

Aus der Klinik für Nephrologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. L. C. Rump

Der Vergleich von Immunadsorption und Plasmaseparation
bezogen auf die Immunglobulinreduktion

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Andrea Angela Burgers

2018

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Lars Christian Rump

Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Bernhard Homey

Meinen Großeltern in Dankbarkeit gewidmet

Zusammenfassung

Die Behandlung von immunologisch vermittelten Erkrankungen stellt nach wie vor in der Medizin eine Herausforderung dar. Insbesondere bei foudroyanten Verläufen oder bei therapierefraktären Erkrankungen können extrakorporale Aphereseverfahren wie Immunadsorption und Plasmaseparation zum Einsatz kommen. Hierbei werden Antikörper und andere pathogene Substanzen über einen extrakorporalen Kreislauf aus dem Blut des Patienten entfernt. Es stehen eine Reihe an Aphereseverfahren zur Verfügung, die sich hinsichtlich ihrer Spezifität, Effektivität und Kapazität unterscheiden.

Bislang gibt es nur wenige Studien, die die verschiedenen Aphereseverfahren anhand der Effektivität der Immunglobulinreduktion vergleichen. Der Aspekt der Immunglobulinreduktion, abhängig vom behandelten Plasmavolumen, wurde dabei nicht ausreichend untersucht.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Reduktion der Immunglobuline IgG, IgM und IgA, abhängig von der Aphereseart sowie abhängig vom behandelten Plasmavolumen, zu vergleichen.

Es erfolgte eine retrospektive Auswertung der Daten von 45 Patienten, die zwischen 2008 und 2010 an der nephrologischen Klinik der Uniklinik Düsseldorf mittels Immunadsorption oder Plasmaseparation behandelt wurden. Gegenübergestellt wurden Daten der regenerierbaren Protein-A-Immunadsorption, der nicht regenerierbaren Tryptophan-Immunadsorption und der Plasmaseparation. Untersuchungsgegenstand war die Immunglobulinreduktion im Blut der Patienten nach einer Behandlungseinheit bei allen drei Aphereseverfahren sowie nach 2 Litern behandeltem Plasmavolumen bei den beiden Immunadsorptionsverfahren.

Im Vergleich zu den anderen beiden Verfahren zeigte die regenerierbare Immunadsorption nach einer Behandlungseinheit signifikant die höchste Reduktion des Immunglobulins G. Nach 2 Litern behandeltem Plasmavolumen wies die nicht regenerierbare Immunadsorption eine signifikant höhere IgG-Reduktion als die regenerierbare Immunadsorption auf. Die nicht regenerierbare Immunadsorption konnte die signifikant höchste IgM-Reduktion nach Ende einer Behandlungseinheit erzielen. Dies zeigte sich auch nach 2 Litern behandeltem Plasmavolumen im Vergleich zur regenerierbaren Immunadsorption.

Das Immunglobulin A wurde nach einer Behandlungseinheit am effektivsten von der Plasmaseparation entfernt. Nach 2 Litern zeigte die nicht regenerierbare Tryptophansäule eine höhere Reduktion als die regenerierbare Protein-A-Säule.

In der Studie konnte gezeigt werden, dass die Effektivität der Reduktion der Immunglobuline zum einen vom angewandten Aphereseverfahren, zum anderen vom insgesamt aufgearbeiteten Plasmavolumen und somit von der Kapazität der Behandlungsverfahren, abhängt. Dadurch könnte die Auswahl der Aphereseart bei immunologisch vermittelten Erkrankungen anhand des maßgeblich für die Erkrankung verantwortlichen Immunglobulins erfolgen.

Obwohl die Immunglobulinreduktion nach Ende einer Behandlungseinheit zunächst der medizinisch relevante Wert ist, ist der Wert nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen insofern interessant, als dass er Aufschluss darüber ermöglicht, inwieweit die Leistungsfähigkeit der nicht regenerierbaren Immunadsorptionssäule von ihrer beschränkten Kapazität abhängt. Bei einer möglichen Weiterentwicklung des Immunadsorptionsverfahrens mittels Tryptophan mit höherer Plasmakapazität könnte dies von Bedeutung sein.

Abstract

The treatment of immunologically mediated diseases still presents a challenge in today's medicine. Especially in foudroyant courses or in treatment-refractory diseases, extracorporeal apheresis methods such as immunoadsorption and plasma exchange can be used. Antibodies and other pathogenic substances are removed from the patient's blood via an extracorporeal circuit. A variety of apheresis procedures are available that differ in their specificity, effectiveness and capacity. So far there have been few studies comparing the various apheresis methods based on the effectiveness of immunoglobulin reduction. Specifically the aspect of immunoglobulin reduction, depending on the treated plasma volume, was not sufficiently investigated.

The objective of this study was to compare the reduction of the immunoglobulins IgG, IgM and IgA, depending on the type of apheresis and on the treated plasma volume.

The data of 45 patients, which were treated at the nephrological clinic of the University Hospital Düsseldorf between 2008 and 2010 by means of immunoadsorption or plasma exchange, were analysed retrospectively. Data on regenerable protein A immunoadsorption, non-regenerable tryptophan immunoadsorption and plasma exchange were compared. The immunoglobulin reduction in the blood of the patients after a treatment unit in all three apheresis procedures and after 2 liters of treated plasma volume in the two immunoadsorption methods were investigated.

Compared to the other two methods, the regenerable immunoadsorption showed a significantly higher reduction of the immunoglobulin G after a treatment unit. After 2 liters of treated plasma volume, the non-regenerable immunoadsorption showed a higher IgG reduction than the regenerable immunoadsorption. The non-regenerable immunoadsorption was able to achieve the highest IgM reduction at the end of a treatment unit. This was also shown after 2 liters of treated plasma volume compared to regenerable immunoadsorption. The immunoglobulin A was most effectively removed from the plasma after a treatment unit by plasma exchange. After 2 liters, the non-regenerable tryptophan column showed a higher reduction than the regenerable protein A column.

The study was able to show, that the effectiveness of the reduction of immunoglobulins depends on the applied apheresis method on the one hand and on the overall processed plasma volume and thus on the capacity of the treatment procedures on the other hand. As a result, the choice of the apheresis type for immunologically mediated diseases could be based on the immunoglobulin which is mainly responsible for the disease. Although the immunoglobulin reduction at the end of a treatment unit is initially the medically relevant value, the data after two liters of treated plasma volume allow further conclusions about how the performance limitations of the non-regenerable immunoadsorption column depend on its lower capacity. This might be important in a possible further development of the immunoadsorption method using tryptophan with higher plasma capacity.

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angio-converting-enzyme
AT3	Antithrombin III
ACT	Activated Coagulation Time Test
Ca ²⁺	Calcium-Ionen
CDIP	Chronisch entzündliche demyelinisierende Polyneuropathie
EHEC	Enterohämorrhagische Escherichia coli
EKG	Elektrokardiogramm
FFP	Fresh Frozen Plasma
GB	Guillain Barré-Syndrom
HELLP	Haemolysis, elevated Liver enzyme levels, low platelet count
HIV	Human immunodeficiency virus
HUS	Hämolytisch urämisches Syndrom
IA	Immunadsorption
IE	Internationale Einheiten
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
l	Liter
ml	Milliliter
mmol/l	Millimol pro Liter
MS	Multiple Sklerose
n. reg. IA	Nicht regenerierbare Immunadsorption
PS	Plasmaseparation
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
QT-Zeit	Strecke zwischen Q-Zacke und T-Welle im Elektrokardiogramm
reg. IA	Regenerierbare Immunadsorption
TTP	Thrombotisch thrombozytopenische Purpura
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	
1.1	Hintergrund	1
1.2	Extrakorporale Aphereseverfahren	1
1.2.1	Plasmaaustausch	1
1.2.2	Immunadsorption	2
1.3	Indikationen	7
1.3.1	Hämatologische Erkrankungen	8
1.3.2	Neurologische Erkrankungen	11
1.4	Antikoagulation	14
1.4.1	Heparin	14
1.4.2	Zitrat	14
1.5	Verträglichkeit der Aphereseverfahren	16
1.5.1	Verträglichkeit des Plasmaaustauschs	17
1.5.2	Verträglichkeit der Immunadsorption	17
1.6	Fragestellung und Zielsetzung	18
2	Patienten und Methoden	
2.1	Patienten	19
2.2	Methoden	20
2.2.1	Vorbereitung und Blutabnahme	21
2.2.2	Behandlungsvolumina	22
2.2.3	Antikoagulation	22
2.2.4	Überwachung und Blutkontrollen	23
2.3	Dokumentation	23
2.4	Statistische Auswertung	24
2.5	Ethik	25
3	Ergebnisse	
3.1	Effektivitätsvergleich der Immunglobulinreduktion: IgG	26
3.1.1	IgG-Reduktion nach vollständiger Behandlung	26
3.1.2	Verlauf der IgG-Reduktion während einer Behandlungseinheit	28

3.1.3 IgG-Reduktion nach 2 Litern behandeltem Plasma	30
3.2 Effektivitätsvergleich der Immunglobulinreduktion: IgM	32
3.2.1 IgM-Reduktion nach vollständiger Behandlung	32
3.2.2 IgM-Reduktion nach 2 Litern behandeltem Plasma	33
3.3 Effektivitätsvergleich der Immunglobulinreduktion: IgA	34
3.3.1 IgA-Reduktion nach vollständiger Behandlung	34
3.3.2 IgA-Reduktion nach 2 Litern behandeltem Plasma	35
3.4 Fallbeispiele	36
3.4.1 Plasmaseparation, regenerierbare Immunadsorption und nicht regenerierbare Immunadsorption im intraindividuellen Vergleich	36
3.4.2 Regenerierbare Immunadsorption und Plasmaseparation im intraindividuellen Vergleich	37
3.4.3 Regenerierbare und nicht regenerierbare Immunadsorption im intraindividuellen Vergleich	37
3.4.4 Nebenwirkung: Der Verlust von Fibrinogen durch Tryptophan	38
4 Diskussion	
4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse und Vergleich mit der Literatur	40
4.2 Grenzen der Studie	44
4.3 Schlussfolgerung	45
5 Literatur- und Quellenverzeichnis	47

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Mit dem Begriff Apherese werden alle extrakorporalen Verfahren zusammengefasst, mit deren Hilfe Antikörper und pathologische Substanzen aus dem Blut eines Patienten entfernt werden können [1]. Dies ist vor allem bei Erkrankungen von Bedeutung, in deren Pathogenese Autoantikörper eine entscheidende Rolle spielen, wie z.B. Autoimmunerkrankungen, Stoffwechselerkrankungen oder Abstoßungsreaktionen [2]. Seit den 70er Jahren wird bei besonders foudroyanten Verläufen oder bei therapierefraktären Erkrankungen der Plasmaaustausch zur extrakorporalen Entfernung von Immunglobulinen eingesetzt [3]. In den letzten 20 Jahren wurde kontinuierlich nach Möglichkeiten gesucht, selektivere Verfahren zur Entfernung von pathogenen Substanzen aus dem Blut einzusetzen. Hierdurch wurden die Behandlung größerer Plasmavolumina, sowie eine Apheresetherapie ohne eine erforderliche Substitution von Plasma oder Plasmaersatzlösungen möglich.

1.2 Extrakorporale Aphereseverfahren – Plasmaaustausch und Immunadsorption

1.2.1 Plasmaaustausch

Beim Plasmaaustausch, auch Plasmaseparation oder Plasmapherese genannt, handelt es sich um ein Therapieverfahren, bei dem zunächst das Plasma aus dem Vollblut des Patienten abgetrennt, anschließend verworfen und durch eine geeignete Substitutionslösung ersetzt wird.

Das Auftrennen in Serum und Plasma geschieht durch Zentrifugierung oder Membranfiltration des Vollbluts mittels eines Plasmaphereseegerätes. Bei der Membranfiltration wird das Blut über einen Kapillarfilter gepumpt und somit ein transmembranöser Druck aufgebaut. Das Plasma wird somit durch Poren in der Membran gefördert und von den korpuskulären Blutbestandteilen abgetrennt.

Zur Separation des Plasmas wird das Blut über einen großlumigen, zentralvenösen Zugang mit Hilfe einer Pumpe über ein Schlauchsystem in das Plasmapheresegerät geleitet.

Die korpuskulären Bestandteile werden in die Zirkulation des Patienten zurückgeführt, während das Plasma mit den enthaltenen pathogenen Antikörpern verworfen wird. Ein Schema der Plasmapherese zeigt Abbildung 1. Mit dem Plasma werden neben den pathogenen Substanzen auch lebensnotwendige Proteine, wie z.B. Albumin oder Faktoren des Gerinnungssystems, entfernt. Aus diesem Grund muss das verworfene Plasma durch eine geeignete Substitutionslösung ersetzt werden [4]. Diese Lösung sollte isovolämisch und isoosmotisch sein und den kolloidosmotischen Druck aufrechterhalten können. Die am häufigsten hierfür verwendeten Plasmaersatzlösungen sind fünfprozentige Humanalbuminlösung und Fresh Frozen Plasma. Mithilfe des Plasmaaustausches kann das einfache Plasmavolumen eines Patienten behandelt werden [5].

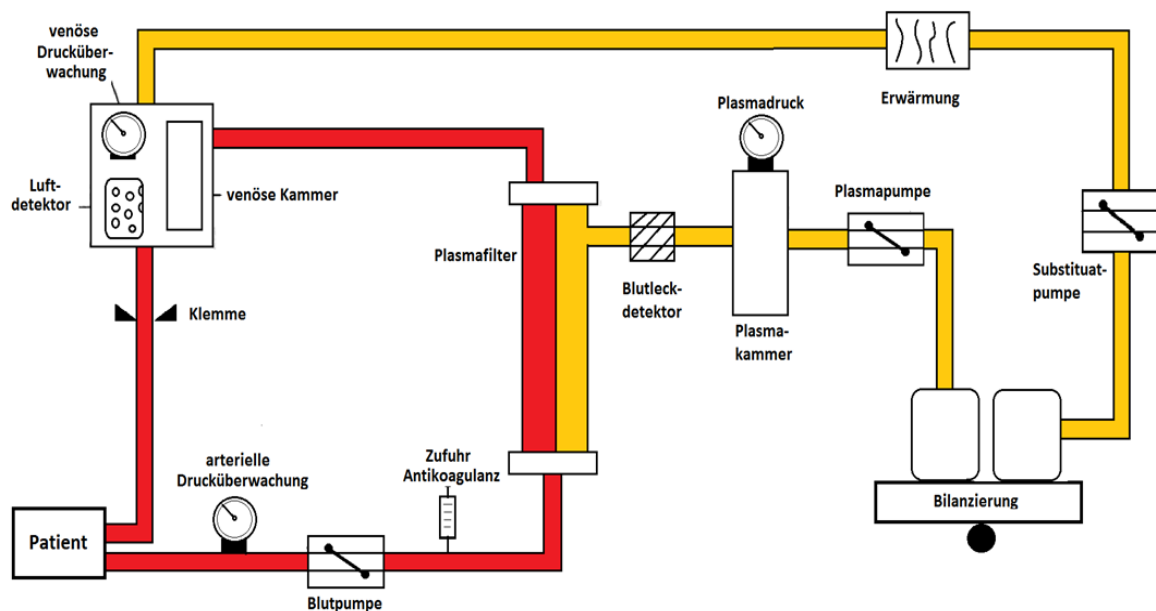


Abb. 1: Schematische Darstellung der Plasmapherese. Über einen extrakorporalen Kreislauf gelangt das Blut des Patienten in den Plasmafilter, wo Plasma (hier gelb dargestellt) von den korpuskulären Blutbestandteilen (hier rot dargestellt) abgetrennt wird. Während das Plasma verworfen wird, gelangen die korpuskulären Blutbestandteile, angereichert mit einer geeigneten Substitutionslösung, zurück zum Patienten. Modifiziert aus [6]

1.2.2 Immunadsorption

Die Immunadsorption bietet die Möglichkeit, pathogene Substanzen spezifisch aus dem Blut zu entfernen, ohne dass eine Substitution von verlorenem Plasma durch z.B. Humanalbumin oder Fresh Frozen Plasma notwendig ist [7]. Auch bei diesem Verfahren wird zunächst einmal das Blut des Patienten mittels eines großlumigen, zentralvenösen Zugangs über ein

Schlauchsystem in ein Plasmapheresegerät gepumpt und dort durch Zentrifugation oder Filtration in Serum und Plasma aufgetrennt. Das separierte Plasma wird nun, anders als beim Plasmaaustausch, nicht verworfen, sondern mit einer Flussgeschwindigkeit von ca. 25 bis 50 ml/min. über eine Apheresesäule geleitet [6].

Auf dieser Apheresesäule befinden sich verschiedene, an einer Festphase immobilisierte Liganden, welche auf unterschiedliche Weise die im Blut zirkulierenden Immunglobuline und Immunkomplexe binden (siehe unten).

Das auf diesem Wege von pathogenen Antikörpern befreite Plasma wird nun nach der Säule im Plasmapheresegerät mit den zuvor abgetrennten Blutzellen zusammengeführt und dem Patienten zurück transfundiert. Abbildung 2 zeigt eine schematische Darstellung der Immunadsorption.

