5µm, 10 x 4.6 mm I.D
Säule	Hypersil BDS-C18 Column, 5µ, 250 x 4.6 mm I.D Thermo Fisher Scientific, Inc (Waltham, MA)
Säulenofen-Temperatur	35°C
UV-Detektor	300 nm
Durchflussgeschwindigkeit	1 ml/min
Eluent A	Ammonacetat 10 mM (83%)
Eluent B	Methanol (17 %)
Injektionsvolumen	80 µl

3.3. Auswertung

3.3.1. Ermittlung der Konzentration von Meropenem

Um die Konzentration von Meropenem im Plasma der Patienten zu bestimmen, wurde unter der Verwendung des Computer-Programms Excel 2008 (Microsoft Excel for Mac, Version 12.0) eine Eichgerade erstellt. Dazu wurde eine Standardreihe (S) mit folgenden Konzentrationen erstellt: 10 µg/ml, 5 µg/ml, 2,5 µg/ml, 1 µg/ml, 500 ng/ml, 250 ng/ml, 100 ng/ml, 50 ng/ml, 25 ng/ml und 10 ng/ml. In Abbildung 9 wird die Wechselbeziehung der ermittelten Peakfläche und der Konzentration des Arzneistoffs zueinander gezeigt. Mittels der erstellten Eichgerade, erfolgte die Quantifizierung aller weiteren Daten, die mittels HPLC-Analyse erstellt worden sind.

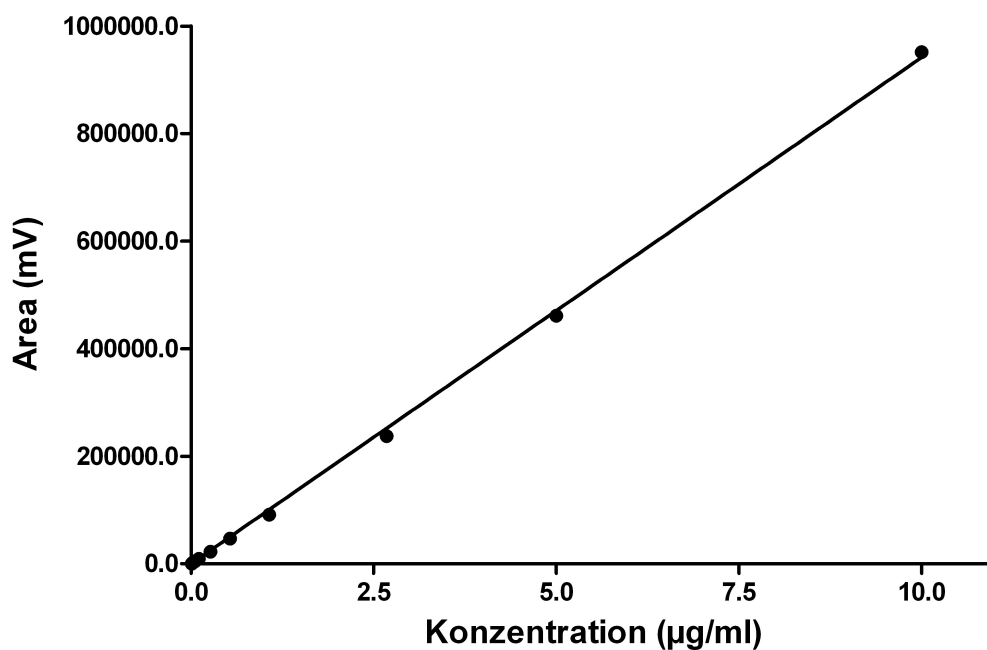


Abb. 9: Eichkurve des Standardlösungs

4. Ergebnisse und Diskussion

Ziel der vorliegenden Diplomarbeit war es, sowohl bei Rindern als auch bei humanen Patienten, die Elimination von Meropenem über das MARS-System zu charakterisieren. Hierzu wurde ein sensitives HPLC-System erstellt, um Meropenem selektiv in biologischer Matrix zu detektieren und zu quantifizieren.

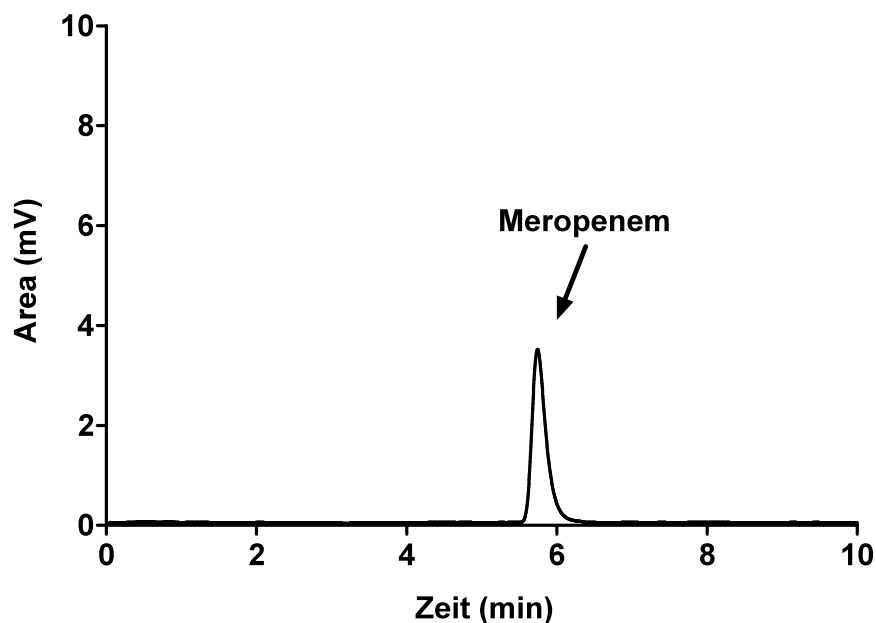
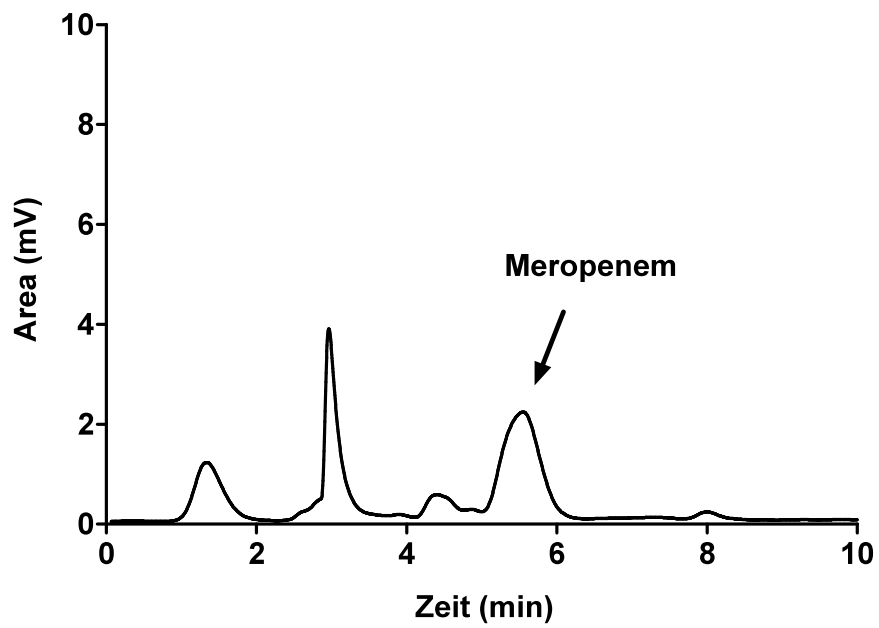
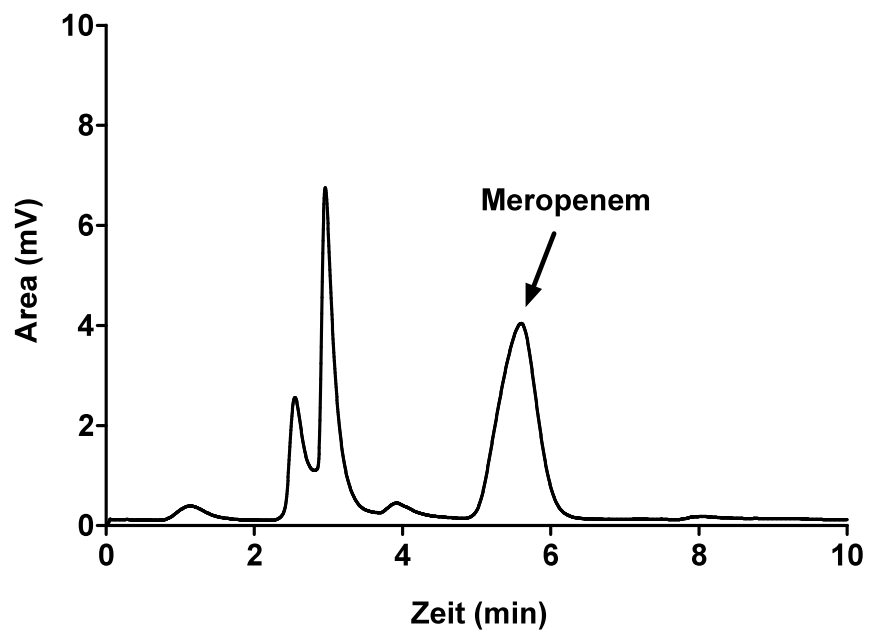


Abb. 10: HPLC-Chromatogramm von Meropenem (100 ng/ml) im Eluentengemisch (83 % Puffer : 17 % Methanol)

Wie in Abbildung 10 ersichtlich konnte Meropenem unter den in Material und Methoden beschriebenen HPLC- Bedingungen bei einer Retentionszeit von 5,8 min gefunden werden. Abbildung 11 und 12 zeigen typische Chromatogramme von bovinen und humanen Plasmaproben. Die Quantifizierung von Meropenem erfolgte extern durch lineare Regression der Peakflächen aus den Plasmaproben mittels Eichkurve (Konzentrationsbereich = 5 ng/ml - 2,5 µg/ml).



**Abb. 11: HPLC-Chromatogramm einer bovinen Plasmaprobe
(Abnahmeort: systemisch) nach 60 min.**



**Abb. 12: HPLC-Chromatogramm einer humanen Plasmaprobe
(Abnahmeort: vor Dialyse) nach 60 min.**

4.1. Filtrationsleistung der einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems anhand boviner Plasmaproben

Nach Applikation von Meropenem wurden Plasmaproben von drei bovinen Patienten aus sieben Teilabschnitten des MARS-System nach Zeitpunkten 0 min, 15 min, 30 min, 60 min, 120 min, 240 min und 480 min entnommen und auf Meropenem-Gehalt mittels HPLC-System analysiert.

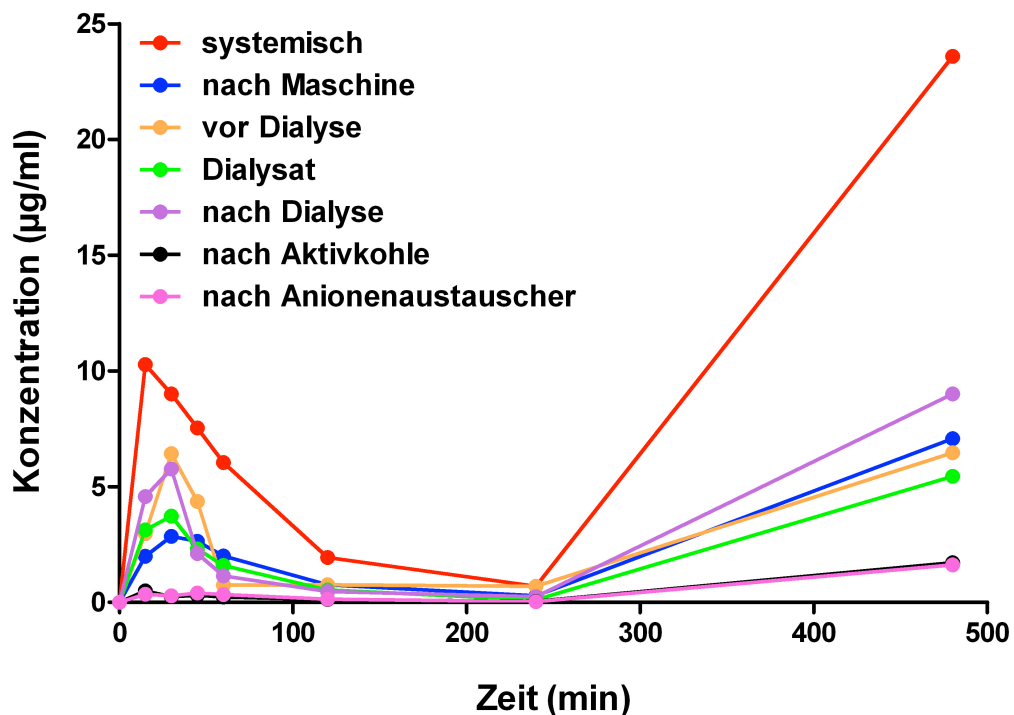


Abb.13: Meropenem-Konzentrationen im Plasma und Ultrafiltrat während des Versuchszeitraums von 480 Minuten im bovinen Patienten 1

Systemisch konnte ein Anstieg der Meropenem Konzentration auf ein Maximum von 10,27 µg/ml 15 min nach Applikation von Meropenem beobachtet werden. Nach 30 min fiel der Meropenem-Blutspiegel kontinuierlich ab bis nach 240 min ein Minimum von 0,70µg/ml erreicht wurde. Interessanterweise jedoch war der Meropenem-Spiegel der nach 480 min gemessen wurde, mit 23,95 µg/ml doppelt so hoch wie der Maximalwert.

Tabelle 4: Konzentration von Meropenem in den einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems bei Patient 1

	<u>Systemisch:</u>	<u>Nach Maschine</u>	<u>vor Dialyse</u>	<u>Dialysat</u>	<u>Nach Dialyse</u>	<u>Nach Aktivkohle</u>	<u>Nach AIA</u>
Zeit	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml
0	0	0	0	0	0	0	0
15	10,27	1,99	6,42	3,73	5,77	0,49	0,35
30	9,01	2,85	4,36	3,13	4,57	0,24	0,28
45	7,54	2,64	2,97	2,31	2,11	0,31	0,40
60	6,04	2,01	0,75	1,59	1,15	0,23	0,34
120	1,94	0,76	0,76	0,53	0,47	0,13	0,14
240	0,70	0,28	0,69	0,11	0,24	0,04	0,03
480	23,59	7,07	6,47	5,44	9,00	1,72	1,62

Nach Maschine steigt die Meropenem Konzentration zunächst langsam auf ein Maximum von 2,85 µg/ml bei 30 min, fällt dann auf ein Minimum von 0,28 µg/ml ab. Erneut kommt es zu einem Anstieg des Meropenem Spiegels bei 480 min auf 7,07 µg/ml an. Die Meropenem Konzentration bei vor Dialyse steigt bei 15 min auf einen Maximalwert 6,42 µg/ml an und fällt dann bei 240 min auf einen Minimalwert von 0,69 µg/ml ab. Es folgt wieder ein steiler Anstieg des Meropenem Spiegels auf 6,47 µg/ml bei 480 min. Im Dialysat konnte ein Anstieg der Meropenem Konzentration auf ein Maximum von 3,73 µg/ml beobachtet werden. Nach 240 min wird ein Minimalwert des Meropenem Spiegels von 0,11 µg/ml erzielt. Die gemessenen Meropenem Konzentration bei 480 min erreichte hingegen 5,44 µg/ml. Nach der Dialyse stieg der Blutspiegel von Meropenem auf eine Konzentration von 5,77 µg/ml bei 15 min an. Es kam dann zu einem Konzentrationsabfall auf ein Minimum von 0,24 µg/ml bei 240 min ab. Erneut erzielte die Meropenem-Konzentration bei 480 min einem Wert von 9,00 µg/ml. Nach dem Aktivkohlefilter wurde ein Blutspiegel von Meropenem von 0,49 µg/ml als Maximum bei 15 min

beobachtet. Die Meropenem Konzentration fällt dann auf ein Minimum von 0,04 µg/ml bei 240 min ab. Schlussendlich steigt die Konzentration nach dem Aktivkohlefilter wieder auf einen Blutspiegel von 1,72 µg/ml bei 480 min an. Die Meropenem Konzentration nach dem Anionenaustauscher zeigt bei 45 min mit 0,40 µg/ml ihren Höchstwert. Bei 240 min erzielte der Meropenem Spiegel mit 0,03 µg/ml sein absolutes Minimum. Zu aller letzt kam es erneut zu einem Anstieg der Meropenem Konzentration auf 1,62 µg/ml bei 480 min.