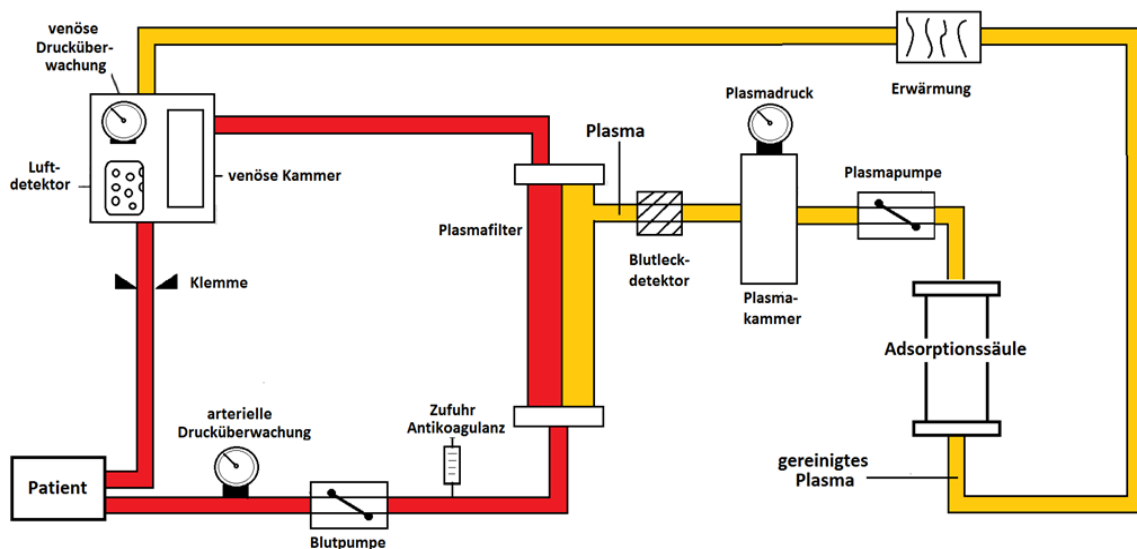


Abb. 2: Schematische Darstellung der nicht regenerierbaren Immunadsorption. Über einen extrakorporalen Kreislauf gelangt das Patientenblut in den Plasmafilter, wo das Plasma (hier gelb dargestellt) von den korpuskulären Blutbestandteilen (hier rot dargestellt) getrennt wird. Von hier aus gelangt das Plasma in die Adsorptionssäule, wo eine Adsorption von Immunglobulinen stattfindet. Anschließend gelangen das gereinigte Plasma und die zuvor abgetrennten korpuskulären Blutbestandteile gemeinsam zurück zum Patienten. Modifiziert aus [6]

Für die Immunadsorption stehen eine Reihe von Adsorptionssäulen zur Verfügung, die sich aufgrund ihrer Selektivität gegenüber bestimmten Immunglobulinklassen oder Epitopen unterscheiden [2]. Außerdem differenziert man zwischen regenerierbaren Säulen und solchen, die nur einmal benutzt werden (*single use*).

Exemplarisch sollen hier zwei verschiedene Filter vorgestellt werden, sowie die Bedeutung von regenerierbaren und nicht regenerierbaren Säulen.

Nicht regenerierbare Säulen

Ursprünglich wurden Immunadsorptionssäulen als nicht regenerierbare Säulen eingesetzt [9]. Trotz der heute häufiger eingesetzten regenerierbaren Säulen (siehe unten) spielen sie in der Praxis nach wie vor eine gewisse Rolle. Sie werden, anders als die wiederverwendbaren Säulen, nicht in einem Reinigungsprozess von den gebundenen Proteinen befreit und wieder verwendet, sondern nach dem einmaligen Gebrauch entsorgt.

Eine der ersten *single-use*-Säulen ist die Protein-A-Säule auf Silicia-Matrix (Prosorba®) [1]. Protein A wird von dem Bakterium *Staphylococcus aureus* gebildet und ist ein Bestandteil der Polysaccharidkapsel dieser Bakterien. Es dient dem Bakterium als Schutz vor der Phagozytose, indem es Immunglobuline an deren Fc-Fragment bindet (dargestellt in Abbildung 3) und sie somit für Makrophagen unkenntlich macht [10]. Diese Eigenschaft macht man sich zu Nutze: Die mit Protein A beschichtete Immunadsorptionssäule bindet Antikörper und entfernt sie somit aus dem Plasma des Patienten.

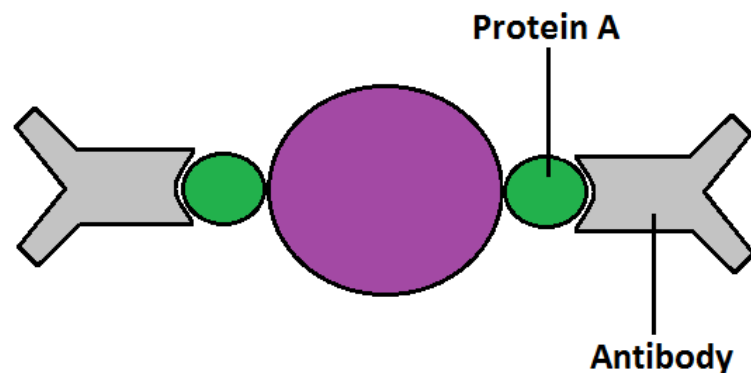


Abb. 3: Schema einer Protein A-Antikörper-Bindung. Antikörper binden durch ihr Fc-Fragment an Protein A. Modifiziert aus [10]

Das Protein A wird auch für die regenerierbare Immunadsorption verwendet. Hierauf wird im nächsten Kapitel näher eingegangen.

Eine heute häufiger eingesetzte nicht regenerierbare Säule ist die Tryptophansäule. Sie enthält eine Polyvenylethanol-Matrix, an der die Aminosäure Tryptophan durch kovalente Bindungen immobilisiert ist.

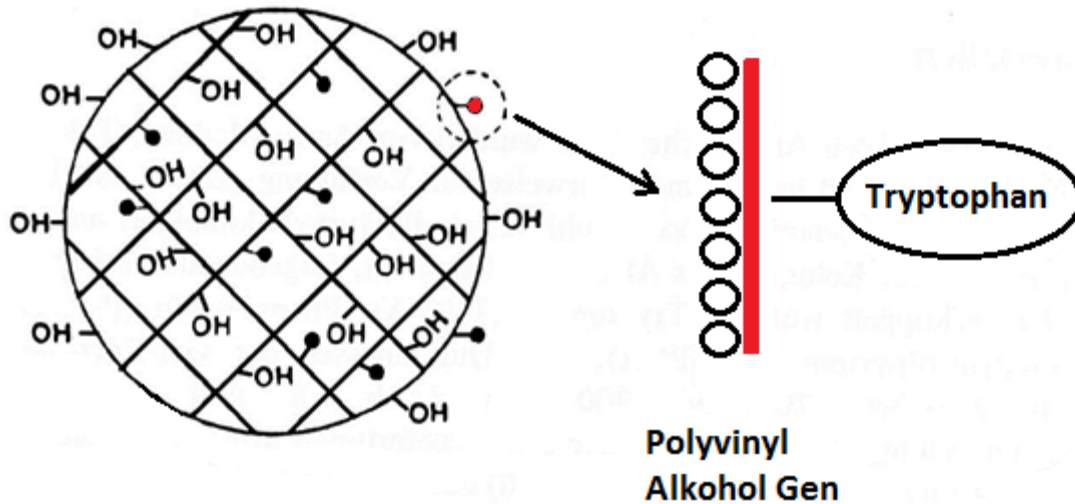


Abb. 4: Schematisierte Abbildung einer Tryptophan-Polyvenylalkoholverbindung. Das Tryptophan ist über kovalente Bindungen an der Polyvenylethanol-Matrix immobilisiert. Modifiziert aus [7]

Durch das Tryptophan erfolgt die Adsorption der Immunglobuline durch hydrophobe Wechselwirkungen [7]. Dieses Phänomen entsteht dadurch, dass hydrophobe (unpolare) Moleküle (in diesem Fall das Tryptophan einerseits und die Immunglobuline andererseits) dazu neigen sich zusammen zu lagern, sobald sie in ein polares Medium wie z.B. Wasser gelangen. Die unpolaren Moleküle stören die durch Wasserstoffbrückenbindungen gekennzeichnete Struktur des Wassers, sodass sich die Wassermoleküle neu orientieren müssen, um eine maximale Anzahl von Wasserstoffbrückenbindungen aufbauen zu können. Aus Gründen der Entropie lagern sich mehrere unpolare Moleküle nun zusammen, um die Oberfläche zum Wasser hin und somit auch die Störung möglichst gering zu halten [11].

Neben der erwünschten Entfernung der Immunglobuline werden auch andere Plasmabestandteile aus dem Plasma entfernt, wie z.B. das Fibrinogen (Vergleiche Kapitel 3.4.4).

Mit Hilfe der nicht regenerierbaren Tryptophansäule können bis zu 2 Liter Plasma gereinigt werden [9]. Das ist wesentlich weniger als bei den regenerierbaren Säulen, durch die das 1,5- bis 2,5-fache des Plasmavolumens des Patienten von Immunglobulinen befreit werden können (siehe nächster Abschnitt). Die Tryptophansäule wurde für diese Studie als nicht regenerierbare Immunadsorptionssäule zur Behandlung eingesetzt.

Regenerierbare Säulen

Die regenerierbaren Immunadsorptionssäulen bestehen aus einem Doppelsäulensystem. Während jeweils eine der beiden Säulen von dem Plasma des Patienten durchströmt wird,

wird die zweite Säule mit einem Glycinpuffer gespült, von gebundenen Substanzen befreit und somit für eine erneute Adsorption zur Verfügung gestellt [1]. Die Abbildung 5 zeigt einen schematischen Aufbau der regenerierbaren Immunadsorption.

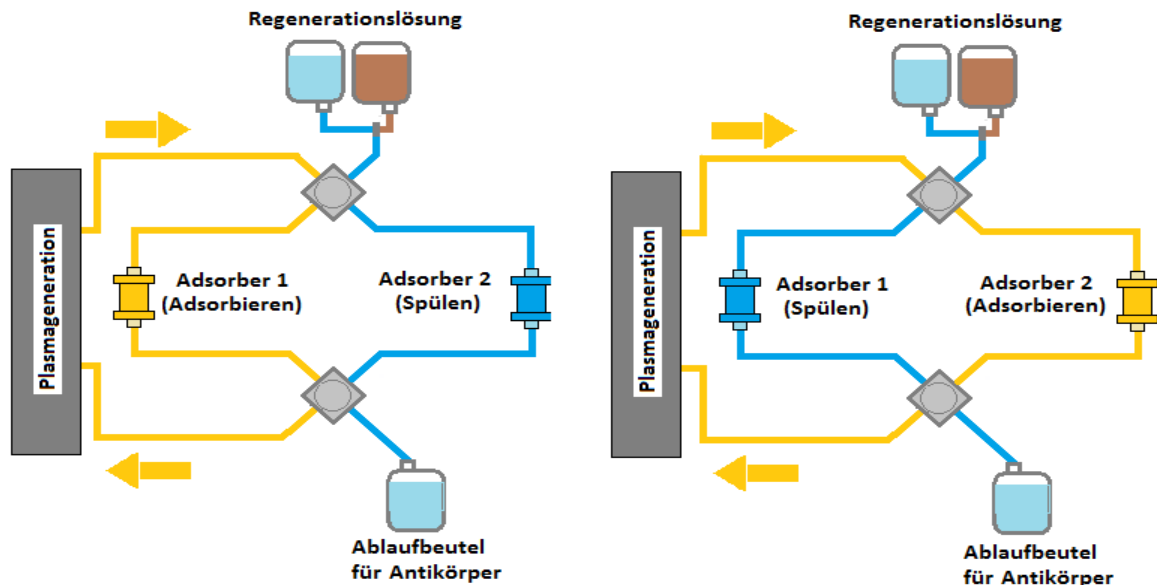


Abb. 5: Prinzip der Immunadsorption mit regenerierbarer Doppelsäule. Die linke Abbildung zeigt die Phase der Immunadsorption, in welcher der Adsorber 1 vom Plasma (hier gelb dargestellt) durchströmt wird, während der Adsorber 2 gereinigt wird. Die rechte Abbildung zeigt die Phase nach dem Wechsel der Immunadsorptionsäulen. Hier wird der Adsorber 2 vom Plasma durchströmt und Adsorber 1 wird regeneriert. Modifiziert aus [12]

Durch den Glycinpuffer wird der pH-Wert in der Säule auf einen Wert von 2,8 abgesenkt. Dies hat zur Folge, dass sich die Bindungen zwischen dem Protein A und den Fc-Anteilen der Antikörper lösen. Durch eine weitere Pufferung wird der pH-Wert in der Säule wieder auf den ursprünglichen Wert zurück gebracht, sodass eine erneute Adsorption möglich ist [13]. Der Wechsel zwischen Adsorption und Regeneration geschieht in einem kontinuierlichen Prozess. Die Säulen werden abwechselnd mit Antikörpern beladen und regeneriert. Dies hat den Vorteil, dass das Behandlungsvolumen nicht von der Säulenkapazität abhängig ist, sondern mehrere Plasmavolumina behandelt werden können (zumeist das 1,5- bis 2,5-Fache des Plasmavolumens des Patienten) [14]. Ein Beispiel für eine solche regenerierbare Säule ist die Protein-A-Säule Immunosorba®.

Die Protein-A-Säule dient der semi-selektiven Immunadsorption, das heißt sie bindet hauptsächlich den Fc-Anteil von Immunglobulinklassen, ist aber nicht spezifisch gegen ein bestimmtes Epitop gerichtet [15]. Am stärksten bindet die Säule IgG-Antikörper der Subklasse 1,2 und 4. Weniger affin ist die Säule für Immunglobuline der Subklasse G3 und bestimmte IgA- und IgM-Antikörper [16]. Für diese Studie wurde die regenerierbare Protein-A-Säule der Firma Fresenius Medical Care benutzt.

Ein weiteres Beispiel für eine regenerierbare Säule ist die Protein-A-Säule der Firma Miltenyi Biotec und das Therasorb®-System, bei dem Schafs-Antikörper gegen humanes Immunglobulin eingesetzt werden.

1.3 Plasmaaustausch und Immunadsorption - Indikationen

Die Indikationsbereiche für Immunadsorption und Plasmapherese sind nahezu identisch. Die Anzahl der gesicherten Indikationen für diese Therapieverfahren sind noch gering und häufig wird aufgrund von Erfahrungswerten behandelt [8]. Oft werden die beiden Aphereseverfahren erst dann eingesetzt, wenn die Erkrankungen refraktär gegenüber den konventionellen Therapieverfahren sind und ein schnelles Fortschreiten der Krankheiten droht. In den meisten Fällen werden die Patienten noch zusätzlich medikamentös, mit z.B. Immunsuppressiva behandelt [14].

Die Aphereseverfahren spielen unter anderem in der Neurologie, der Nephrologie, der Hämatologie, der Kardiologie oder der Dermatologie als Behandlungsoption eine wichtige Rolle. Auch im Bereich der Organtransplantation werden Immunadsorption und Plasmaaustausch eingesetzt.

Die Tabelle 1 zeigt einen Überblick über die wichtigsten Erkrankungen, bei denen die Apherese eine Therapie darstellt.

Tabelle 1: Häufige Indikationen für Immunadsorption und Plasmaseparation

A. Renale/hämatologische Indikationen
Thrombotisch thrombozytopenische Purpura / hämolytisch urämisches Syndrom
Akute Transplantatabstoßung
ABO-inkompatible Nierentransplantation
Lupusnephritis
Hemmkörperhämophilie
Goodpasture Syndrom
Antiglomeruläre-Basalmembran-AK-Nephritis
Rapid progressive Glomerulonephritis

B. Neurologische Indikationen
Guillain-Barré-Syndrom Chronisch entzündliche demyelinisierende Polyneuropathie Myasthenia gravis Multiple Sklerose
C. Rheumatologische Indikationen
Morbus Wegener Systemischer Lupus erythematodes Rheumatoide Arthritis Vaskulitis
D. Kardiologische Indikationen
Dilatative Kardiomyopathie
E. Dermatologische Indikationen
Bullöse Autoimmundermatosen
Vgl. [15] [8]

In der Regel können die oben genannten Erkrankungen sowohl mit Plasmaseparation, als auch mit Immunadsorption behandelt werden. Eine Ausnahme hiervon stellt das hämolytisch urämische Syndrom und die thrombotisch thrombozytopenische Purpura dar. Hier wird ausschließlich die Plasmaseparation eingesetzt, da das therapeutische Ziel im Austausch des Plasmas liegt [14]. Dieses wird genauer im Kapitel 1.3.1 beschrieben.

Im Folgenden wird auf einige wichtige Indikationen näher eingegangen.

1.3.1 Hämatologische Erkrankungen

Thrombotisch thrombozytopenische Purpura und hämolytisch urämisches Syndrom

Die thrombotisch thrombozytopenische Purpura und das hämolytisch urämische Syndrom sind thrombotische Mikroangiopathien. Betroffen sind vor allem die Kapillaren von Nieren und Gehirn. Durch die Bildung von Mikrothromben werden die Gefäße okkludiert und es kommt zu einer Ischämie der betroffenen Organe [14].