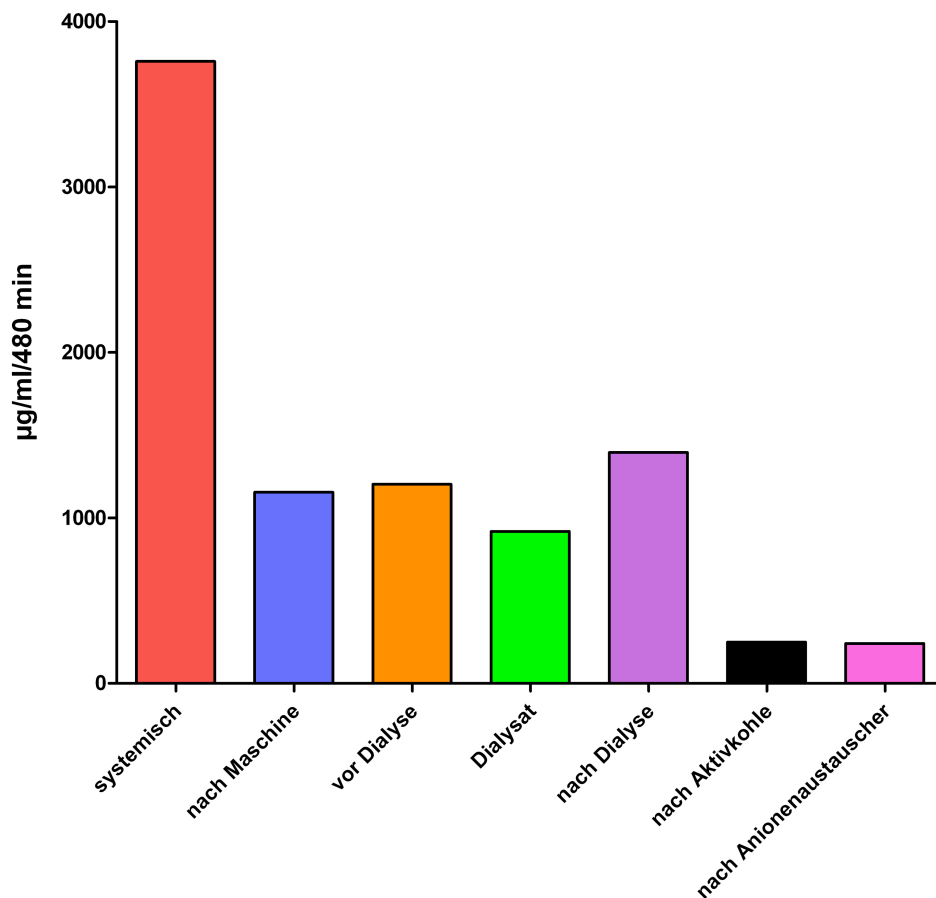


Abb. 14: Kumulative Konzentration von Meropenem in den einzelnen Teilabschnitten des MARS-Systems während 480 min (Patient 1)

Aus Abbildung 14 ist ersichtlich dass die Konzentration von Meropenem ausgehend von der Entnahme „Systemisch“ bis zu „nach Anionenaustauscher“ einen deutlichen Konzentrationsverlust von

Meropenem von 92% während der MARS-Dialyse aufweist. Jedoch sind Schwankungen der Konzentrationen ersichtlich, vor allem bei „nach Dialyse“ erzielt der Meropenem Spiegel noch 40% der Konzentration bei Systemisch. Nach dem Anionenaustauscher fällt der Meropenem Spiegel auf eine Konzentration von 92% im Vergleich zur Ausgangskonzentration „Systemisch“ ab. Bei nach der Maschine ist eine Abnahme von 75% der Startkonzentration zu beobachten.

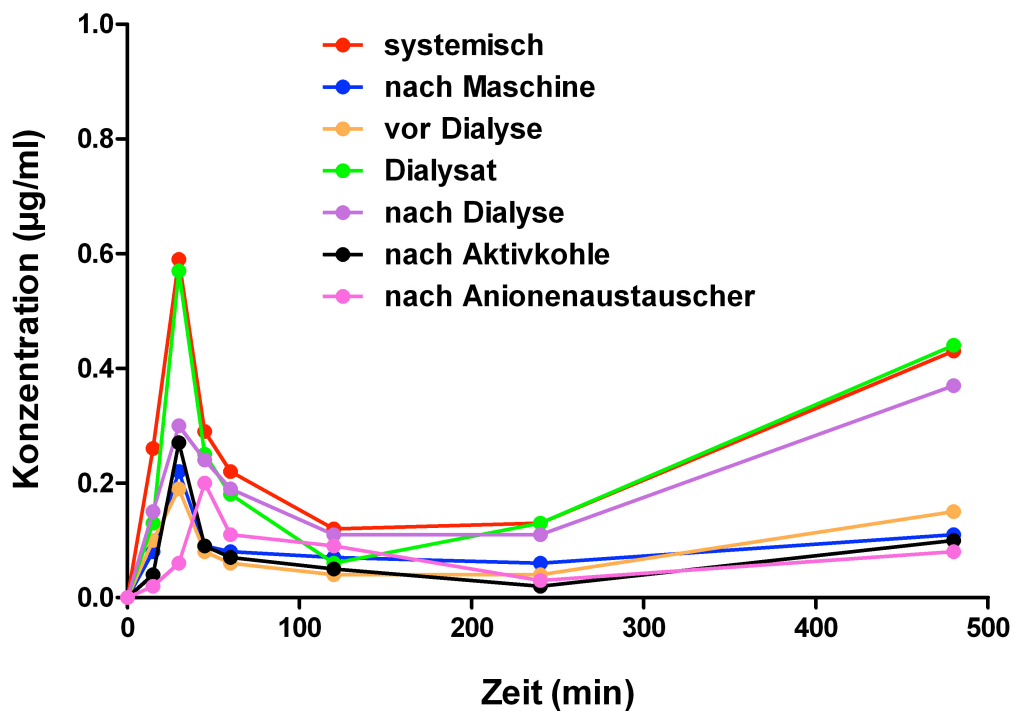


Abb. 15: Meropenem-Konzentrationen im Plasma und Ultrafiltrat während des Versuchszeitraums von 480 Minuten im bovinen Patienten 2

Systemisch konnte ein Anstieg der Meropenem Konzentration auf ein Maximum von 0,59 µg/ml nach 30 min von Meropenem beobachtet werden. Nach 45 min fiel der Meropenem-Blutspiegel kontinuierlich ab bis nach 120 min ein Minimum von 0,12 µg/ml erreicht wurde. Interessanterweise jedoch war der Meropenem-Spiegel der nach 480 min gemessen wurde, mit 0,43 µg/ml halb so hoch ist wie der Maximalwert. Nach Maschine steigt die Meropenem Konzentration zunächst langsam auf ein Maximum von 0,22 µg/ml bei 30 min, fällt dann auf ein Minimum von 0,07 µg/ml ab. Erneut

Ergebnisse und Diskussion

kommt es zu einem Anstieg des Meropenem Spiegels bei 480 min auf 0,11 µg/ml an. Die Meropenem Konzentration bei vor Dialyse steigt zu Beginn bei 30 min auf einen Maximalwert von 0,19 µg/ml an und fällt dann bei 240 min auf einen Minimalwert von 0,04 µg/ml ab. Es folgt wieder ein steiler Anstieg des Meropenem Spiegels auf 0,15 µg/ml bei 480 min. Im Dialysat konnte ein Anstieg der Meropenem Konzentration auf ein Maximum von 0,57 µg/ml bei 30 min beobachtet werden. Nach 120 min wird ein Minimalwert des Meropenem Spiegels von 0,06 µg/ml erzielt. Die gemessenen Meropenem Konzentration bei 480 min erreichte hingegen 0,44 µg/ml. Nach der Dialyse stieg der Blutspiegel von Meropenem auf eine Konzentration von 0,30 µg/ml bei 30 min an. Es kam dann zu einem Konzentrationsabfall auf ein Minimum von 0,11 µg/ml bei 240 min ab. Erneut erzielte die Meropenem Konzentration bei 480 min einen Wert von 0,37 µg/ml.