Bei der thrombotisch thrombozytopenische Purpura ist der Grund für die Entstehung von Mikrothromben ein Mangel oder eine Störung der Zinkprotease ADAMTS 13. Sie ist für die

Spaltung des Von-Willebrand-Faktors zuständig. Der Von-Willebrand-Faktor sorgt für die Quervernetzung und die Anhaftung von aktivierten Thrombozyten an eine geschädigte Gefäßwand. Durch die Spaltung der, durch den Von-Willebrand-Faktor entstandenen, Thrombozytenvernetzungen durch die Zinkprotease ADAMTS 13 werden somit eine überschießende intravasale Gerinnung und die Bildung von Thromben verhindert. Durch die Störung der Zinkprotease im Blut kommt es zu einer ungehemmten Aktivität des Von-Willebrand-Faktors und somit zu einer Bildung von Mikrothromben. Diese Störung der ADAMTS 13 kann verschiedene Ursachen haben. Zum einen gibt es eine angeborene Form der thrombotisch thrombozytopenischen Purpura, bei der ein Mangel der Zinkprotease vorliegt. Zum anderen gibt es eine erworbene Form, bei der Antikörper gegen die Zinkprotease im Blut nachweisbar sind [17] [18].

Beim Hämolytisch urämischem Syndrom ist der Auslöser für die Bildung von Mikrothromben eine Schädigung des Endothels, welches zu einem überschießenden Verbrauch von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten und somit zu der Bildung von Blutgerinnseln führt. Diese Endothelschädigungen können verschiedene Ursachen haben. Man unterscheidet eine infektiöse und eine nicht infektiöse Form. Am häufigsten ist die infektiöse Form, die in der Regel bei Kleinkindern nach Infektionen mit EHEC oder einigen anderen Bakterien und Viren auftritt, die bestimmte Toxine bilden können. Diese Toxine binden über Rezeptoren an die Endothelzellen des Glomerulums und führen somit zum Untergang dieser Zellen. Nicht infektiöse Ursachen können zum Beispiel die Einnahme von bestimmten Medikamenten, eine Knochenmarkstransplantation, ein HELLP-Syndrom während der Schwangerschaft oder die genetische Störung des Faktors H sein [17] [19].

Die Symptome des HUS und der TTP ähneln sich stark. Es kommt zu einer Thrombozytopenie durch den Verbrauch der Thrombozyten, zu einer hämolytischen Anämie durch die mechanische Schädigung von Erythrozyten in den Blutgefäßen und zu einer Erhöhung der Fragmentozyten im peripheren Blutausschlag. Bei der TTP sind vor allem die Kapillaren des Gehirns betroffen. Im Vordergrund steht somit eine neurologische Symptomatik mit motorischen und sensiblen Ausfällen, einem verminderten Bewusstsein und einer Störung des Sehens und der Sprache [20]. Beim HUS entsteht durch die Thrombenbildung in der Niere eine schwere Nierenfunktionsstörung mit einem Serum-Kreatinin von über 200 $\mu\text{mol/l}$ [19]. Durch den Einsatz von Plasmapherese sind die TTP und das HUS zu behandelbaren Erkrankungen geworden. Die beiden Erkrankungen stellen die einzigen Indikationen dar, bei denen zwingend eine Plasmaseparation als Aphereseart mit der Substitution von Fresh Frozen Plasma indiziert ist [14]. Bei der TTP ermöglicht der Austausch des Plasmas zum einen die

Entfernung der großen Von-Willebrand-Multimeren und der Autoantikörper gegen ADAMTS13 aus der Zirkulation des Patienten und zum anderen die Substitution von funktionstüchtigen Zinkproteasen durch die Gabe von Fresh Frozen Plasma [18]. Bei dem HUS werden durch den Austausch des Plasmas die Thromben aus dem Blut des Patienten entfernt [14].

Hemmkörperhämophilie

Die erworbene Hemmkörperhämophilie ist eine selten auftretende Gerinnungsstörung, bei der Autoantikörper gegen körpereigene Gerinnungsfaktoren gebildet werden. Besonders häufig entstehen Antikörper gegen den Gerinnungsfaktor VIII. Hierbei kommt es zu einer meist plötzlich auftretenden, oft lebensbedrohlichen Blutungsneigung. In circa 50% der Fälle handelt es sich um eine idiopathisch auftretende Erkrankung. In den übrigen Fällen tritt die erworbene Hemmkörperhämophilie medikamenteninduziert oder assoziiert mit anderen Erkrankungen auf. Diese können Autoimmunerkrankungen, wie z.B. der Lupus Erythematodes oder die Myasthenia Gravis, Infektionskrankheiten, wie zum Beispiel Hepatitis B oder C, oder aber auch Malignome, wie zum Beispiel Lymphome, sein. Bei den Patienten kommt es häufig zu großflächigen subkutanen Einblutungen oder zu Blutungen im Gastrointestinal- oder Urogenitaltrakt [21].

Eine weitere Form der Hemmkörperhämophilie stellt eine gefürchtete Komplikation bei der Therapie von Hämophilien dar. Der Körper bildet Allo-Antikörper der Gruppe IgG gegen den therapeutisch substituierten Gerinnungsfaktor VIII. Das Risiko eine Hemmkörperhämophilie zu entwickeln liegt bei 15% und kommt meist bei sehr schweren Hämophilien A vor. Durch die gebildeten Antikörper wird der therapeutisch notwendige Faktor VIII inaktiviert und es treten, je nach Schwere der Hämophilie, trotz einer Therapie mit dem Gerinnungsfaktor, schwere Blutungen auf.

Zur Therapie der Hemmkörperhämophilie kann bei leichten Formen als Immuntoleranztherapie hochdosiert Faktor VIII substituiert werden. Bei schwereren Formen und Akutsituationen können Plasmaaustausch oder Immunadsorption eingesetzt werden, um die gebildeten Antikörper aus dem Patientenplasma zu eliminieren [15].

1.3.2 Neurologische Erkrankungen

Guillain Barré-Syndrom und Chronisch entzündliche demyelinisierende Polyneuropathie (CDIP)

Das Guillain Barré-Syndrom (GBS) und die chronisch entzündliche demyelinisierende Polyneuropathie (CDIP) sind inflammatorisch bedingte Polyradikulitiden, die durch eine aufsteigende motorische Parese gekennzeichnet sind.

Das GBS ist eine akute Polyradikulitis, bei der sich die Paresen binnen weniger Stunden ausbilden können und der Höhepunkt der Erkrankung spätestens nach vier Wochen erreicht ist. Die CDIP ist die chronische Verlaufsform des GBS, die sich über einen Zeitraum von zwei Monaten oder länger entwickelt und eine schubweise oder chronische Progredienz aufweist. Die Klinik der beiden Erkrankungen unterscheidet sich in einigen Merkmalen. Beim GBS beginnt die Symptomatik mit einer distal betonten Schwäche der unteren Extremität. Je nach Ausprägung steigt die Parese rasch auf und kann sogar das Zwerchfell und die Hirnnerven betreffen. Dies kann zu Schluckstörungen, Facialisparesen und in schweren Fällen sogar zu einer lebensbedrohlichen Ateminsuffizienz führen. Nach Erreichen des Höhepunktes der Erkrankung beginnt die Rückbildung der Symptome, welche Monate oder Jahre dauern kann. Die Paresen bilden sich in umgekehrter Reihenfolge wieder zurück. Bei der CDIP weisen die Patienten häufiger eine asymmetrische Ausprägung der neurologischen Ausfälle auf und klagen oft über starke Schmerzen. Neben motorischen Defiziten und Parästhesien ist ein Hirnnervenbefall sehr häufig und zeigt oft einen rezidivierenden Charakter. Die chronischen Symptome fluktuieren in vielen Fällen und es kommt nach einer kompletten Remission häufig zu Rezidiven oder sogar zu einer progredienten Entwicklung. Die bei beiden Erkrankungen vorliegende Polyradikulitis wird durch immunologische Vorgänge ausgelöst, die durch das Auftreten von Autoantikörpern gegen die Myelinscheiden der aus dem Rückenmark hervorgehenden Nervenwurzeln gekennzeichnet sind. Die Nervenwurzeln werden durch die Immunreaktion demyelinisiert. Hierdurch kann es zu einer sekundären Schädigung der Nervenfasern kommen[22]. Ein auslösender Faktor für die Entstehung der Antikörper ist oft nicht erkennbar. Vor allem beim GBS gehen jedoch häufig Infektionen mit zum Beispiel Varizella zoster, Epstein-Barr-Virus oder *Campylobacter jejuni* voraus [23]. Bei beiden Polyradikulitiden ist bei schweren oder therapierefraktären Verläufen eine Plasmapheresebehandlung oder eine Immunadsorption indiziert. Hierdurch können die gebildeten Antikörper gegen die Myelinscheiden aus dem Plasma eliminiert werden. Beim GBS kann außerdem eine intravenöse Gabe von Immunglobulinen für fünf Tage erfolgen. Die CDIP spricht

zusätzlich auf Kortikosteroide oder Immunsuppressiva, wie z.B. Azathioprin und Cyclosporin an [14] [23].

Multiple Sklerose

Die multiple Sklerose ist eine häufige chronische Erkrankung des ZNS, bei der Autoimmunvorgänge eine wichtige Rolle spielen. Die Autoantikörper sind gegen das körpereigene Myelin gerichtet. Es kommt zu einer disseminierten herdförmigen Demyelinisierung im gesamten ZNS und zu einem Untergang von Axonen und Neuronen (siehe Abbildung 6).

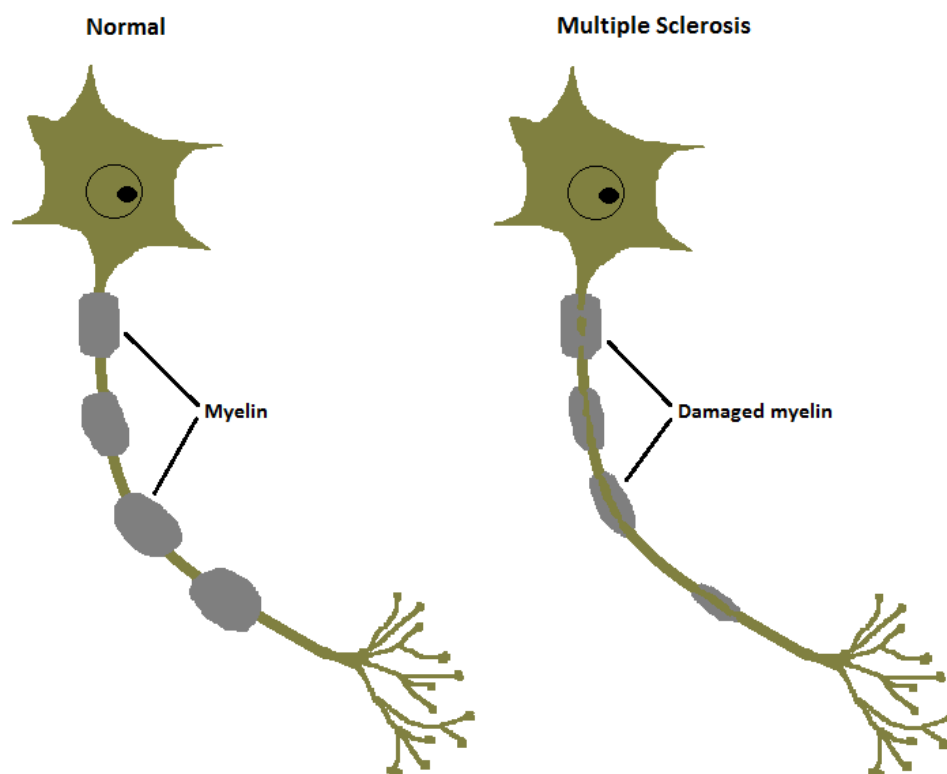


Abb. 6: Darstellung der Myelinschädigung bei Multipler Sklerose. In der linken Abbildung zeigen sich die Myelinscheiden des dargestellten Nervs intakt. Rechts sind durch Autoantikörper hervorgerufene Schädigungen der Myelinscheide sichtbar. Modifiziert aus [24] [27]

Initial äußert sich die Multiple Sklerose meist durch schubförmige neurologische Ausfälle, die in ihrer Erscheinung, je nach Lokalisation der Entzündungsherde, erheblich variieren können. Einige Befunde sind besonders charakteristisch für die Multiple Sklerose. Hierzu gehört z.B. die Retrobulbärneuritis, die sich innerhalb von wenigen Tagen entwickelt und eine Farbsinnstörung in Form einer Rotentsättigung und einen erheblichen Visusverlust mit sich bringt. Auch eine Störung der Augenmotorik ist eine frühe charakteristische Manifestation der Multiplen Sklerose und fällt in der Regel zunächst durch Doppelbilder auf. MS-Patienten haben häufig Sensibilitätsstörungen, die besonders den Vibrationssinn betreffen. Außerdem kommt es oft zu gesteigerten Muskeleigenreflexen und Gangstörungen, sowie zu

zerebellären Symptomen, welche sich durch Koordinationsstörungen, Ataxien und einen Intentionstremor äußern.

Der Grund der Entstehung der Antikörper gegen das Myelin ist noch unbekannt. Vermutet wird ein Zusammenspiel von Umweltfaktoren, Störungen im Immunsystem und genetischen Dispositionen. Auch Viren werden als auslösender Faktor diskutiert [27]. Die Erkrankung verläuft in den meisten Fällen zunächst schubförmig. Anschließend kommt es meist zu einem sekundären, progredienten Fortschreiten der Erkrankung.

Der akute Schub der Multiplen Sklerose wird durch eine hoch dosierte Therapie mit Steroiden behandelt. Bei häufigen Schüben kann man dauerhaft mit Beta-Interferon oder Glatirameracetat subkutan behandeln. Bei Schüben, die den Patienten funktionell stark beeinträchtigen und bei denen eine medikamentöse Therapie zu keiner deutlichen Besserung führt, kann eine Plasmapherese oder eine Immunadsorption eingesetzt werden. Hierdurch kann bei ca. 40% der Patienten ein Rückgang der Symptome erreicht werden [25].

Myasthenia gravis

Bei der Myasthenia gravis liegt eine Störung der neuromuskulären Reizübertragung vor. Autoantikörper zerstören die Acetylcholinrezeptoren an der postsynaptischen Membran im Bereich der motorischen Endplatte der quergestreiften Muskulatur (siehe Abbildung 7). Hierdurch kommt es zu einer belastungsabhängigen Ermüdung der Muskulatur, die im Tagesverlauf zunimmt und abends besonders stark ausgeprägt ist. Zu Beginn manifestiert sich die Muskelschwäche am häufigsten an Muskeln, die eine kleine motorische Einheit aufweisen und somit feinmotorische, differenzierte Bewegungen ausführen. Beispiele hierfür sind die äußeren Augenmuskeln, die Lidheber oder die Schluckmuskulatur [26].

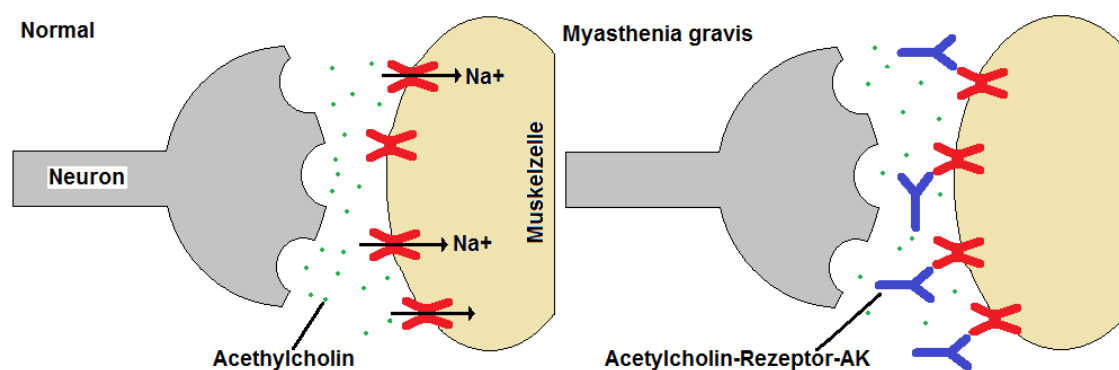


Abb. 7: Darstellung einer motorischen Endplatte bei Gesunden und bei Patienten mit Myasthenia gravis. In der linken Abbildung ist eine normale motorische Endplatte dargestellt. Durch das Acetylcholin kommt es zu einem Öffnen der Acetylcholinrezeptoren und somit zu einer Signalübertragung auf die postsynaptische Membran. Im rechten Bild ist eine motorische Endplatte bei Myasthenia gravis dargestellt. Autoantikörper verhindern ein Öffnen der Acetylcholinrezeptoren, sodass eine Signalübertragung verhindert wird. Modifiziert aus [27]

Demensprechend häufig sind die Erstsymptome Doppelbilder, Ptose oder Störungen beim Schluckakt. Therapeutisch werden Acetylcholinesterasehemmer, wie z.B. Pyridostigmin, eingesetzt, die den Abbau von Acetylcholin verringern. Somit wird die Konzentration des Transmitters im synaptischen Spalt erhöht und die Autoantikörper kompetitiv von den Rezeptoren verdrängt. Glukokortikoide und Immunsuppressiva, wie Azathioprin, unterstützen die Therapie. Bei schweren oder therapieresistenten Verläufen bieten die Plasmapherese, die Immunadsorption oder die Gabe von Immunglobulinen eine Möglichkeit, die Symptome zu verbessern. Zusätzlich sollte individuell eine Thymektomie erwogen werden [27].