Tabelle 5: Konzentration von Meropenem in den einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems bei Patient 2

	<u>Systemisch</u>	<u>Nach Maschine</u>	<u>vor Dialyse</u>	<u>Dialysat</u>	<u>Nach Dialyse</u>	<u>Nach Aktivkohle</u>	<u>Nach AIA</u>
Zeit	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml
0	0	0	0	0	0	0	0
15	0,26	0,08	0,10	0,13	0,15	0,04	0,02
30	0,59	0,22	0,19	0,57	0,30	0,27	0,06
45	0,29	0,09	0,08	0,25	0,24	0,09	0,20
60	0,22	0,08	0,06	0,18	0,19	0,07	0,11
120	0,12	0,07	0,04	0,06	0,11	0,05	0,09
240	0,13	0,06	0,04	0,13	0,11	0,02	0,03
480	0,43	0,11	0,15	0,44	0,37	0,10	0,08

Nach dem Aktivkohlefilter wurde ein Blutspiegel von Meropenem von 0,27 µg/ml. als Maximum bei 30 min beobachtet. Die Meropenem Konzentration fällt dann auf ein Minimum von 0,02 µg/ml bei 240 min ab. Schlussendlich

steigt die Konzentration nach dem Aktivkohlefilter wieder auf einen Blutspiegel von 0,10 µg/ml bei 480 min an. Die Meropenem Konzentration nach dem Anionenaustauscher zeigt bei 45 min mit 0,20 ihren Höchstwert. Bei 240 min erzielte der Meropenem Spiegel mit 0,03 µg/ml sein absolutes Minimum. Zu aller letzt kam es erneut zu einem Anstieg der Meropenem Konzentration auf 0,08 µg/ml bei 480 min.

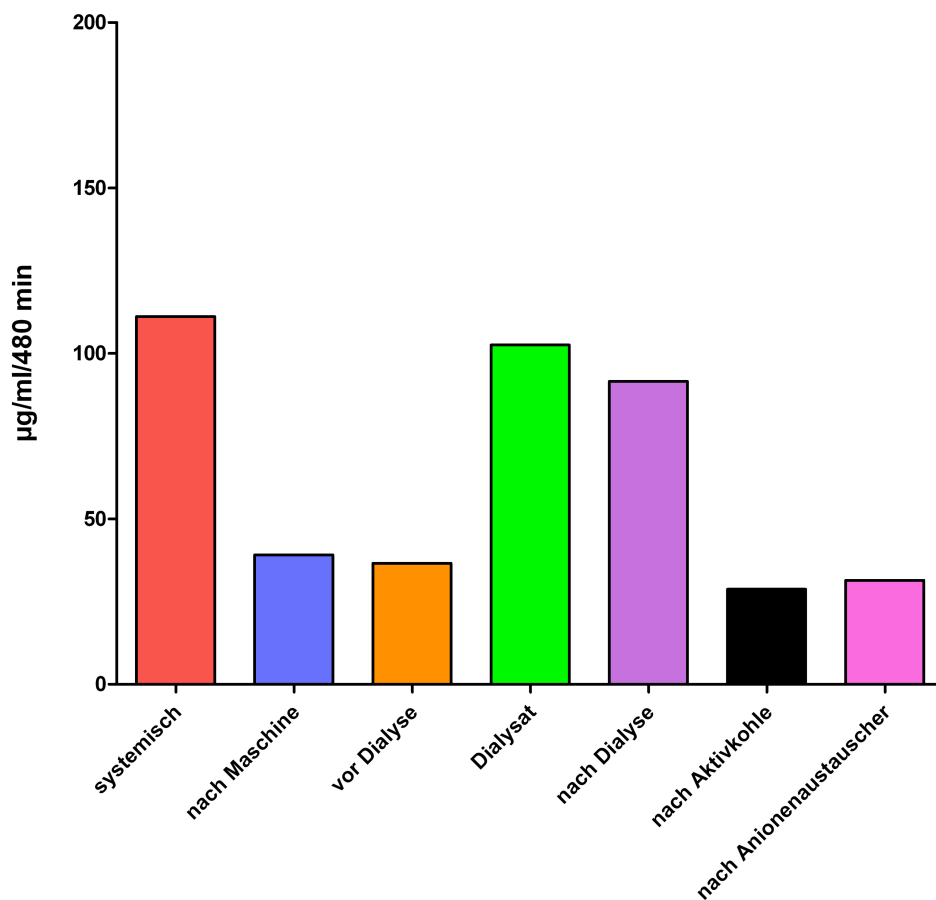


Abb. 16: Kumulative Konzentration von Meropenem in den einzelnen Teilabschnitten des MARS-Systems während 480 min (Patient 2).

Nach der Applikation von Meropenem liegen Systemisch ca 120 µg/ml des Arzneistoffes im MARS-System vor. Nach der Maschine und auch vor der Dialyse zeigen eine Abnahme von mehr als 70% der Meropenem Konzentration. Interessanter Weise erreicht das Dialysat als auch die

Konzentration nach der Dialyse fast einen Wert von 80% wie Systemisch. Nach dem Aktivkohlefilter und nach dem Anionenaustauscher liegen verglichen mit dem Meropenem Spiegel von Systemisch ca. 24% an Meropenem vor.

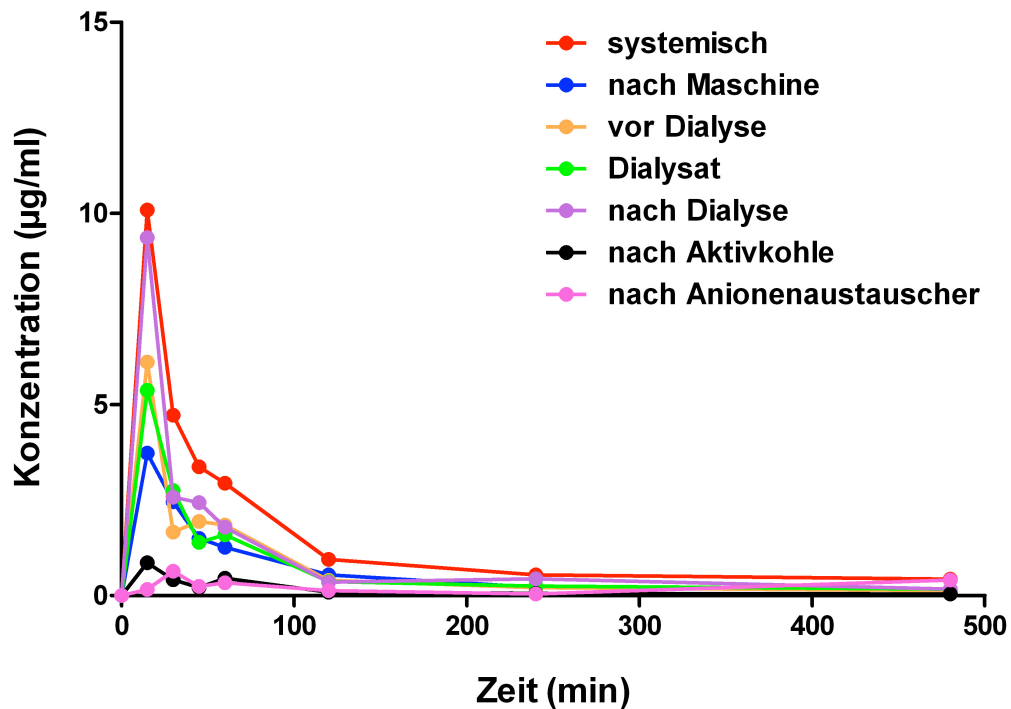


Abb. 17: Meropenem-Konzentrationen im Plasma und Ultrafiltrat während des Versuchzeitraums von 480 Minuten im bovinen Patienten 3

Systemisch konnte ein Anstieg der Meropenem Konzentration auf ein Maximum von 10,09 µg/ml nach 15 min von Meropenem beobachtet werden. Nach 15 min fiel der Meropenem-Blutspiegel kontinuierlich ab bis nach 480 min ein Minimum von 0,43 µg/ml erreicht wurde. Somit fiel der Meropenem Konzentration auf ca 1,5% des Maximalwertes. Nach Maschine steigt die Meropenem Konzentration zunächst auf ein Maximum von 3,73 µg/ml bei 15 min, fällt dann auf ein Minimum von 0,15 µg/ml bei 240 min ab. Ein erneuter Anstieg des Meropenem Spiegels bleibt aus. Die Meropenem Konzentration bei vor Dialyse steigt nach der Applikation von Meropenem auf einen Maximalwert von 6,11 µg/ml an und fällt schlussendlich kontinuierlich dann bei 240 min auf einen Minimalwert von 0,13 µg/ml ab.

Tabelle 6: Konzentration von Meropenem in den einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems bei Patient 3

	<u>Systemisch:</u>	<u>Nach</u> <u>Maschine</u>	<u>vor</u> <u>Dialyse</u>	<u>Dialysat</u>	<u>Nach</u> <u>Dialyse</u>	<u>Nach</u> <u>Aktivkohle</u>	<u>Nach</u> <u>AIA</u>
Zeit	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml
0	0	0	0	0	0	0	0
15	10,09	3,73	6,11	5,37	9,37	0,86	0,16
30	4,72	2,46	1,66	2,75	2,58	0,42	0,64
45	3,37	1,50	1,94	1,39	2,43	0,21	0,24
60	2,94	1,27	1,85	1,59	1,79	0,46	0,34
120	0,95	0,54	0,40	0,37	0,35	0,09	0,13
240	0,54	0,22	0,21	0,25	0,44	0,06	0,04
480	0,43	0,15	0,13	0,17	0,17	0,04	0,41

Im Dialysat konnte ein Anstieg der Meropenem Konzentration auf ein Maximum von 5,37 µg/ml bei 15 min beobachtet werden. Nach 480 min wird ein Minimalwert des Meropenem Spiegels von 0,17 µg/ml erzielt. Nach der Dialyse stieg der Blutspiegel von Meropenem auf eine Konzentration von 9,37 µg/ml an. Es kam dann zu einem kontinuierlichen Konzentrationsabfall auf ein Minimum von 0,17 µg/ml bei 480 min ab. Nach dem Aktivkohlefilter wurde ein Blutspiegel von Meropenem von 0,86 µg/ml als Maximum bei 15 min beobachtet. Die Meropenem Konzentration fällt dann schlussendlich auf ein Minimum von 0,04 µg/ml bei 480min ab. Die Meropenem Konzentration nach dem Anionenaustauscher zeigt bei 30 min mit 0,64 µg/ml ihren Höchstwert. Bei 240 min erzielte der Meropenem Spiegel mit 0,04 µg/ml sein absolutes Minimum. Zu aller letzt kam es dann zu einem Anstieg der Meropenem Konzentration auf 0,41 µg/ml bei 480 min.

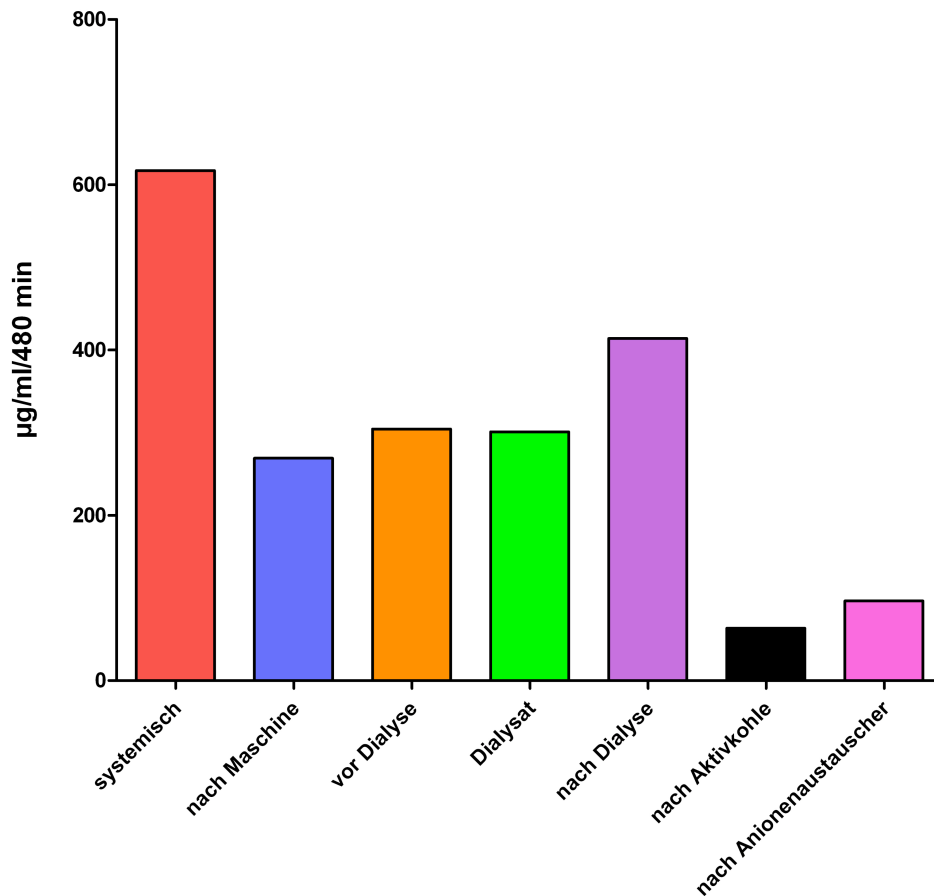


Abb. 18: Kumulative Konzentration von Meropenem in den einzelnen Teilabschnitten des MARS-Systems während 480 min (Patient 3)

Aus Abbildung 18 ist ersichtlich, dass eine Konzentration von Meropenem nach der Applikation im MARS-System von ca 800 µg/ml vorliegt. Nach der Maschine und das Dialysat zeigen eine Konzentrationsabnahme von 63% des Arzneistoffes. Interessanter Weise erreicht die Konzentration vor der Dialyse und nach der Dialyse mehr als 50% wie Systemisch. Nach der Aktivkohle und nach dem Anionenaustauscher liegen im Vergleich mit dem Meropenem-Spiegel von Systemisch nur ca. 6% des Arzneistoffes vor.

4.1.2. Mittelwerte:

Bei den drei bovinen Proben ergab die Analyse einen zunächst steilen Anstieg der Meropenem Konzentration von ca 12,5 µg/ml im MARS-System. Nach weiterem Durchlauf des Systems fällt die Konzentration auf bis zu 6% der Ausgangskonzentration ab. Daraus ist ersichtlich, dass nach Passieren des Aktivkohlefilters nur noch Spuren des Antibiotikums im Blut zu finden sind. Nach dem Anionenaustauscher steigt interessanter Weise jedoch die Arzneistoff Konzentration wieder an, welche auf eine Anreicherung von Meropenem im Anionenaustauscher schließen lässt, und somit ein Teil dieses Rückstandes mit den Blut bei einem erneuten Kreislauf mittransportiert wird. Dies wird begünstigt durch den vorhanden geschlossenen Dialysierflüssigkeitskreislauf im MARS. Es wurde beobachtet, dass die Konzentration von Meropenem nur bei Patient 2 im Dialysat erhöht war. Schlussendlich war sehr deutlich sichtbar, dass die Konzentrationen aller drei Patienten nach passieren des Anionenaustauschers eine deutliche Erhöhung von Meropenem im MARS-System erzielten.

Aus medizinischer Sicht sollte die Konzentration nach dem Anionenaustauscher sich dem Wert 0 annähern, jedoch kann das „Problem“ auftreten, dass sich Antibiotika, die vor einer Dialyse gegeben worden sind, sowohl im Aktivkohlefilter als auch im Anionenaustauscher anreichern können. Bei einer erneuten Dialyse Zirkulation können daher die Antibiotika mit dem „neuen“ Blut mitgeschwemmt werden und daher anschließend in höhere Konzentration als vor dem Aktivkohlefilter vorhanden sein. Abgesehen von diesem mechanischen Problem wird Meropenem kontinuierlich aus dem Blut eliminiert.

Aufgrund dieser Daten ist eine Angleichung der Dosierung von Meropenem nach der Therapie mittels MARS-System notwendig.

Ergebnisse und Diskussion

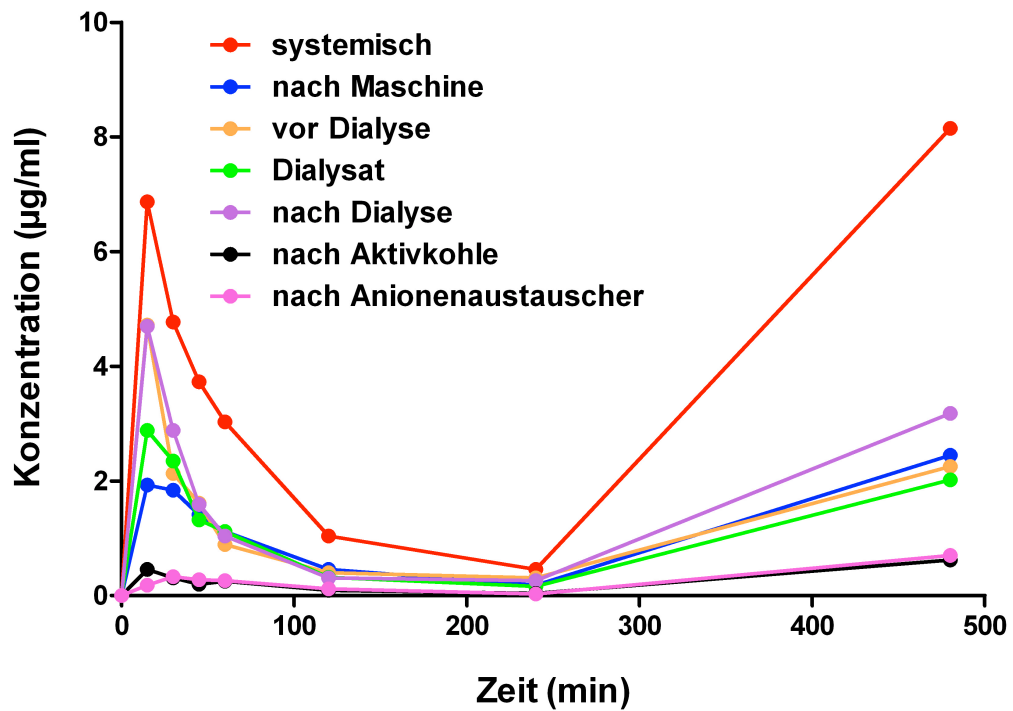


Abb. 19: Mittelwerte der Meropenem-Konzentrationen im Plasma und Ultrafiltrat während des Versuchszeitraums von 480 Minuten