1.4 Antikoagulation

Die Wahl eines geeigneten Antikoagulationsverfahrens spielt bei der Apherese eine wichtige Rolle. Nur durch eine effektive Antikoagulation des Bluts kann eine Behandlung adäquat durchgeführt werden. Durch den Kontakt von Blut mit den Oberflächen des Schlauchsystems und anderen „fremden“ Oberflächen des Aphereseegerätes, kann es zu einer Aktivierung des menschlichen Gerinnungssystems und des Komplementsystems kommen. Dieses führt zur Entstehung von Blutgerinnseln im extrakorporalen System [6]. Die standardmäßig verwendeten Antikoagulantien bei Immunadsorption und Plasmaseparation sind Heparin und Citrat [33] [14].

1.4.1 Heparin

Heparin ist ein systemisch wirksames Antikoagulanz, welches als Antithrombin III-Kofaktor wirkt. Es lagert sich an positiv geladene Lysin-Gruppen des Antithrombins an und aktiviert es. Die Wirkung des Antithrombin III im Blut des Patienten wird hierdurch verstärkt. Antithrombin III ist ein wichtiger Hemmer verschiedener Gerinnungsfaktoren (IXa, Xa und Thrombin) und verhindert somit eine überschießende Gerinnungsreaktion und die Entstehung von Blutgerinnseln [28]. Da Heparin systemisch gegeben wird, beeinflusst es die Blutgerinnung im Kreislauf des Patienten. Dies kann vor allen Dingen bei Patienten mit Blutungsneigung zu Blutungen führen. Zusätzlich kann als unerwünschte Wirkung bei der Gabe von Heparin eine heparininduzierte Thrombozytopenie entstehen.

1.4.2 Zitrat

Die Zitrat-Antikoagulation stellt eine wichtige Alternative zum Heparin dar. Das Zitrat ist ein in vitro eingesetztes Antikoagulanz und wirkt somit lokal im extrakorporalen Kreislauf.

Die Wirkung besteht darin, dass es zweiwertige Ionen, wie Kalzium, aus dem Blut komplexiert. Kalzium-Ionen sind ein essentieller Bestandteil einer effektiven Gerinnung. Durch die Chelatierung von ionisiertem Calcium kommt es an verschiedenen Stellen der Gerinnungskaskade zu einer Hemmung der plasmatischen Gerinnung (siehe Abbildung 8). Zusätzlich wurde eine Unterdrückung der Aktivierung von Thrombozyten und des Komplementsystems beschrieben [29].

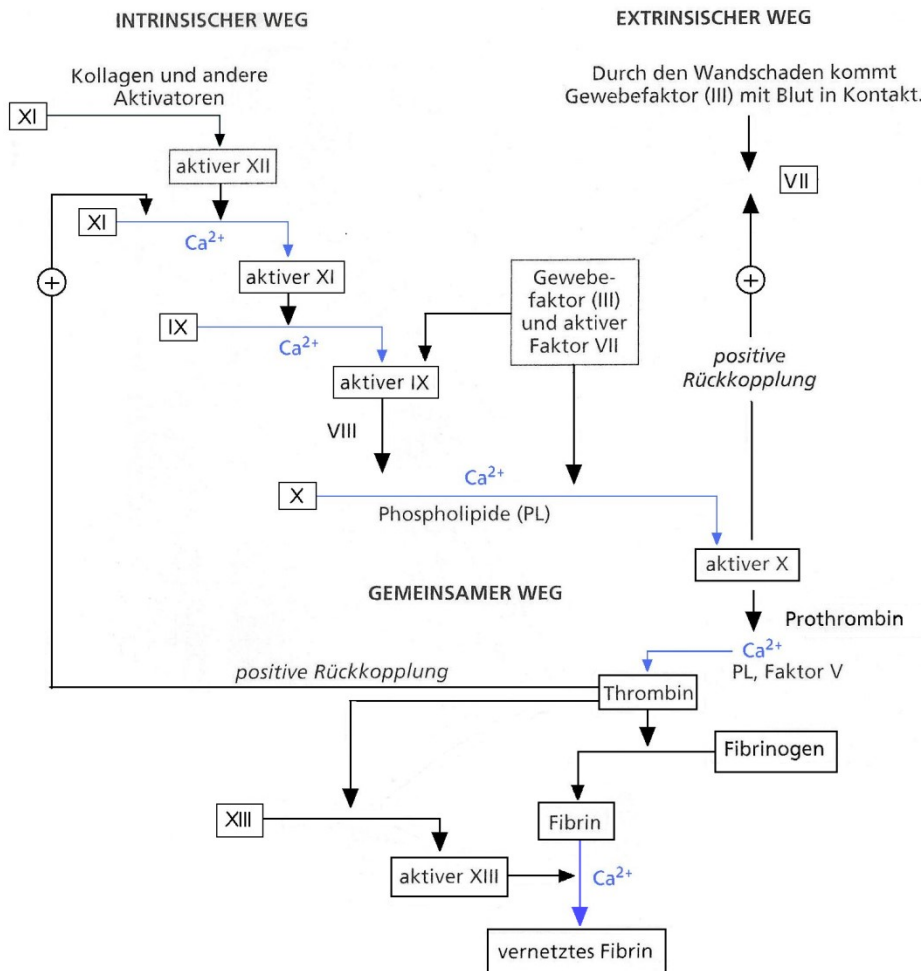


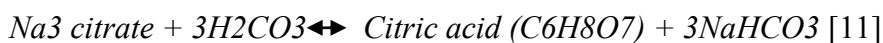
Abb. 8: Rolle von Zitrat bei der Blutgerinnung. Die Abbildung zeigt die Gerinnungskaskade. In blau sind die Stufen der Gerinnungskaskade dargestellt, in denen Zitrat eine entscheidende Rolle spielt.

Modifiziert aus [30]

Bei der Zitratantikoagulation gewährleistet ein Kalziumspiegel von unter 0,35 mmol/l im extrakorporalen Kreislauf eine optimale Antikoagulation [31]. Da der Kalziumspiegel im Blut des Patienten möglichst im Normbereich gehalten werden muss, wird der Kalziumverlust durch die Infusion von Kalzium, z.B. mit Kalziumgluconat 10%, wieder ausgeglichen, bevor das Blut zum Patienten zurück gelangt. Hiernach ist das Blut wieder gerinnbar. Die

regionale Wirkung der Zitratantikoagulation bietet vor allem bei Patienten mit Blutungsneigungen einen Vorteil gegenüber dem systemisch wirkenden Heparin, da durch die Antikoagulation mit Zitrat eine wesentlich geringere Blutungsgefahr besteht [34] [14]. Zusätzlich kann die Antikoagulation mit Citrat eine wichtige Alternative bei Patienten mit Heparin-induzierter Thrombopenie darstellen.

Dennoch kann es durch die Gabe von Zitrat zu unerwünschten Nebenwirkungen beim Patienten kommen. Zum einen kann es bei einer nicht zureichenden Kalziumzufuhr zu einer Verminderung des ionisierten Kalziums im Blut des Patienten kommen. Diese Hypokalziämie löst beim Patienten Symptome einer gesteigerten neuromuskulären Erregbarkeit aus, welche sich zum Beispiel durch Parästhesien an den Fingern und perioral äußern kann. Zum anderen kann das in den Blutkreislauf des Patienten gelangte Zitrat direkt zu Nebenwirkungen führen. Dieses wird in Leber, Nieren und Skelettmuskulatur zu Bikarbonat verstoffwechselt. Hierbei entstehen aus jedem Molekül Zitrat drei Moleküle Bikarbonat:



Die vermehrte Entstehung von Bikarbonat kann beim Patienten zu einer metabolischen Alkalose führen. Diese kann sich in Symptomen wie Schwäche, Verwirrheitszustände, Bewusstseinsbeeinträchtigung, Tetanien und Herzrhythmusstörungen äußern [31]. Durch die Verwendung von Natriumzitrat gelangt eine relevante Menge an Natrium in den Kreislauf des Patienten. Dies kann bei einer vorbestehenden Hypo- oder Hypernatriämie zu Elektrolytentgleisungen führen. Neben dem Kalzium wird auch Magnesium als zweiwertiges Kation vom Zitrat komplexiert, weshalb eine klinisch manifeste Hypomagnesiämie entstehen kann [32].

1.5 Verträglichkeit der Aphereseverfahren

Durch die Therapie mit Plasmaseparation und Immunadsorption kann es zu verschiedenen Komplikationen und Nebenwirkungen kommen. Diese können grob in technische und medizinische Komplikationen eingeteilt werden.

Technische Komplikationen können in gleicher Form sowohl bei der Plasmaseparation, als auch bei der Immunadsorption entstehen. Sie ergeben sich zum einen durch den zentralvenösen Zugang. Bei der Anlage des Zugangs kann es zu Blutungen, Pneumothorax und zu Fehllagen des Katheters kommen. Zusätzlich können sich durch den Zugang Thromben bilden und Erreger in den Blutkreislauf gelangen, was zu Infarkten und Sepsis führen kann. Zum anderen kann der Plasmafilter zu technischen Problemen führen. Hier kann es zu einem Verschluss des Filters, zu einem Blutleck durch Ruptur der Membran und zu einer mechanischen Hämolyse der Blutzellen kommen.

Medizinische Probleme können zum Teil ebenfalls sowohl bei Plasmapherese als auch bei der Immunadsorption auftreten. Ein medizinisches Problem stellt zum einen eine potentiell für den Patienten gefährliche Hypotonie dar. Diese kann unter anderem durch den Volumemangel, bedingt durch den extrakorporalen Kreislauf, oder durch eine vasovagale Reaktion entstehen. Durch die mögliche Elektrolytveränderung, insbesondere von Kalium, können Herzrhythmusstörungen auftreten. Aufgrund der Verringerung des kolloidosmotischen Drucks durch Verlust von Albumin und Verdünnungseffekte, können Ödeme entstehen bis hin zum Lungenödem. Durch die Substitution von Fresh Frozen Plasma kann es bei der Plasmaseparation zu einer anaphylaktischen Reaktion kommen. Auch Unverträglichkeiten gegenüber den Trägern und Liganden der Immunadsorptionssäulen können allergische Reaktionen auslösen. Die Entfernung von Antikörpern aus dem Blut kann ein Antikörpermangelsyndrom mit Infektneigung zur Folge haben. Schließlich kann es zu unspezifischen Nebenwirkungen, wie Fieber, Schüttelfrost, Hypertonie, Tachykardie und Komplementaktivierung kommen [6] [34]. Andere medizinische Komplikationen sind spezifisch für die jeweilige Aphereseart. Diese werden im Folgenden getrennt für die jeweilige Aphereseart aufgeführt.

1.5.1 Verträglichkeit des Plasmaaustausches

Durch den Austausch des Plasmas bei der Plasmaseparation können einige unerwünschte Wirkungen auftreten. Durch den Verlust von Faktoren des Gerinnungssystems kann es bei den Patienten zu Gerinnungsstörungen kommen. Bei einer Behandlungseinheit kommt es zu einem Abfall des Serumfibrinogens, des Prothrombins und anderer Gerinnungsfaktoren, sowie zu einem Anstieg der PTT [35] [36].

Durch die Gabe von Fresh Frozen Plasma besteht die Gefahr der Übertragung von Infektionskrankheiten, wie zum Beispiel HIV und Hepatitis B und C. Da Fresh Frozen Plasma Zitrat zur Antikoagulation enthält, kann es zu einer Hypokalzämie kommen, die sich durch Tetanien, Krämpfe, Parästhesien und einer Verlängerung der QT-Zeit im EKG äußern kann (siehe Kapitel 1.4.2) [17].

1.5.2 Verträglichkeit der Immunadsorption

Obwohl bei der Immunadsorption das Plasma zum Patienten zurückgeleitet wird, gehen bei der regenerierbaren Säule durch die Reinigung der Protein-A-Säule stets circa zehn ml Plasma verloren. Bei einem Behandlungsvolumen von sechs Litern Plasma, entsteht also ein Verlust von circa 200-300 ml.

Die Immunadsorption kann beim Patienten zu einer Ausschüttung von Bradykinin führen. Bradykinin ist ein proinflammatorisches Peptid, welches durch die Aktivierung von Kallikrein aus seinem Vorläufermolekül freigesetzt wird. Bei der Immunadsorption wird Kallikrein durch den Kontakt des Plasmas mit negativ geladenen Oberflächen des extrakorporalen Kreislaufs aktiviert [37]. Bradykinin wird im Körper durch das Angiotensin-converting-enzyme (ACE) abgebaut. Daher stellt die Einnahme von ACE-Hemmern eine Kontraindikation für die Immunadsorption dar, da es sonst zu einem erheblichen Anstieg des Bradykinin-spiegels bis hin zu einer schockähnlichen Symptomatik kommen kann [38].

Bei der Behandlung mit der nicht regenerierbaren Tryptophansäule kann es zu einem starken Fibrinogenverlust kommen, da Tryptophan Fibrinogen bindet [7]. Zum einen wird die Entfernung von Fibrinogen durch Tryptophan therapeutisch genutzt, um z.B. einen Hörsturz zu behandeln, zum anderen kann der Verlust von Fibrinogen bei der Behandlung von anderen Erkrankungen mit der Tryptophansäule eine erhebliche Nebenwirkung darstellen (siehe Kapitel 3.4.4).

1.6 Fragestellung und Zielsetzung

Obwohl die Apheresetherapie seit Jahren zur Therapie immunologisch vermittelter Erkrankungen zum Einsatz kommt, gibt es nach wie vor nur wenige Studien zur Effektivität dieser Verfahren. Insbesondere die Unterschiede einzelner Aphereseverfahren bezüglich der Immunglobulinreduktion sind bislang noch nicht ausreichend erforscht. Ziel der Dissertation ist der Vergleich der am häufigsten eingesetzten Aphereseverfahren bezogen auf die Immunglobulinreduktion. Gegenübergestellt werden die Ergebnisse von Plasmaseparation, nicht regenerierbarer Immunadsorption und regenerierbarer Immunadsorption. Untersucht wird die Reduktion der Immunglobuline IgG, IgM und IgA. Zusätzlich wird die prozentuale Immunglobulinreduktion bezogen auf das behandelte Plasmavolumen untersucht. Somit wird ein direkter Vergleich der Aphereseverfahren, unabhängig von der durch das Verfahren bedingten Begrenzung des behandelbaren Plasmavolumens, möglich.

2 Patienten und Methoden

2.1 Patienten

Im Rahmen der Studie wurde eine retrospektive Auswertung der Daten von 45 Patienten durchgeführt, die zwischen 2008 und 2010 aufgrund von immunologisch vermittelten Erkrankungen in der Nephrologischen Klinik der Universität Düsseldorf mithilfe von Immunadsorption oder Plasmaaustausch behandelt wurden. Das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Behandlung betrug im Mittel 49,9 Jahre, mit einem Median von 48 Jahren. 28 der Patienten waren Frauen und 17 Männer. Insgesamt konnten retrospektiv die Daten von 198 Behandlungen mit der regenerierbaren Immunadsorptionssäule in 31 Zyklen bei 18 Patienten ausgewertet werden. Bei der Plasmaseparationsbehandlung konnten 235 Behandlungen in 38 Zyklen bei 30 Patienten ausgewertet werden. Bei der nicht regenerierbaren Immunadsorption sind Daten von 4 Patienten mit 17 Behandlungseinheiten in 5 Zyklen ausgewertet worden (siehe Tabelle 2). Von den genannten Patienten wurden insgesamt 5 Patienten mit verschiedenen Apheresearten therapiert: 2 Patienten wurden mit der regenerierbaren Immunadsorption und der Plasmaseparation therapiert. 3 Patienten erhielten sowohl die regenerierbare, als auch die nicht regenerierbare Immunadsorption. Ein Patient wurde mit allen drei Aphereseverfahren behandelt.

Tabelle 2: Übersicht des Patientenkollektivs mit Anzahl der Patienten, Anzahl der untersuchten Behandlungen und Zyklen

	Plasmaseparation	Regenerierbare Immunadsorption	Nicht regenerierbare Immunadsorption
Patienten	30	18	4
Behandlungen	235	198	17
Zyklen	38	31	5

Behandelt wurden Patienten mit Erkrankungen, die therapierefraktär gegenüber konservativen Therapien waren und die sich im akuten Schub ihrer Erkrankung befanden.

Vom Plasmaaustausch wurden Patienten mit bekannten allergischen Reaktionen auf Fresh Frozen Plasma oder Humanalbumin ausgeschlossen. Die Einnahme von ACE-Hemmern oder Sartanen stellte aufgrund einer möglichen Bradykininbildung eine Kontraindikation für

die Immunadsorption dar. Für beide Behandlungen wurden Patienten mit akuten Infektionskrankheiten ausgeschlossen. Die Patienten mussten über 18 Jahre alt sein (siehe Tabelle 3). Die Plasmaseparation erfolgte primär gegen den Austausch von 5%igem Humanalbumin. Im Verlauf wurde abhängig vom Fibrinogen- und AT3-Gehalt des Plasmas zusätzlich oder ausschließlich mit Fresh Frozen Plasma substituiert. Bei Patienten mit vorhersehbaren Blutungsneigungen wurde ebenfalls Fresh Frozen Plasma zum Substitut hinzugefügt. Bei den Indikationen HUS und TTP wurde die Plasmapherese primär eingesetzt und das Plasma der Patienten durch Fresh Frozen Plasma ersetzt.

Eine Immunadsorption mittels regenerierbarer Immunadsorptionssäule war indiziert bei Patienten, bei denen eine höhere Anzahl an erforderlichen Behandlungen von mindestens fünf oder mehr vermutet wurde.

Tabelle 3: Übersicht über Ein- und Ausschlusskriterien zur Apheresebehandlung

Einschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> ·Behandlung mit IA oder PS zwischen 2008 und 2010 in der Uniklinik Düsseldorf ·Therapieresistente Erkrankungen im akuten Schub ·Alter über 18 Jahre
Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> ·Akute Infektionskrankheiten ·Einnahme von ACE-Hemmern bei der IA ·Bekannt Allergie auf FFP oder Humanalbumin

Ein Großteil der Patienten erhielt aufgrund ihrer Erkrankungen während der Behandlungszyklen Kortikosteroide und/oder Immunsuppressiva.

2.2 Methoden

Die Plasmaseparation wurde mit dem Apheresegerät-Gerät „Octo Nova“ der Firma Diamed und dem Plasmafilter „Plasmaflo OP 05W“ der Firma Asahi Kasei Medical Co., Ltd. durchgeführt.

Der Plasmafilter diente der Abtrennung von Plasma aus dem Vollblut. Das Gerät „Octo Nova“ steuert und überwacht den extrakorporalen Kreislauf, die Gabe der Antikoagulantien und bilanziert die Flüssigkeitszu- und -abfuhr des Patienten über den extrakorporalen Kreislauf.

Die nicht regenerierbare Immunadsorption wurde ebenfalls mit dem Apheresegerät „Octo Nova“ der Firma Diamed und dem Plasmafilter „Plasmaflo OP 05W“ durchgeführt. Als Immunadsorptionssäule diente der Tryptophan-Polyvenylalkohol-Adsorber „Immosorba TR-350“ der Firma Asahi Kasei Medical Co., Ltd.

Die regenerierbare Immunadsorption wurde mit dem Hämoadsorptionsgerät „Art Universal“ und dem Adsorptionmonitor „ADAsorb“ durchgeführt. Das Hämoadsorptionengerät „Art Universal“ ist für die Betreibung und Überwachung des extrakorporalen Blutkreislaufs zuständig. Der Adsorptionsmonitor „ADAsorb“ steuert den Wechsel von Plasmaadsorption und Regeneration der Immunadsorptionssäulen. Als Immunadsorptionssäule diente die regenerierbare Protein-A-Doppelsäule „Immosorba“ der Firma Fresenius Medical Care.

2.2.1 Vorbereitung und Blutabnahme

Um das Anschließen der Patienten an den extrakorporalen Blutkreislauf zu ermöglichen, erhielten die Patienten vor der Apheresebehandlung einen Shaldon-Katheter. Dies ist ein großer, doppellumiger zentraler Venenkatheter, der z.B. über die Vena jugularis interna oder die Vena subclavia eingeführt wird.

Um die erwünschte Immunglobulinreduktion durch die Apheresebehandlung zu untersuchen wurde den Patienten Blut abgenommen und die Immunglobulinspiegel der Klassen IgG, IgM und IgA im Plasma bestimmt. Abhängig von den unterschiedlichen Behandlungsvolumina der Aphereseverfahren wurde das Blut zu bestimmten Zeitpunkten abgenommen: Bei der Plasmaseparation erfolgte die Blutabnahme vor und nach der Behandlung. Bei der Immunadsorption durch die regenerierbare Säule wurde vor Beginn der Behandlung, nach zwei Litern Behandlungsvolumen, nach vier Litern und am Ende der Behandlung Blut entnommen. Die Immunadsorption durch die nicht regenerierbare Säule erforderte die Blutabnahme vor der Behandlung, nach einem Liter und nach der Behandlung, also nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen.

2.2.2 Behandlungsvolumina

Durch die regenerierbare Protein-A-Säule konnte das zweifache Plasmavolumen der Patienten behandelt werden. Bei der nicht regenerierbaren Tryptophansäule wurden zwei Liter des Plasmavolumens behandelt. Durch die Plasmaseparation wurde das einfache Plasmavolumen der Patienten ausgetauscht.

- Plasmaseparation → Einfaches Plasmavolumen
- Tryptophansäule → Zwei Liter Plasma
- Regenerierbare Immunadsorptionssäule → Zweifaches Plasmavolumen

Die Plasmavolumina der einzelnen Patienten werden aus vier verschiedenen Parametern berechnet: Geschlecht, Gewicht, Größe und Hämatokrit. Als Hilfsmittel zur Berechnung diente ein sogenannter Plasmaschieber. Die einzelnen Parameter werden hier übereinander geschoben, sodass das einfache Plasmavolumen eines Patienten abgelesen werden kann.

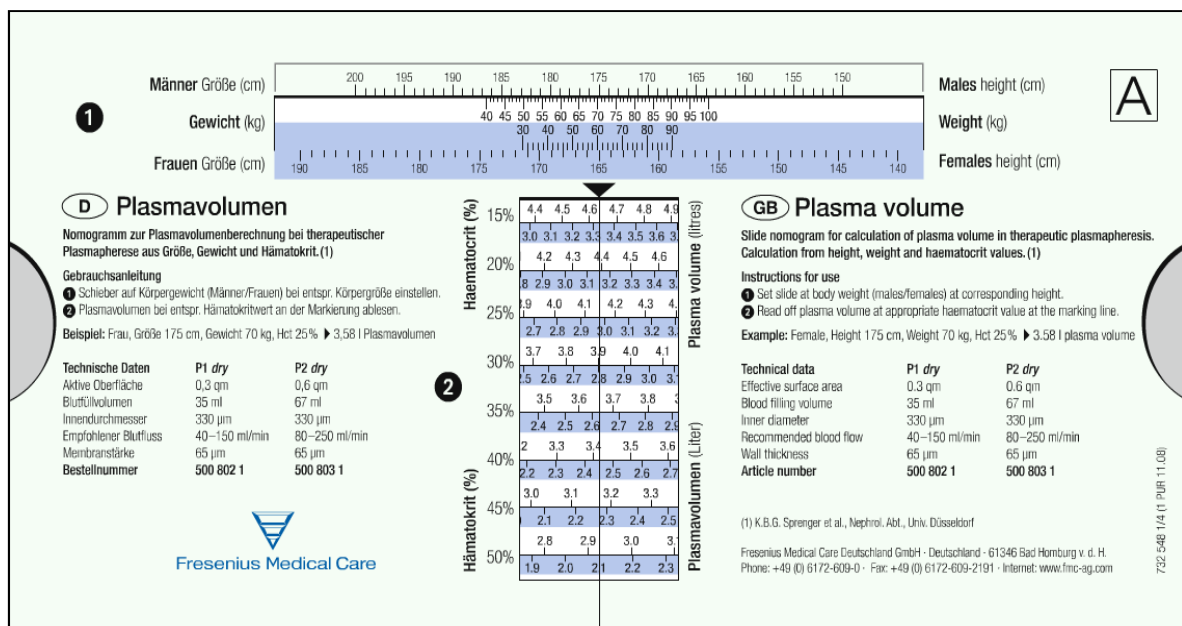


Abb. 9: Plasmaschieber als Hilfsmittel zur Berechnung des individuellen Plasmavolumens eines Patienten. Durch die Parameter Geschlecht, Gewicht, Größe und Hämatokrit kann das Plasmavolumen abgelesen werden.

2.2.3 Antikoagulation

Vor der Behandlung erfolgte eine Bolusgabe von 2500 IE Heparin. Zur Antikoagulation wurde den Patienten im Rahmen der Behandlung entweder Heparin verabreicht, das Blut des extrakorporalen Kreislaufs mit Zitrat versetzt oder beide Antikoagulationsmethoden eingesetzt. Bei der Antikoagulation mit Zitrat waren folgende Zielparameter anzustreben:

- Extrakorporales ionisiertes Kalzium (Postfilter-Kalzium): 0,2-0,3 mmol/l
- Systemisches ionisiertes Kalzium: 0,9-1,2 mmol/l

Für die Heparinantikoagulation war das 1,5-2fache des Basiswertes des Activated Coagulation Time Test (ACT) anzustreben [6]. Dieser Basiswert wurde vor Beginn der Heparinisierung gemessen.

2.2.4 Überwachung und Blutkontrollen

Während den Behandlungen wurden in regelmäßigen Abständen der Blutdruck und der Puls kontrolliert. Circa stündlich wurde den Patienten Blut abgenommen, um eine Blutgasanalyse und eine Kontrolle des ACT-Werts durchzuführen. Die Blutgasanalyse wurde mit dem Gerät „ABL 700 Series“ der Firma Radiometer Copenhagen auf der Dialysestation durchgeführt. Der ACT-Wert wurde mit dem Gerät „ACTester“ der Firma Quest Medical, Inc. durchgeführt.

Die Immunglobulinwerte im Blut wurden wie in Kapitel 2.2.1 beschrieben abgenommen.

2.3 Dokumentation

Die Dokumentation der einzelnen Behandlungen erfolgte jeweils auf einem dafür hergestellten Behandlungsprotokoll. Die Eintragung der einzelnen Parameter erfolgte circa stündlich. Die Abbildung 10 zeigt das Behandlungsprotokoll für die regenerierbare Immunadsorptionsbehandlung. Abbildung 11 zeigt das Behandlungsprotokoll für die Plasmaseparation und die nicht regenerierbare Immunadsorption mit dem Apheresegerät „Octo Nova“.

ZENTRUM: Behandlungsprotokoll Art Universal u. ADA sorb															
V-Patientendaten				Durchgeführte Behandlung&Chargennummern:				Daten zur Antikoagulation							
Name:	Geburtsdatum:			<input type="checkbox"/> ADA sorb Immunosorba <input type="checkbox"/> ADA sorb DB01/DB04-Immunosorba <input type="checkbox"/> ADA sorb DB01/DB04-Globaffin				Heparin Initial: IE		Heparin kont.: IE/h					
Behandlungsdatum:		Behandlungsnummer:						Start mit Säule: <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2							
Gewicht vor Beh.:	kg	Gew. nach Beh.:	kg	Säule 1		Ch.Nr.:		Ca-Spiegel im Blut		Ca++:	ml/h	Ca++ per os: mg			
Größe	cm	Hkt.	%	Säule 2		Ch.Nr.:				Ca++ gesamt:		Ca++ gesamt:			
Patientes Plasmavolumen:			ml	DB01/DB04 Set		Ch.Nr.:									
Geplantes Plasmavolumen:			fach	Art-Kit		Ch.Nr.:									
Behandeltes Plasmavolumen:			ml	plasmaFlux P2 dry		Ch.Nr.:									
Durchgeführte Zyklen gesamt:										Gefäßzugang		ZVK	peripher venös		

Uhrzeit	RR	Puls	Blutfluss	Eingangsdruck	Rücklaufdruck	TMP 1	Plasmarate	Fluss Plasma	ACD-A	Plasmafluss ADA sorb	Ladevolumen	Istvolumen Plasma	Bemerkung
h:min	mmHg		ml/min	mmHg	mmHg	mmHg	%	ml/min		ml/min	ml		

Behandlungsbeginn:	Konservierung durchgeführt: <input type="checkbox"/> Ja
Bemerkungen:	Unterschrift:

Abb. 10: Behandlungsprotokoll für die regenerierbare Immunadsorptionsbehandlung

Behandlungsprotokoll		Station: _____		Datum: _____														
Name: _____		Geburtsdatum: _____																
Behandlungsverfahren:		PS <input type="checkbox"/>	IA <input type="checkbox"/>	HD <input type="checkbox"/>	Citratlösung: Na-Citrat 4% <input type="checkbox"/> andere: _____													
Filter: _____		Zugang: _____		Beginn: _____	Ende: _____													
Austauschmenge: _____ ml		HF - 24 Lsg. _____ ml	HA 20% _____ ml	FFP's _____ ml														
Anmerkung:																		
Zeit:	RR	P	Pa	Pv	TMP	P vor Plasma Filter	P vor Adsorber	Blutfluss ml/min	Filtratfluss ml/min	Ca-fluss ml/h	Verhältnis Citrat/Blutfluss	Ca n. Patient Ziel 1,0-1,4 mmol/l	Ca n. Patient Ziel 0,25-0,4 mmol/l	ACT im System	K <input type="checkbox"/>	Na <input type="checkbox"/>	BZ	Bemerkung
Besonderheiten:														UF (netto) _____				
Geräretyp/Nr.: _____														Zeit _____				
Desinfektionsmittelfrei: <input type="checkbox"/>														Isolierte UF _____				
Infektionsstatus: _____														ACT _____				
														K+ _____				
														Arzt: _____				

Abb. 11: Behandlungsprotokoll für die nicht regenerierbare Immunadsorptionsbehandlung und die Behandlung mit Plasmaseparation

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten und die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgten mit den Programmen „Microsoft Excel 2013“ und „Statistical Package for the Social Science“ (SPSS) Version 23.0. Berechnet wurden die Mittelwerte, die Standardabweichungen, die Mediane, die Quartile und die Prozentwerte. Mediane werden als Md bezeichnet, Quartile als Q.

Zur Auswertung der Datenreihen wurden zunächst als Anhaltspunkte die Mediane der Messreihen miteinander verglichen. Um abzuschließen, dass es sich bei den Differenzen um signifikante Unterschiede handelt, wurde bei unabhängigen Stichproben und kleinen Fallzahlen der nicht-parametrische Mann-Whitney U-Test angewandt. Da damit zu rechnen war, dass gelegentlich gleiche Werte unter den Daten, sogenannte verbundene Ränge, vorkommen, wurde für den Mann-Whitney-U-Test eine Korrektur der Standardabweichung für verbundene Ränge benutzt [39]. Die Signifikanztests wurden bei ungerichteten Hypothesen zweiseitig, bei gerichteten Hypothesen einseitig durchgeführt.

Wenn nicht anders vermerkt, wurde ein Signifikanzniveau von 5% gewählt.

Bei den Ergebnissen des Mann-Whitney-U-Tests wurden jeweils die Werte U, z und p angegeben. Hier steht U für die Prüfgröße der Rangplatzüberschreitungen und z für die daraus gewonnene normalisierte Statistik. Bei der Normierung von z wurden eventuell vorhandene

verbundene Ränge berücksichtigt. p deutet an, in wie weit das Signifikanzniveau (0,05) ausgeschöpft wurde. Die Statistik z ist angenähert Standard-normalverteilt. Daraus ergibt sich bei einseitigen Tests und dem gewählten Signifikanzniveau (0,05) ein kritischer Wert für z von 1,6449, bei zweiseitigen Tests ist der kritische Wert 1,96.

2.5 Ethik

Von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf wird die Studie unter dem Aktenzeichen 5363 geführt.

3 Ergebnisse

In den folgenden Abschnitten wird die Reduktion der verschiedenen Immunglobuline durch Plasmaaustausch (abgekürzt: PS), Immunadsorption mit regenerierbarer Protein-A-Säule (abgekürzt: reg. IA) und durch Immunadsorption mit nicht regenerierbarer Tryptophansäule (abgekürzt: n. reg. IA) untersucht. Wie oben in Kapitel 2.2.1 erwähnt, werden durch die verschiedenen Aphereseverfahren unterschiedliche Plasmavolumina behandelt und die Immunglobulinreduktion zu bestimmten Zeitpunkten, abhängig von den behandelten Plasmavolumina, gemessen. Da ein nicht-parametrischer Test benutzt wurde, wird auf die Mediane eingegangen. In den Diagrammen sind die Mediane und Quartile mittels Boxplots dargestellt.

Im Folgenden werden die Immunglobulinklassen IgG, IgM und IgA jeweils getrennt behandelt. Verglichen wird die Immunglobulinreduktion durch die drei vorgestellten Verfahren jeweils zum Ende einer Behandlungseinheit. Außerdem wurde die Reduktion für die regenerierbare und nicht regenerierbare Immunadsorption nach jeweils zwei Litern behandelten Blutplasmas untersucht und verglichen.

Für IgG wird exemplarisch außerdem die Entwicklung der prozentualen Reduktion des Immunglobulins während einer Behandlungseinheit für die regenerierbare und die nicht regenerierbare Immunadsorption dargestellt.

Bei einigen wenigen Patienten aus dem vorliegenden Patientenkollektiv wurden mehrere Aphereseverfahren angewandt. Für eine statistische Betrachtung sind die Fallzahlen deutlich zu gering. Diese Daten werden im Anschluss an den Effektivitätsvergleich als Fallbeispiele dargestellt.

Zum Schluss wird anhand eines Fallbeispiels der Verlust von Fibrinogen als typische Nebenwirkung der Immunadsorption mittels Tryptophansäule beschrieben.

3.1 Effektivitätsvergleich der Immunglobulinreduktion: IgG

3.1.1 IgG-Reduktion nach vollständiger Behandlung

Die Abbildung 12 zeigt die Reduktion von IgG jeweils nach einer erfolgten Behandlungseinheit, verglichen mit dem Wert vor einer Behandlung. Dargestellt ist die IgG-Reduktion

in Prozent für die Plasmaseparation (PS), die regenerierbare Immunadsorption (reg. IA) und die nicht regenerierbare Immunadsorption (n. reg. IA). Die Werte der Mediane (Md = ½-Quantil) sowie unteres und oberes Quartil Q sind nochmals in Tabelle 1 dargestellt.