Tabelle 7: Mittelwerte der Konzentrationen von Meropenem in den einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems

	Systemisch:	Nach Maschine	vor Dialyse	Dialysat	Nach Dialyse	Nach Aktivkohle	Nach AIA
Zeit	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml
0	0	0	0	0	0	0	0
15	6,87	1,93	4,72	2,88	4,70	0,46	0,18
30	4,77	1,84	1,61	2,35	2,88	0,31	0,33
45	3,73	1,41	2,13	1,32	1,59	0,20	0,28
60	3,03	1,12	0,89	1,12	1,04	0,25	0,26
120	1,04	0,46	0,40	0,32	0,31	0,09	0,12
240	0,46	0,18	0,31	0,16	0,26	0,04	0,03
480	8,15	2,45	2,25	2,02	3,18	0,62	0,70

Ergebnisse und Diskussion

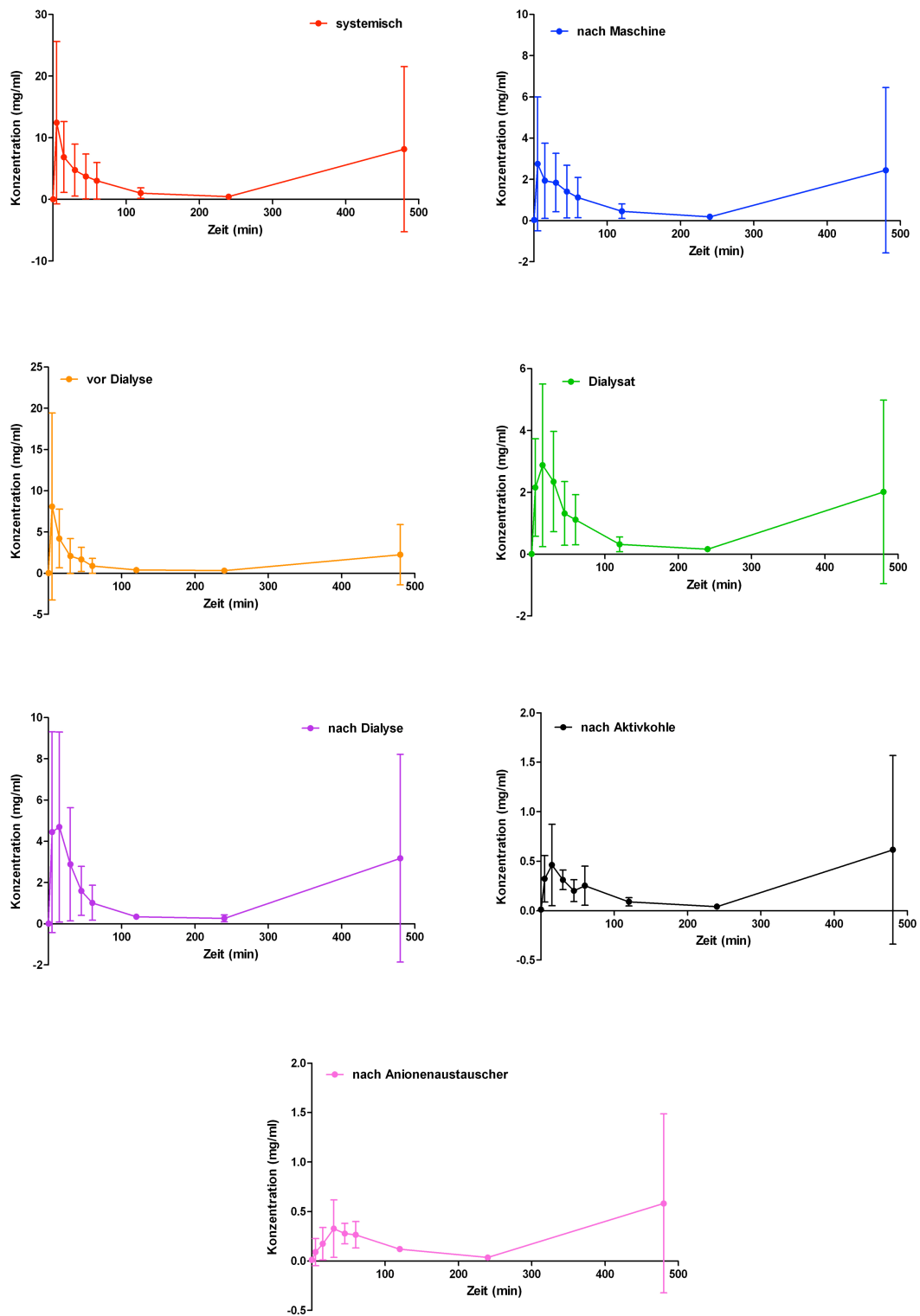


Abb. 20: Mittelwerte der einzelnen Kompartimente im MARS-System

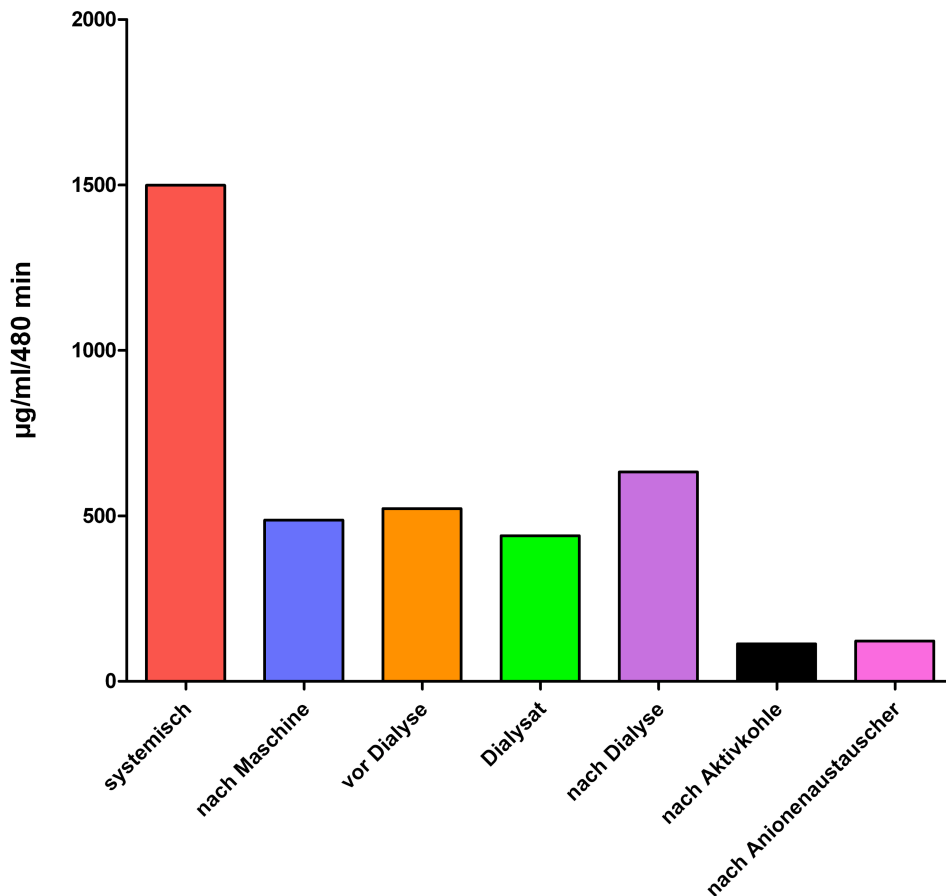


Abb. 21: Mittlere kumulative Konzentration von Meropenem in den einzelnen Teilabschnitten des MARS-Systems während 480 min (n = 3).