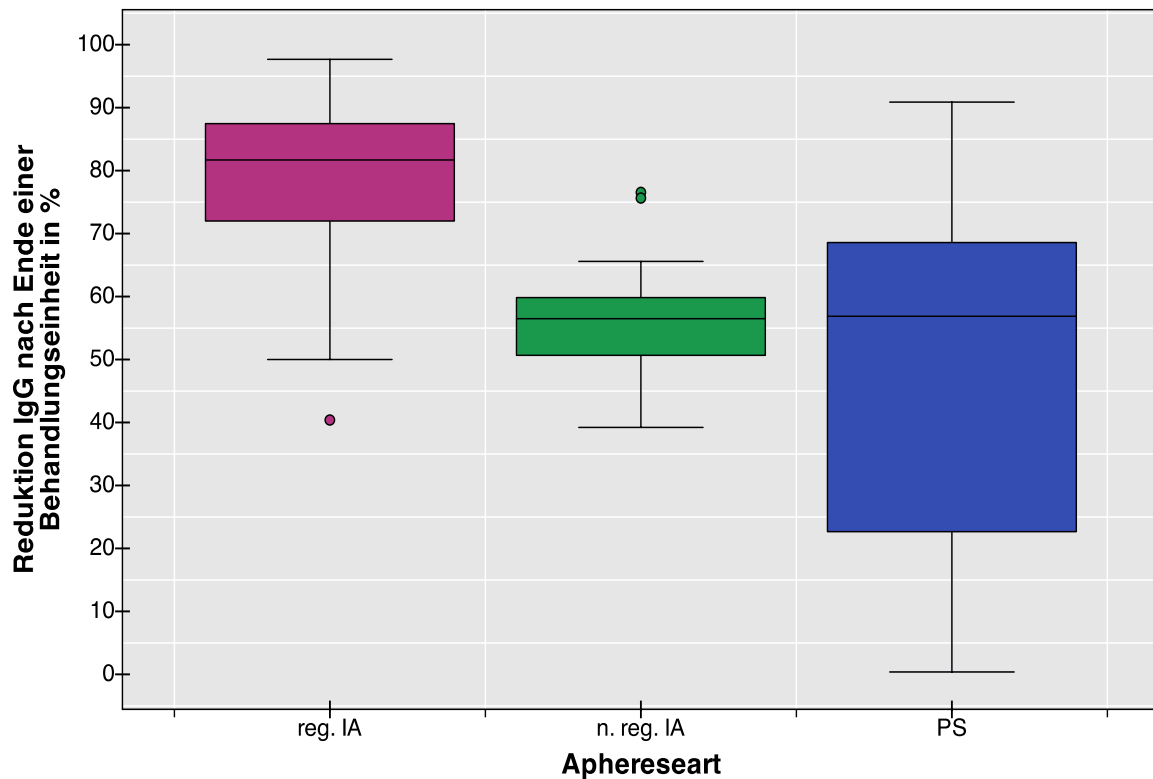


Abb. 12: Vergleich der IgG-Reduktion nach Abschluss einer Behandlungseinheit. Insgesamt zeigte die regenerierbare Immunadsorptionssäule (links) eine höhere IgG-Reduktion als die Plasmaseparation (rechts) [Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,0001$] und die nicht regenerierbare Immunadsorption (mittig) [Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,0001$].

Insgesamt senkte die regenerierbare Immunadsorptionssäule den Median des IgG-Spiegels um 82%. Die nicht regenerierbare Immunadsorptionssäule reduzierte den IgG-Spiegel um 56% und die Plasmaseparation senkte den IgG-Spiegel um 57%.

Die Reduktionsergebnisse für das Immunglobulin G durch die regenerierbare Immunadsorptionssäule waren signifikant höher als die Ergebnisse der anderen beiden Verfahren. (für PS: $U=5327$, $z=7,6943$, $p < 0,0001$; für nicht regenerierbare Immunadsorption: $U=1247$, $z=5,103$, $p < 0,0001$).

Die Ergebnisse der Immunglobulinreduktion für die Plasmaseparation (PS) und die Tryptophansäule (n. reg. IA) nach Ende einer Behandlungseinheit waren nicht wesentlich verschieden: Der zweiseitige Mann-Whitney-U-Test ergab zum Signifikanzniveau 5% keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 4: Übersicht der Mediane und Quartile der IgG-Reduktion nach Abschluss einer Behandlung

	Md (Q)
PS	57% (23–69)
reg. IA	82% (72–87)
n. reg. IA	56% (51–60)

3.1.2 Verlauf der IgG-Reduktion während einer Behandlungseinheit

Im Folgenden werden die prozentual adsorbierten IgG-Mengen im Verlauf einer Behandlungseinheit für beide Immunadsorptionsverfahren zum Zeitpunkt der einzelnen Blutabnahmen untersucht. Dargestellt wird jeweils die prozentuale IgG-Reduktion zwischen zwei, während der Behandlungseinheit durchgeführten, Blutabnahmen.

Regenerierbare Immunadsorption

Untersucht wurde die jeweilige prozentuale IgG-Reduktion in den folgenden Behandlungsabschnitten:

1. Abschnitt: von der ersten Blutabnahme (zu Beginn der Behandlung) bis zur zweiten Blutabnahme (nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen)
2. Abschnitt: von der zweiten Blutabnahme (nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen) bis zur dritten Blutabnahme (nach vier Litern behandeltem Plasmavolumen)
3. Abschnitt: von der dritten Blutabnahme (nach vier Litern behandeltem Plasmavolumen) bis zum Ende der Behandlung (nach Behandlung des zweifachen Plasmavolumens)

Abbildung 13 zeigt diese zeitliche Entwicklung der IgG-Reduktion bei der Protein-A-Säule. Zugrunde gelegt wurde jeweils die prozentuale IgG-Reduktion in dem fraglichen Abschnitt bezogen auf den IgG-Wert zu Beginn dieses Abschnittes.

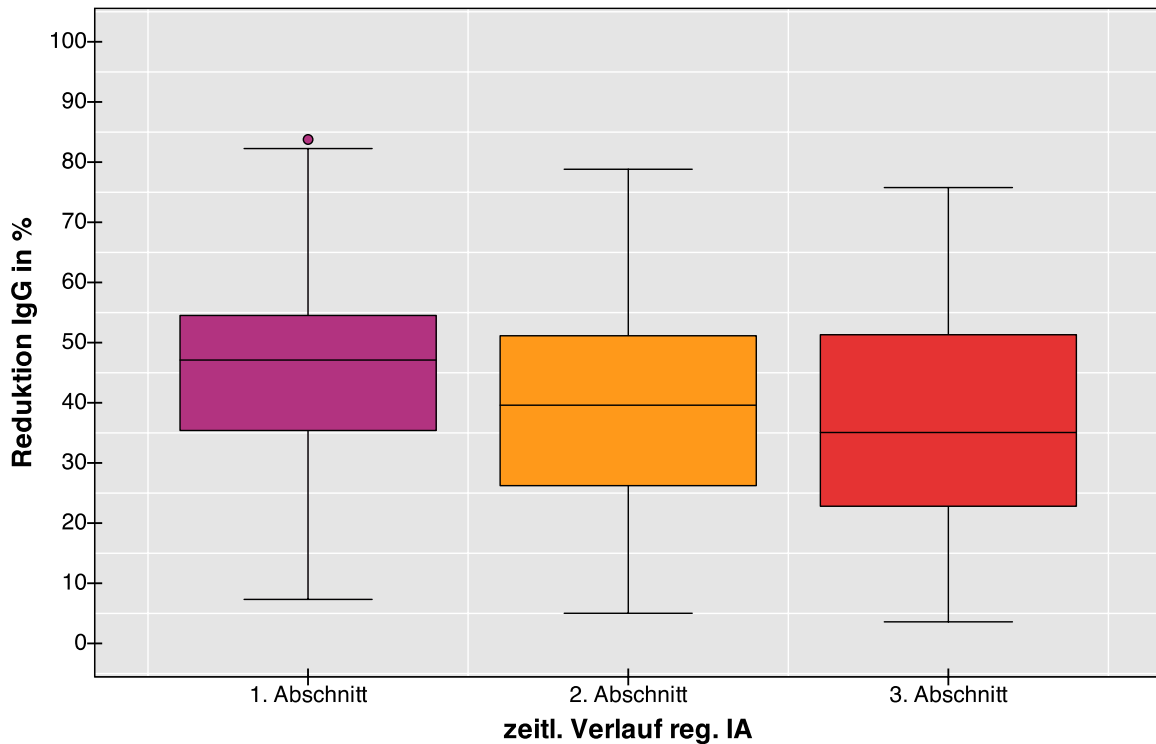


Abb. 13: Zeitlicher Verlauf der IgG-Reduktion während einer Behandlungseinheit mit der regenerierbaren Immunadsorption. Deutlich wird, dass die IgG-Reduktion im Verlauf einer Behandlungseinheit abnimmt. Während des ersten Abschnittes (links) zeigte sich eine höhere IgG-Reduktion, als im zweiten Abschnitt (mittig) und im dritten Abschnitt (rechts).

Während des ersten Behandlungsabschnittes wurde die IgG-Menge im Median um 47% reduziert, im zweiten Abschnitt um 40 % und dritten Abschnitt um 35%.

Nicht regenerierbare Immunadsorption

Untersucht wurde hier die prozentuale IgG-Reduktion in den folgenden Behandlungsabschnitten: 1. Abschnitt: von der ersten Blutabnahme (zu Beginn der Behandlung) bis zur zweiten Blutabnahme (nach einem Liter behandeltem Plasmavolumen)

2. Abschnitt: von der zweiten Blutabnahme (nach einem Liter behandeltem Plasmavolumen) bis zur dritten Blutabnahme (nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen, also nach Ende der Behandlung)

Abbildung 14 zeigt die Entwicklung der IgG-Reduktion während einer Behandlungseinheit bei der Tryptophan-Säule. Zugrunde gelegt wurde jeweils die prozentuale IgG-Reduktion in dem fraglichen Abschnitt bezogen auf den IgG-Wert zu Beginn dieses Abschnittes.

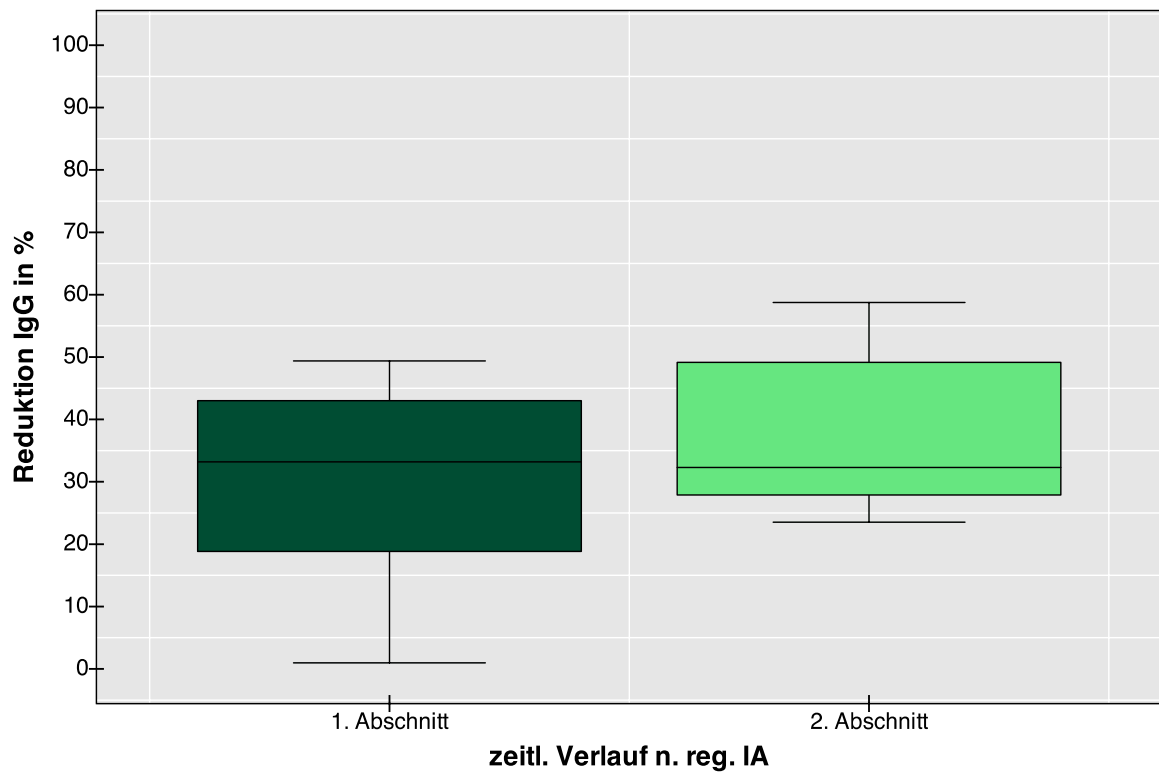


Abb. 14: Zeitlicher Verlauf der IgG-Reduktion während einer Behandlung mit der nicht regenerierbaren Immunadsorption. Hier zeigt sich, dass der Median der IgG-Reduktion des zweiten Abschnittes (rechts) knapp über dem Median des ersten Abschnittes (links) liegt.

Während des ersten Behandlungsabschnittes wurde der Median der IgG-Konzentration um 33 % reduziert, im zweiten Abschnitt um 32%.

3.1.3 IgG-Reduktion nach 2 Litern behandeltem Plasma

Bei der nicht regenerierbaren Tryptophansäule wurden insgesamt zwei Liter Blutplasma behandelt. Auch für die Protein-A-Säule liegen Werte für das Immunglobulin G nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen vor.

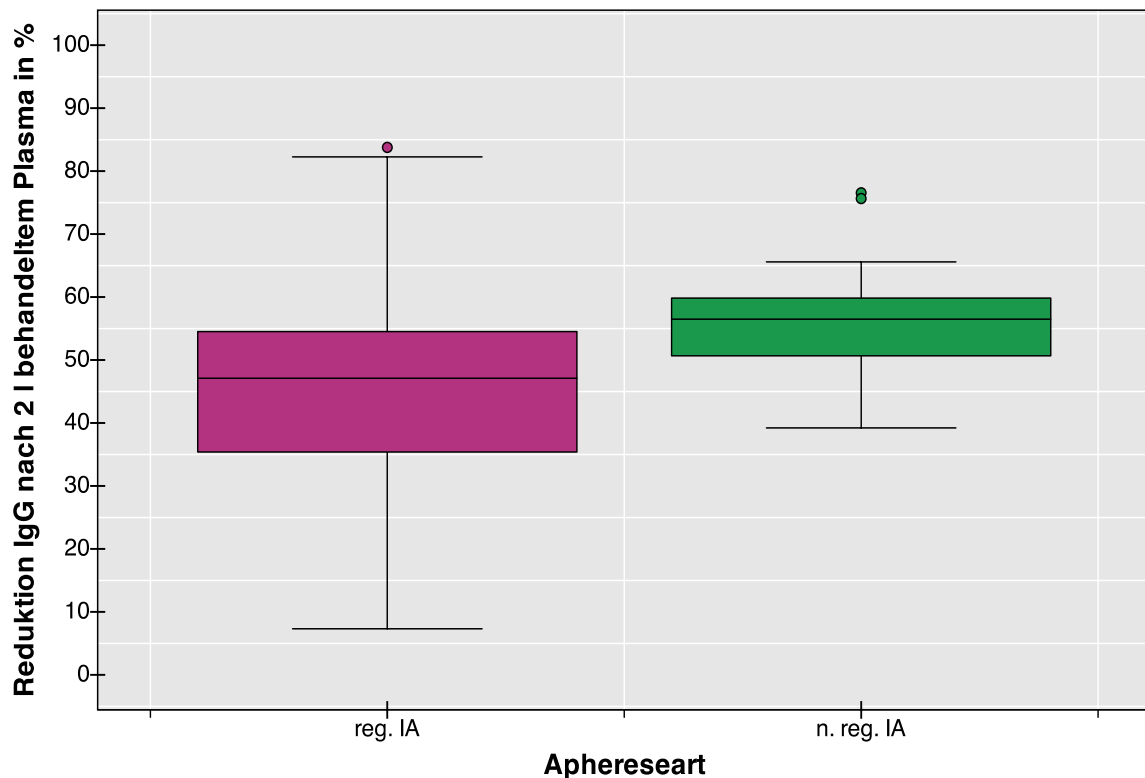


Abb. 15: Vergleich der IgG-Reduktion nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen für die regenerierbare Immunadsorption und die nicht regenerierbare Immunadsorption. Insgesamt zeigte die nicht regenerierbare Immunadsorptionssäule (rechts) nach zwei Litern eine höhere IgG-Reduktion als die regenerierbare Immunadsorptionssäule (links) [Mann-Whitney-U-Test, $p=0,0035$].

Nach zwei Litern zeigte die nicht regenerierbare Säule eine IgG-Reduktion von 56 %. Die regenerierbare Immunadsorptionssäule zeigte nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen eine Reduktion von 47 %. Durch die Tryptophansäule konnte demnach nach zwei Litern eine höhere IgG-Reduktion erzielt werden. Diese Beobachtung ließ sich statistisch absichern: Der Mann-Whitney-U-Test zeigte, dass die nicht regenerierbare Immunadsorptionssäule nach zwei Litern signifikant mehr IgG reduzierte, als die regenerierbare Immunadsorptionssäule ($U=1049$, $z=3,2659$, $p=0,0035$).