Es ist zu beobachten, dass die Meropenem-Spiegel bei Systemisch innerhalb der 3 bovinen Patienten enorme Unterschiede in der Konzentration aufweist. Weiter wird gezeigt, dass alle Patienten nach dem Aktivkohlefilter und schlussendlich nach dem Anionenaustauscher eine kontinuierliche Elimination des Arzneistoffes über das MARS-System aufweisen. Die Abnahme dabei liegt bei ca 94% ausgehend vom Systemischen Meropenem-Blutspiegel.

4.2. Filtrationsrate von Meropenem durch das MARS-Systems im Menschen

Nach Applikation von Meropenem wurden Plasmaproben eines humanen Patienten vor Dialyse, nach der Dialyse und dem Dialysat nach Zeitpunkten 0 min, 15 min, 30 min, 60 min, 120 min, 240 min und 480 min und nach 24 Stunden entnommen und auf ihren Meropenem-Gehalt mittels HPLC-System analysiert.

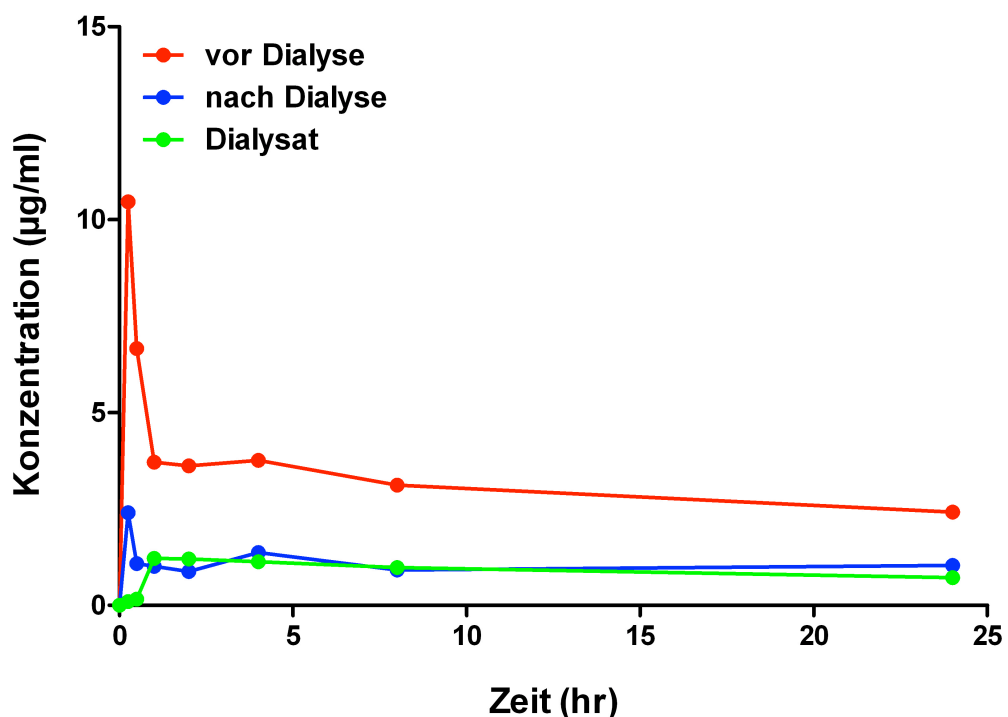


Abb. 22: Meropenem-Konzentrationen im Plasma und Ultrafiltrat während des Versuchszeitraums von 24 Stunden im humanen Patienten

Systemisch ist zu beobachten, dass die Konzentration von Meropenem einen Maximalanstieg von 10,46 µg/ml bei 15 min erzielt. Nach 24 Stunden wird Meropenem bis zu einer Konzentration von 2,42 µg/ml über das MARS-System eliminiert. Nach der Dialyse hingegen erreicht einen Meropenem Spiegel von 2,40 µg/ml bei 15 min. Es folgt ein leichter Abfall der Meropenem Konzentration auf einen Wert von 0,88 µg/ml bei 120 min. Schlussendlich ist ersichtlich, dass Meropenem einen leichten Konzentrationsanstieg auf 1,04

µg/ml nach 24 Stunden erzielt. Der Meropenem Spiegel steigt im Dialysat auf 1,22 µg/ml leicht an, fällt dann aber wieder stetig auf 0,72 µg/ml nach 24 Stunden ab.

Tabelle 8: Konzentration von Meropenem in den einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems im humanen Patienten

	Vor Dialyse	Nach Dialyse	Dialysat
Zeit	µg/ml	µg/ml	µg/ml
0	0	0	0
15	10,46	2,40	0,10
30	6,66	1,08	0,16
60	3,71	1,01	1,22
120	3,62	0,88	1,20
240	3,76	1,37	1,13
480	3,12	0,92	0,98
24 h	2,42	1,04	0,72

Die humane Probe zeigt eine kontinuierliche Elimination des Arzneistoffes Meropenem über das MARS-System. Interessanterweise zeigt die humane Probe im Vergleich zu den bovinen Patienten keinen Anstieg des Meropenem Spiegels nach dem Anionenaustauscher, wodurch keine Anreicherung des Arzneistoffes innerhalb des Filters erfolgte.

5. Zusammenfassung

Infektionen sind die am häufigsten auftretenden Komplikationen bei Patienten mit schwerer Lebererkrankung. Notwendigerweise müssen sich diese bis zum Erhalt einer Lebertransplantation einem extrakorporalen Leberersatzverfahren unterziehen. Dabei wird das sogenannte MARS® durchgeführt, eine Kombination aus Dialyse- und Adsorptionsverfahren welche die Leber vor Schadstoffen bewahrt und eine kontinuierliche Elimination harnpflichtigen Substanzen gewährleistet.

Werden nun Antibiotika vor einem MARS-System aufgrund des Funktionsverlustes der Leber und der daraus resultierenden immunsuppressiven Lage mit Infektionen verabreicht, so können dessen Konzentrationen durch die Passage des Leberersatzverfahrens verändert werden. Hierbei wird vor allem Meropenem eingesetzt. Meropenem, ein Carbapenem Antibiotikum, weist ein breites Wirkspektrum gegen gram-positive und gram-negative Aerobier und Anaerobier auf als auch eine hohe Stabilität. Es eignet sich daher optimal für den Einsatz zur Therapie schweren Infektionen.

Ziel dieser Diplomarbeit war es, die Elimination von Meropenem durch sein pharmakokinetisches Verhalten in einem MARS® zu charakterisieren. Dadurch sollte gezeigt werden ob eine erneute Gabe von Meropenem nach eines MARS-Dialyseverfahrens zu erfolgen hat.

Die Untersuchungen im Rahmen dieser Diplomarbeit haben gezeigt, dass bei bovinen Proben Meropenem nicht vollständig über das MARS-System eliminiert wird, und eine Endkonzentration von mindestens 6% vorhanden ist im Vergleich zur Ausgangskonzentration. Bei einer Humanprobe lag die Endkonzentration hingegen bei 32%.

Aufgrund dieser Daten wird die hohe Filtrationsleistung des MARS-System anhand von Meropenem gezeigt. Dies macht eine Angleichung der Dosierung von Meropenem nach einer Therapie notwendig.

7. Literaturverzeichnis

(1) Aktories, Förstermann, Hofmann, Starke, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 9. Auflage, Verlag: Urban & Fischer, Elsevier GmbH, München, pp 789-790

(2) <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00760>

(3) Austria Codex 2011, Fachinformation, Ecalta®, Online-Version, März 2011, Österreichische Apothekerverlag-GmbH

(4) <http://www.aerztekammer-bw.de/25/10praxis/88arzneimitteltherapie/0808c.pdf>

(5) <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=a27ce7d2-0b75-47e8-9a7e-1e561b603216#nlm34089-3>

(6) <http://www.aerztekammer-bw.de/10aerzte/20fortbildung/20praxis/88arzneimitteltherapie/1009c.pdf>

(7) <http://www.compendium.ch/mpro/mnr/22913/html/de>

(8) W. Stille, A. H. Groll, H.-R. Brodt, *Antibiotika-Therapie: Klinik und Praxis der antiinfektiösen Behandlung*, 11 Auflage, Verlag: Schattauer, pp 107-109

(9) W. Stühlinger, M. Koch, *Vidal-Arzneimittelverzeichnis Österreich*, 1997, ÖÄK, Verlag: OVP-Vidal® Verlag GmbH, Innsbruck, pp 1170

(10) J. C. Frölich, W. Kirch, *Praktische Arzneitherapie*, 3. Auflage, Verlag: Springer, pp 176-177

(11) <http://docsdrive.com/images/academicjournals/jpt/2007/fig1-2k7-295-299.gif>

(12) <http://www.pharmxplorer.at/pharmxp/px/index1.php?>

(13) E. Mutschler, H.-G. Schaible, P. Vaupel, *Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen*, 6. Auflage, Verlag: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, pp 404-413

(14) http://195.186.85.46/media/LTH/KOERPER/img_leber_1xl.jpg

(15) <http://www.medicoconsult.de/wiki/Leberinsuffizienz>

(16) <http://flexikon.doccheck.com/Leberinsuffizienz> (2012).