An dieser Stelle soll erwähnt werden, dass die regenerierbare Säule bereits nach vier Litern behandeltem Blutplasma eine höhere Reduktion zeigte als die nicht regenerierbare Säule nach Ende der Behandlung (zwei Liter), wie der Mann-Whitney-U-Test zeigt ($U=987,5$, $z=2,6953$, $p=0,0035$).

3.2 Effektivitätsvergleich der Immunglobulinreduktion: IgM

3.2.1 IgM-Reduktion nach vollständiger Behandlung

Die Abbildung 16 zeigt die Reduktion von IgM jeweils nach einer erfolgten Behandlungseinheit. Dargestellt ist die IgM-Reduktion in Prozent für die Plasmaseparation (PS), die regenerierbare Immunadsorption (reg. IA) und die nicht regenerierbare Immunadsorption (n. reg. IA). Die Werte der Mediane (Md = ½-Quantil) sowie unteres und oberes Quartil Q sind nochmals in Tabelle 5 dargestellt.

Am Ende der Behandlungseinheiten zeigte die regenerierbare Protein-A-Säule eine Reduktion von 45%, die nicht regenerierbare Immunadsorptionssäule eine Depletion von 64% und die Plasmaseparation entfernte 56% der Immunglobuline M aus dem Plasma.

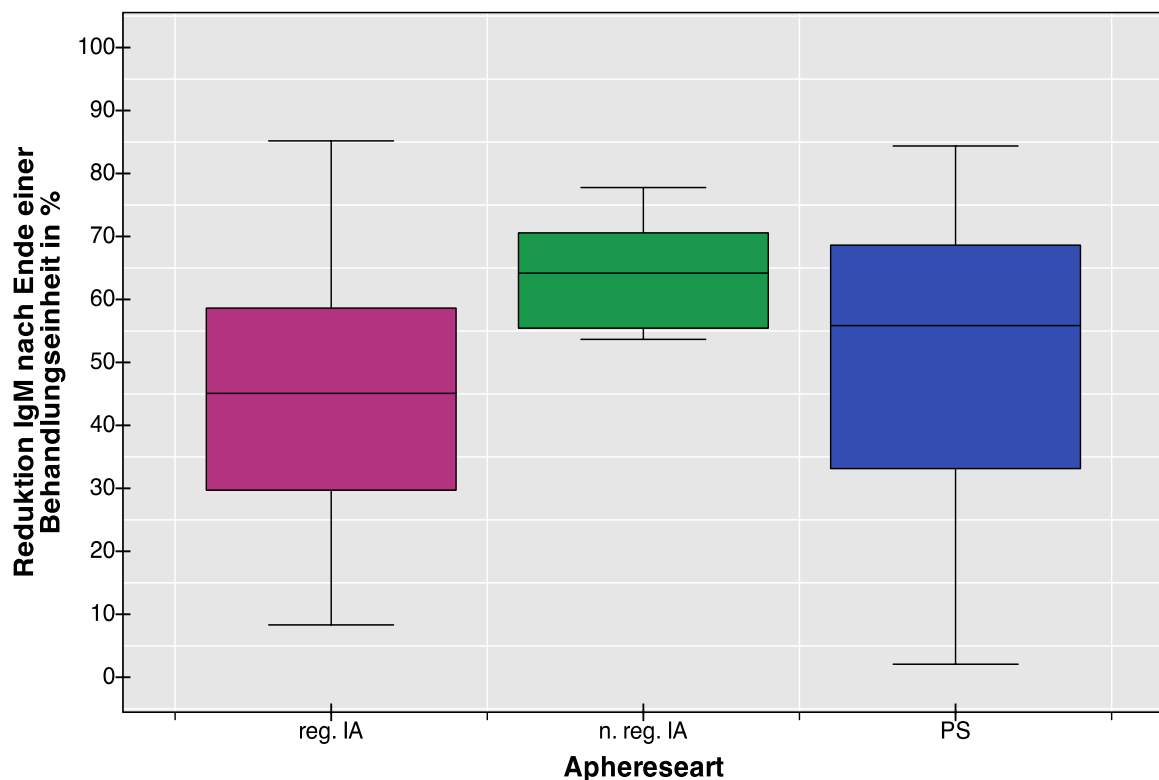


Abb. 16: Vergleich der IgM-Reduktion nach Abschluss einer Behandlung. Insgesamt zeigte die nicht regenerierbare Immunadsorption (mittig) eine höhere IgM-Reduktion als die Plasmaseparation (rechts) [Mann-Whitney-U-Test, $0,03 < p < 0,04$]. Die Plasmaseparation (rechts) wiederum zeigte eine höhere IgM-Reduktion als die regenerierbare Immunadsorption (links) [Mann-Whitney-U-Test, $0,03 < p < 0,04$].

Die Mediane legen die Vermutung nahe, dass die nicht regenerierbare Immunadsorption bezüglich der IgM-Reduktion der Plasmaseparation überlegen war und diese wiederum eine höhere IgM-Reduktion aufwies als die regenerierbare Immunadsorption. Dieser Eindruck

wurde durch den Mann-Whitney-U-Test bestätigt. Die nicht regenerierbare Immunadsorption zeigte eine signifikant höhere IgM-Reduktion als die Plasmaseparation (n. reg. IA im Vergleich mit PS: $U=509$, $z=1.781$, $0.03 < p < 0.04$). Die Plasmaseparation zeigte signifikant höhere Werte als die regenerierbare Immunadsorption (PS im Vergleich mit reg. IA: $U=2615.5$, $z=1.835$, $0.03 < p < 0.04$).

Tabelle 5: Übersicht der Mediane und Quartile der IgM-Reduktion nach Abschluss einer Behandlung

	Md (Q)
PS	56% (34–68)
reg. IA	45% (30–59)
n. reg. IA	64% (56–69)

3.2.2 IgM-Reduktion nach 2 Litern behandeltem Plasma

In diesem Abschnitt wird die IgM-Reduktion nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen für die regenerierbare und die nicht regenerierbare Immunadsorption untersucht.

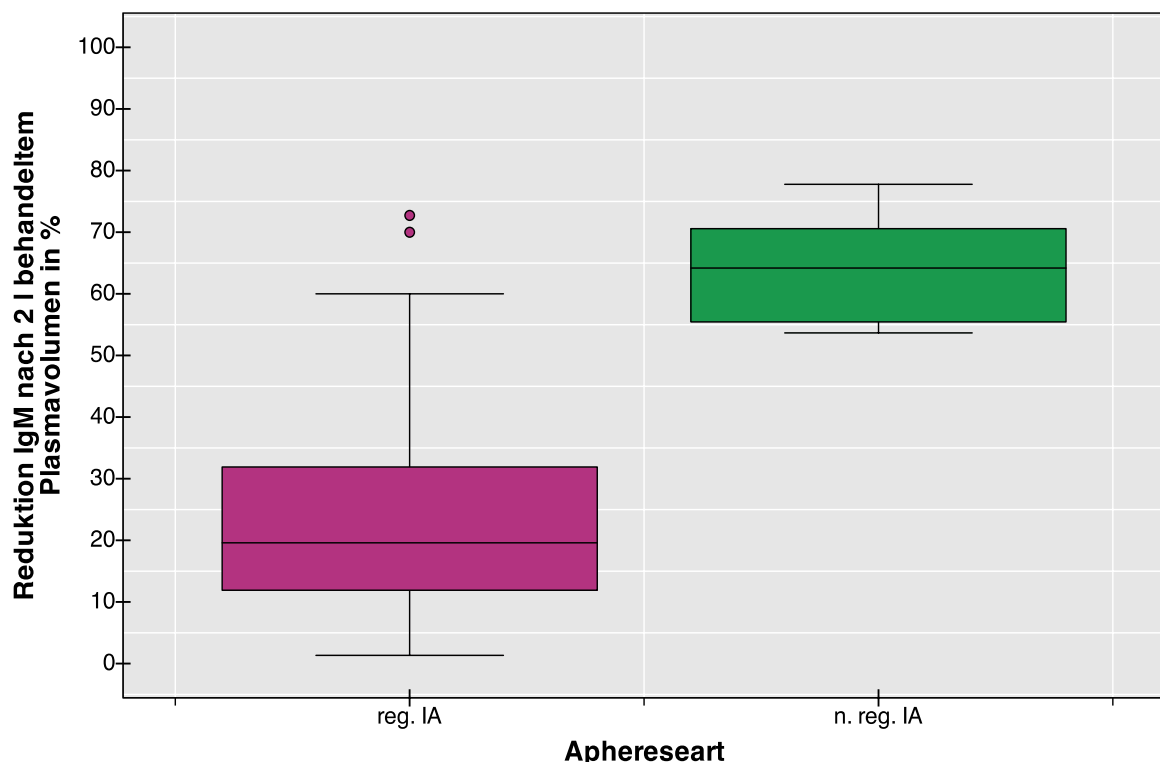


Abb. 17: Vergleich der IgM-Reduktion nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen für die regenerierbare Immunadsorption und die nicht regenerierbare Immunadsorption. Insgesamt zeigte die nicht regenerierbare Immunadsorptionssäule (rechts) nach zwei Litern eine deutlich höhere IgM-Reduktion als die regenerierbare Immunadsorptionssäule (links) [Mann-Whitney-U-Test, $p < 0,0001$].

Nach zwei Litern zeigte die nicht regenerierbare Säule eine erheblich höhere IgM-Reduktion als die regenerierbare (s. Abb. 6, Mann-Whitney-U-Test: $U=754$, $z=4,8082$, $p<0,0001$).

3.3 Effektivitätsvergleich der Immunglobulinreduktion: IgA

3.3.1 IgA-Reduktion nach vollständiger Behandlung

Abbildung 16 zeigt die Ergebnisse der IgA-Reduktion nach Abschluss der jeweiligen Behandlung mittels Plasmaseparation, regenerierbarer Immunadsorption und nicht regenerierbarer Immunadsorption. Die Mediane ($Md = \frac{1}{2}$ -Quantil) sowie unteres und oberes Quartil Q sind nochmals in Tabelle 8 dargestellt.

Die Plasmaseparation (PS) zeigte eine IgA-Reduktion um 54%, die Tryptophansäule (n. reg. IA) zeigte eine Reduktion um 32% und die Protein-A-Säule (reg. IA) reduzierte das Immunglobulin A um 29%.

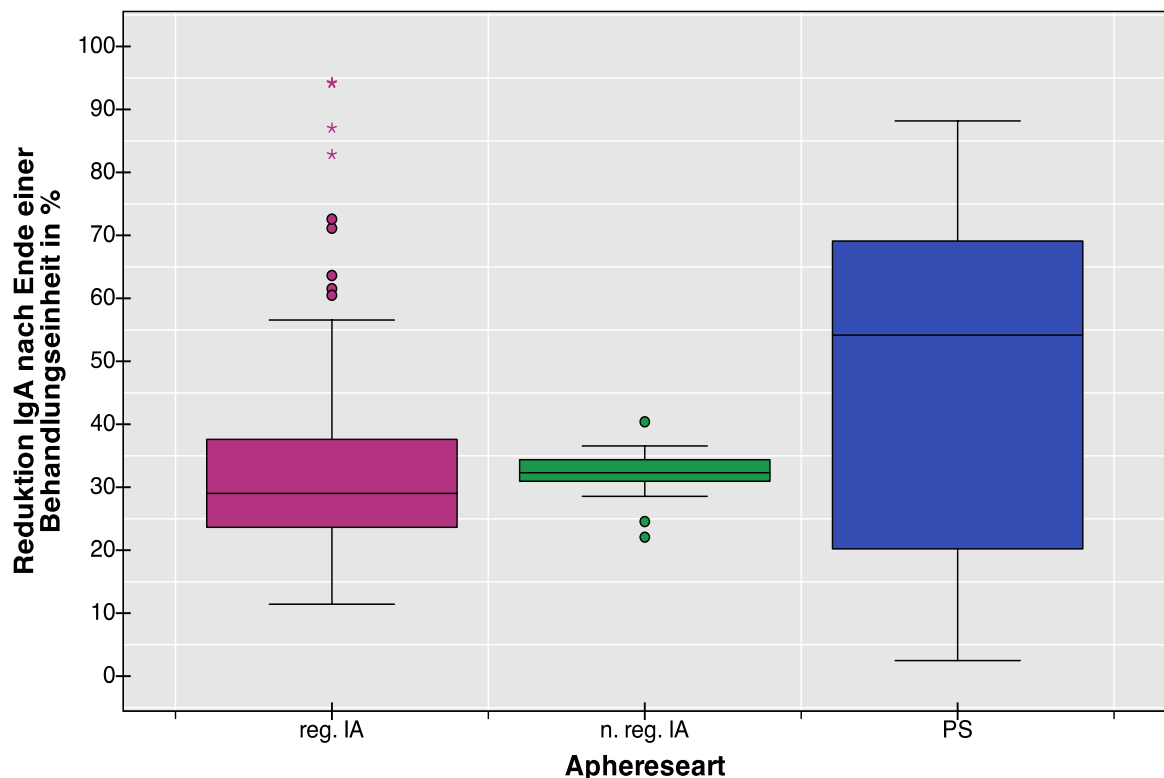


Abb. 18: Vergleich der IgA-Reduktion nach Abschluss einer Behandlung. Insgesamt zeigte die Plasmaseparation (rechts) eine höhere IgA-Reduktion als die nicht regenerierbare Immunadsorption (mittig) [Mann-Whitney-U-Test, $p<0,024$] und die regenerierbare Immunadsorption (links) [Mann-Whitney-U-Test, $p<0,002$].

Der Mann-Whitney-U-Test zeigte, dass die IgA-Reduktion durch die Plasmaseparation (PS) signifikant höher war als durch die nicht regenerierbare Immunadsorption ($U=845,5$, $z=1,98$, $p=0,024$) und die regenerierbare Immunadsorption ($U=4140,5$, $z=2,93$, $p<0,002$). Die Werte der Tryptophansäule (nicht reg. IA) und der regenerierbaren Immunadsorption zeigten keine signifikanten Unterschiede (Zweiseitiger Test, $U=829$, $z=0,87$, $p>0,05$).

Tabelle 6: Übersicht der Mediane und Quartile der IgA-Reduktion nach Abschluss einer Behandlung

	Md (Q)
PS	54% (21–69)
reg. IA	29% (23–38)
nicht reg. IA	32% (31–34)

3.3.2 IgA-Reduktion nach 2 Litern behandeltem Plasma

Auch für IgA wurde die Reduktion nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen für die regenerierbare und die nicht regenerierbare Immunadsorption untersucht.

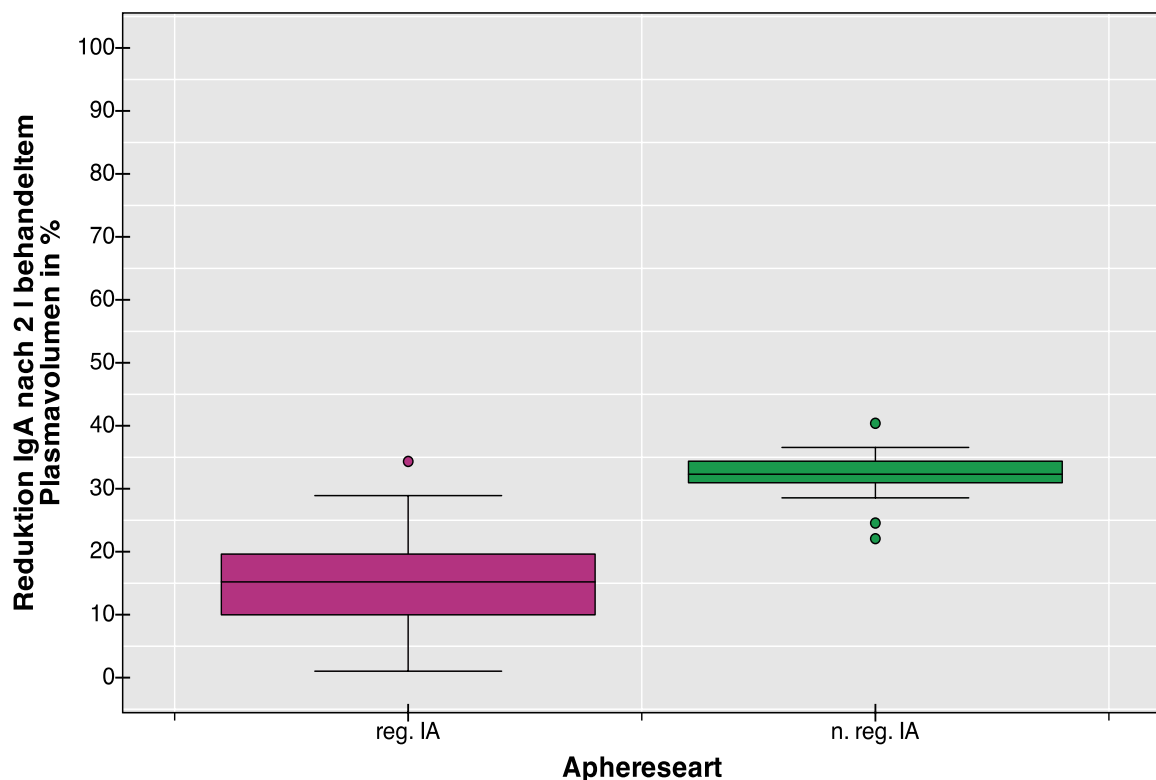


Abb. 19: Vergleich der IgA-Reduktion nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen für die regenerierbare Immunadsorption und die nicht regenerierbare Immunadsorption. Insgesamt zeigte die nicht regenerierbare Immunadsorptionssäule (rechts) nach zwei Litern eine deutlich höhere IgA-Reduktion als die regenerierbare Immunadsorptionssäule (links) [Mann-Whitney-U-Test, $p<0,0001$].