(17) W. Hartig, H.-K. Biesalski, W. Druml, P. Fürst, A. Weimann, *Ernährungs und Infusionstherapie, Standards für Klinik, Intensivstation und Ambulanz*, 8. Auflage, Verlag: Thieme, pp 553-555

(18) http://einblicke-lmu.de/cj2_05/einzseit2_05/lebkut.pdf

(19) H. Becker, A. Encke, H.-D. Röher, *Viszeralchirurgie*, 2. Auflage, Verlag: Urban & Fischer, Elsevier GmbH, München, pp 30

(20) E. Knipfer, E. Kochs, *Klinikleitfaden Intensivpflege*, 4. Auflage, Verlag: Urban+Fischer, Elsevier GmbH, München, pp 438

(21) http://ec.europa.eu/research/rtdinf23/images/biotech_de.jpg

(22) http://www.inf.fu-berlin.de/lehre/WS05/Kuenstliche_Menschen/Kuenstliche_Leber.pdf

(23) <https://pub.uni-bielefeld.de/luur/download?func=downloadFile&recordId=2305077&fileId=2305080>

(24)

<http://www.dgfk.de/content/kardiotechnikoriginalausgaben/406/kt406christmann.pdf>

(25) S. Mitzer, S. Klammt, J. Stange, R. Schmidt, „*Albumin Regeneration in liver support-Comparison of different Methods*“ International Society of Apheresis (2006) 10(2): 108-117

(26) http://www.fresenius.de/documents/Prometheus_D.pdf

(27) A. Kortgen, F. Rauchfuss, M. Götz, U. Settmacher, M. Bauer, C. Sponholz, *Albumin Dialysis in Liver Failure: Comparison of Molecular Adsorbent Recirculating System and Single Pass Albumin Dialysis-A Retrospective Analysis*, Therapeutic Apheresis and Dialysis (2009) 13 (5):419-425

(28) MARS-Die Lebertherapie der modernen Intensivmedizin, Gambro

(29) S. Mitzner, S. Klammt, J. Stange, R. Schmidt, *Albumin Regeneration in Liver Support-Comparison of Different Methods*, Therapeutic Apheresis and Dialysis (2006) 10(2):108-117

(30) MARS- Die Leberunterstützungstherapie, Gambro, OPS-Katalog 301 Deutschland

(31) <http://www.netdoctor.de/Krankheiten/Nierenschwäche/Therapie/Dialyse-Blutwaesche-Haemodialy-2201.html>

(32) H. W. Hörl, C. Wanner, *Dialyseverfahren in Klinik und Praxis, Technik und Klinik*, 6.Auflage, Verlag: Thieme, Stuttgart, pp 39

(33) D. Gong, D.Jl, B. Ren, J. Tao, B. Xu, C. Ronco, L. Li, *Significant decrease in dialysate albumin concentration during molecular adsorbent recirculating system (M.A.R.S.) therapy*, The International Journal of Artificial Organs (2008) 31(4):333-339

(34) P. Faybik, H. Hetz, G. Mitterer, C. G. Krenn, J. Schiefer, G.-C. Funk, A, Bacher, *Regional citrate anticoagulation in patients with liver failure supported by molecular adsorbent recirculating system*, Crit Care Med (2011) 39(2)

(35) J. Stange, S. R. Mitzer, S. Klamm, J. Freytag, P. Peszynski, *Liver Support by Extracorporeal Blood Purification: A Clinical Observation*, Liver Transplantation (2000) 6(5):603-613

(36) <http://www.mars-dialyse.de/lebertherapien/leberdialyse/mars/prinzip.htm>

(37) <http://archiv.lebertransplantation.eu/bilder/mars/mars2.gif>

8. Abbildungsverzeichnis

Abb 1: Strukturformel von Meropenem.....	3
Abb 2: Inaktiver Metabolit von Meropenem.....	5
Abb. 3: Aufbau der Leber und Leberläppchen.....	9
Abb. 4: Aufbau eines bioartifiziellen Systems.....	12
Abb. 5: MARS-Monitor mit Standard-Dialysegerät.....	15
Abb. 6: Ausschnitt aus semipermeabler Membran.....	16
Abb. 7: Probenentnahmeorte im MARS.....	21
Abb. 8: Plasmaphiolen.....	22
Abb. 9: Eichkurve der Standardlösung.....	24
Abb. 10: HPLC-Chromatogramm von Meropenem (100ng/ml) im Eluentengemisch (83% Puffer : 17% Methanol).....	25
Abb. 11: HPLC-Chromatogramm einer bovinen Plasmaprobe (Abnahmeort: Systemisch) nach 60 Minuten.....	26
Abb. 12: HPLC-Chromatogramm einer humanen Plasmaprobe (Abnahmeort: vor Dialyse) nach 60 Minuten.....	26
Abb. 13: Meropenem-Konzentration im Plasma und Ultrafiltrat während des Versuchszeitraums von 480 Minuten im bovinen Patienten 1.....	27
Abb. 14: Kumulative Konzentration von Meropenem in den einzelnen Teilabschnitten des MARS-Systems während 480 Minuten (Patient 1).....	29
Abb. 15: Meropenem-Konzentration im Plasma und Ultrafiltrat während des Versuchszeitraums von 480 Minuten im bovinen Patienten 2.....	30
Abb. 16: Kumulative Konzentration von Meropenem in den einzelnen Teilabschnitten des MARS-Systems während 480 Minuten (Patient 2).....	32

Abb. 17: Meropenem-Konzentration im Plasma und Ultrafiltrat während des Versuchszeitraums von 480 Minuten im bovinen Patienten 3.....	33
Abb. 18: Kumulative Konzentration von Meropenem in den einzelnen Teilabschnitten des MARS-Systems während 480 Minuten (Patient 3).....	35
Abb. 19: Mittelwerte der Meropenem-Konzentration im Plasma und Ultrafiltrat während des Versuchszeitraums von 480 Minuten im bovinen Patienten 3.....	37
Abb. 20: Mittelwerte der einzelnen Kompartimente im MARS-System.....	38
Abb. 21: Mittlere kumulative Konzentrationen von Meropenem in den einzelnen Teilabschnitten des MARS-Systems während 480 Minuten (n=3).....	39
Abb. 22: Meropenem-Konzentration im Plasma und Ultrafiltrat während des Versuchszeitraums von 24 Stunden im humanen Patienten.....	40

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Eliminierte Stoffe im MARS®.....	17
Tabelle 2: Indikationsgruppen des MARS®.....	18
Tabelle 3: Parameter des HPLC-Systems.....	23
Tabelle 4: Konzentration von Meropenem in den einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems bei Patient 1.....	28
Tabelle 5: Konzentration von Meropenem in den einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems bei Patient 2.....	31
Tabelle 6: Konzentration von Meropenem in den einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems bei Patient 3.....	34
Tabelle 7: Mittelwerte der Konzentration von Meropenem in den einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems.....	37
Tabelle 8: Konzentration von Meropenem in den einzelnen Kompartimenten des MARS-Systems im humanen Patienten.....	41

10. Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name	Sophie Brezowar
Staatsangehörigkeit	Österreich
Geburtsdatum, -ort	09.08.1987
Familienstand	Ledig

Schulbildung

1993-1997	Albertus-Magnus Schule, Wien
1997-2005	Goethe-Gymnasium Astgasse, Wien

Studium

2005 bis 2012	Studium der Pharmazie an der Universität Wien
---------------	--

Berufliche Tätigkeit

05/2007 bis heute	Angestellte, Apotheke zum Papst, Wien
10/2011 bis 02/2012	Tutorin, FH Campus Wien

Fähigkeiten und Kenntnisse

Sprachkenntnisse	Deutsch Englisch Französisch
Sonstiges	Führerschein B