Nach zwei Litern zeigte die nicht regenerierbare Immunadsorptionssäule eine deutlich höhere IgA-Reduktion als die regenerierbare Immunadsorptionssäule ($U=1399$, $z=6,2176$, $p<0,0001$).

3.4 Fallbeispiele

Wie weiter oben beschrieben, werden im Folgenden Fallbeispiele von Patienten betrachtet, die mit mehr als einer Aphereseart behandelt wurden. In den Tabellen werden jeweils die Mediane der Immunglobulinreduktion für die verschiedenen Immunglobuline angegeben.

3.4.1 Plasmaseparation, regenerierbare Immunadsorption und nicht-regenerierbare Immunadsorption im intraindividuellen Vergleich

Bei einer Patientin A wurden alle drei betrachteten Aphereseverfahren angewandt. Im März 2009 erfolgte die Behandlung durch die nicht regenerierbare Immunadsorption (eine Behandlung), Ende April bis Mitte Mai 2009 erfolgte die Behandlung mittels der regenerierbaren Immunadsorption (acht Behandlungen), anschließend erfolgte die Behandlung mittels Plasmaseparation (vier Behandlungen). Die folgende Tabelle enthält die Mediane der Reduktionsergebnisse.

Tabelle 7: Immunglobulinreduktion nach Abschluss der jeweiligen Behandlung mittels nicht regenerierbarer Immunadsorption, regenerierbarer Immunadsorption und Plasmaseparation bei einer Patientin im intraindividuellen Vergleich

	IgG	IgM	IgA
n. reg. IA	51%	54%	40%
reg. IA	63%	27%	27%
PS	74%	61%	73%

In diesem Fallbeispiel war, anders als im statistischen Mittel der vorliegenden Studie, die Immunglobulinreduktion durch die Plasmaseparation bei allen drei Immunglobulinklassen höher als bei den Immunadsorptionsverfahren.

3.4.2 Regenerierbare Immunadsorption und Plasmaseparation im intraindividuellen Vergleich

Bei zwei Patientinnen wurden sowohl die regenerierbare Immunadsorption, als auch die Plasmaseparation angewandt. Bei Patientin B erfolgte die Behandlung mittels Plasmaseparation im Dezember 2008, sowie die Behandlung mittels regenerierbarer Immunadsorption im März 2009. Bei Patientin C erfolgte im Dezember 2008 die Behandlung mittels regenerierbarer Immunadsorption und im März 2009 die Behandlung mittels Plasmaseparation. Die folgenden Tabellen enthalten die Mediane der Reduktionsergebnisse.

Tabelle 8: Immunglobulinreduktion nach Abschluss der jeweiligen Behandlung mittels regenerierbarer Immunadsorption und Plasmaseparation bei Patientin B im intraindividuellen Vergleich

	IgG	IgM	IgA
reg. IA	84%	41%	36%
PS	38%	nicht gemessen	76%

Tabelle 9: Immunglobulinreduktion nach Abschluss der jeweiligen Behandlung mittels regenerierbarer Immunadsorption und Plasmaseparation bei Patientin C im intraindividuellen Vergleich

	IgG	IgM	IgA
reg. IA	63%	35%	25%
PS	81%	68%	61%

3.4.3 Regenerierbare und nicht regenerierbare Immunadsorption im intraindividuellen Vergleich

Bei drei Patienten wurden sowohl die regenerierbare Immunadsorption, als auch die nicht regenerierbare Immunadsorption angewandt.

Patient D wurde im Mai 2009 mit der nicht regenerierbaren Immunadsorption behandelt. Ende Mai/Anfang Juni 2009 erfolgte die Behandlung mittels der regenerierbaren Säule.

Tabelle 10: Immunglobulinreduktion nach Abschluss der jeweiligen Behandlung mittels nicht-regenerierbarer Immunadsorption und regenerierbarer Immunadsorption bei Patient D im intraindividuellen Vergleich

	IgG	IgM	IgA
reg. IA	86%	36%	46%
n. reg. IA	53%	66%	32%

Der Patient E wurde im Februar 2009 mit der nicht regenerierbaren und im März/April 2009 mit der regenerierbaren Immunadsorption behandelt.

Tabelle 11: Immunglobulinreduktion nach Abschluss der jeweiligen Behandlung mittels nicht regenerierbarer Immunadsorption und regenerierbarer Immunadsorption bei Patient E im intraindividuellen Vergleich

	IgG	IgM	IgA
reg. IA	84%	24%	25%
n. reg. IA	76%	55%	25%

Die Patientin F wurde im Juli 2009 sechsmal mittels der nicht regenerierbaren Immunadsorption und einmal mittels der regenerierbaren Immunadsorption behandelt.

Tabelle 12: Immunglobulinreduktion nach Abschluss der jeweiligen Behandlung mittels nicht regenerierbarer Immunadsorption und regenerierbarer Immunadsorption bei Patientin F im intraindividuellen Vergleich

	IgG	IgM	IgA
reg. IA	63%	76%	36%
n. reg. IA	59%	63%	34%

3.4.4 Nebenwirkung: Der Verlust von Fibrinogen durch Tryptophan

Die Verträglichkeit der Aphereseverfahren wurde im Kapitel 2.4 als Literaturübersicht dargestellt. Im Folgenden wird in Form eines Fallbeispiels über eine Patientin berichtet, die an der Universitätsklinik Düsseldorf mit der nicht regenerierbaren Tryptophansäule behandelt wurde und bei der es zu schweren Nebenwirkungen durch den Verlust von Fibrinogen kam: Eine Patientin mit autoimmuner Hypoglykämie und Nachweis von Insulin-Autoantikörpern wurde in der Uniklinik Düsseldorf mittels nicht regenerierbarer Immunadsorptionssäule

(Tryptophansäule) von Ende April bis Ende März 2010 immunadsorbiert. Vor Beginn der Apherese lagen PTT, Quick und Fibrinogen im Blut der Patientin im Normbereich. Während der Immunadsorptionsbehandlung mit der Tryptophansäule zeigten sich deutliche Veränderungen der Gerinnungsparameter. Die Fibrinogenkonzentration sank auf bis zu 60 mg/dl ab (Normwert: 150-450 mg/dl) und stieg nach der Gabe von Spenderplasma wieder an. Der Quickwert fiel regelmäßig nach den Behandlungen von ursprünglich 90% um 30-50 Prozentpunkte ab und erholte sich nach der Gabe von Fresh Frozen Plasma wieder. Auch die Partielle Thromboplastinzeit (PTT) stieg um bis zu 40 Sekunden und senkte sich nach der Gabe von Fresh Frozen Plasma wieder auf den ursprünglichen Wert ab. Nach circa sieben Behandlungseinheiten veränderten sich die Gerinnungsparameter der Patientin drastisch: Die Fibrinogenkonzentration sank auf 60 mg/dl ab, die PTT stieg auf 150 Sekunden an und der Quickwert fiel auf nahezu null Prozent. Nach der Substitution von Fibrinogen durch die Gabe von Fresh Frozen Plasma lagen die Werte wieder im Normbereich. Nach einer weiteren Behandlungseinheit und einer erneuten Gabe von Fresh Frozen Plasma wurde die Immunadsorptionstherapie mit der nicht regenerierbaren Tryptophansäule abgebrochen und die Behandlung mit der regenerierbaren Protein-A-Säule weitergeführt. Hierunter war keine Beeinflussung der Gerinnung mehr zu beobachten.

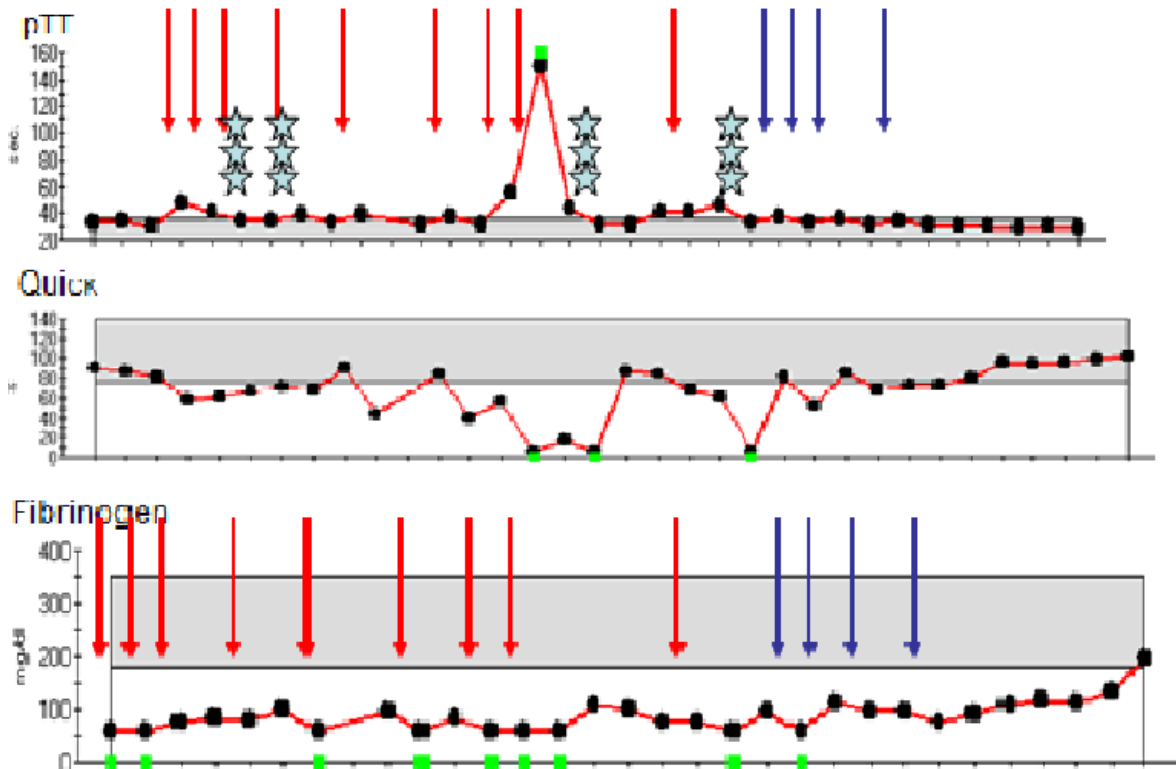


Abb. 20: Verlauf von PTT, Quickwert und Fibrinogen bei einer Patientin mit autoimmuner Hypoglykämie unter Apheresebehandlung. Die roten Pfeile stehen jeweils für eine Behandlung mit der Tryptophansäule, die Sterne für die Gabe von Fresh Frozen Plasma und die blauen Pfeile für die Behandlung mit der regenerierbaren Immunadsorptionssäule (Vergleiche Vortrag von Dr. med. Gisela Schieren „Der besondere Fall“, Düsseldorf 2010).

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse und Vergleich mit der Literatur

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die Mediane der Immunglobulinreduktionen während einer Behandlung mittels Plasmaseparation, regenerierbarer Immunadsorption (Protein-A-Säule) und nicht regenerierbarer Immunadsorption (Tryptophansäule) untersucht und untereinander verglichen. Zum Vergleich der Effektivität der drei Aphereseverfahren wurden für jedes Immunglobulin zum Einen die durchschnittliche Reduktion des Immunglobulinspiegels im Patientenplasma nach Ende einer Behandlungseinheit für alle drei Aphereseverfahren untersucht und zum Anderen für den direkten Vergleich zwischen der regenerierbaren und der nicht regenerierbaren Immunadsorption die durchschnittliche Reduktion des Immunglobulinspiegels nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen.

Für die Reduktion des IgG zeigte sich die regenerierbare Immunadsorption (Protein-A-Säule) nach Ende einer Behandlung effektiver als die Tryptophansäule und die Plasmaseparation. Zwischen Tryptophansäule und Plasmaseparation zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Nach 2 Litern behandeltem Plasmavolumen zeigte sich im Vergleich zwischen der regenerierbaren Immunadsorption und der nicht regenerierbaren Immunadsorption eine höhere IgG-Reduktion durch die nicht regenerierbare Immunadsorptionssäule.

Für die Reduktion des Immunglobulin M zeigte sich die Tryptophansäule sowohl nach zwei Litern, als auch nach Ende der Behandlung effektiver als die regenerierbare Immunadsorptionssäule. Auch gegenüber der Plasmaseparation am Ende der Behandlung zeigte die Tryptophansäule eine höhere IgM-Reduktion. Die Plasmaseparation zeigte eine signifikant höhere IgM-Reduktion als die regenerierbare Immunadsorption.

Die Plasmaseparation zeigte nach Ende einer jeweiligen Behandlung eine signifikant höhere IgA-Reduktion, als die Protein-A-Säule und die Tryptophansäule. Nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen reduzierte die Tryptophansäule das IgA effektiver, als die regenerierbare Immunadsorptionssäule. Nach Ende der Behandlung zeigte sich für die beiden Verfahren kein signifikanter Unterschied mehr.

Insgesamt zeigte die regenerierbare Protein-A-Säule also die größte Reduktion des Immunglobulins G bezogen auf eine vollständige Behandlungseinheit, die Plasmaseparation die höchste IgA-Reduktion und die nicht regenerierbare Tryptophansäule die effektivste Reduktion des Immunglobulins M.

Die erzielten Ergebnisse werden durch andere Studien gestützt. Schmaldienst et al. untersuchte 1999 unter anderem die durchschnittliche Reduktion der Immunglobuline G, M und A durch die Protein-A-Säule in einer prospektiven randomisierten Studie an 35 Patienten. Hier war nach einer Behandlungseinheit im Schnitt eine Reduktion des IgG um 82,6 %, des IgA um 74,1 % und des IgM um 52,4 % zu beobachten. Die Protein-A-Säule zeigte also gegenüber dem Immunglobulin G die höchste Affinität [41]. In einer Studie von Gjørstrup et al. wurde im Jahre 1990 ebenfalls die Effektivität der Protein-A-Säule untersucht. Hier zeigte sich eine Reduktion um fast 100 % der IgG-Subklassen 1,2 und 4, sowie eine Reduktion von 30 % der Klasse 3. IgA wurde um 69 % reduziert und IgM um 56 % [16]. Eine weitere Untersuchung der Immunglobulinreduktion mittels Apherese erfolgte durch Bucka et al. im Jahre 1995 anhand einer randomisierten Studie mit 19, an Myasthenia gravis erkrankten, Menschen. Hier zeigte die Tryptophan-Säule eine IgG-Reduktion von 45 %, eine IgM-Reduktion von 50 % und eine IgA-Reduktion von 42-45 % [42]. Im Jahre 1994 zeigte sich in einer Studie von Belák et al. bei der Immunadsorption durch die Protein-A-Säule eine IgG-Reduktion von 87 %, eine IgA-Reduktion von 55 % und eine IgM-Reduktion von 56 % [43]. Kramer et al. beschrieben bei der Plasmaseparation eine IgG-Reduktion von 63 %, sowie bei der Immunadsorption mittels Protein-A-Säule eine IgG-Reduktion von 80-90 % [36]. Für die Reduktion der Immunglobuline nach jeweils zwei Litern behandeltem Plasmavolumen für die regenerierbare und die nicht regenerierbare Immunadsorption gibt es in der Literatur bislang jedoch keine Daten.

Im Verlauf einer Behandlung zeigte sich bei der regenerierbaren Immunadsorptionssäule eine Abnahme der Effektivität (Kapitel 3.1.2). Dies könnte dadurch zu erklären sein, dass sich in etwa nur 50% aller Immunglobuline im Körper intravasal befinden und somit an der Adsorption durch die Säule teilnehmen. Der Immunglobulinanstieg, der zu Beginn einer neuen Behandlungseinheit zu sehen war, ist zum einen durch eine Neusynthese der Immunglobuline zu erklären und zum anderen durch eine, durch den Diffusionsgradienten bedingte, Umverteilung der sich extravasal befindenden Antikörper nach intravasal im Anschluss an eine Behandlung. Dieses Phänomen wird so auch in der Literatur beschrieben [40].

Es wird deutlich, dass die prozentuale Höhe des adsorbierten Immunglobulins abhängig ist vom angewendeten Aphereseverfahren und vom insgesamt aufgearbeiteten Plasmavolumen des Patienten und somit von der Kapazität der Behandlungsverfahren. Während mit Hilfe der Tryptophansäule durch die Angaben des Herstellers und den hohen Fibrinogenverlust nur maximal zwei Liter Plasmavolumen behandelt werden können, liegt das mögliche Plas-

mabehandlungsvolumen bei der regenerierbaren Immunadsorption beim zweifachen Plasmavolumen des Patienten und bei der Plasmaseparation beim einfachen Plasmavolumen. Dies macht sich auch bei den Ergebnissen der Immunglobulinreduktion bemerkbar: Nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen zeigte die Tryptophansäule in der vorliegenden Studie gegenüber der Protein-A-Säule eine höhere IgG-Reduktion. Nach Ende einer Behandlungseinheit wurde bei der Protein-A-Säule jedoch eine deutlich höhere IgG-Reduktion gemessen. Auch bei der IgA-Reduktion zeigte sich ein ähnlicher Effekt: Nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen zeigte die Tryptophansäule noch signifikant höhere Ergebnisse für die IgA-Reduktion, als die regenerierbare Immunadsorption. Nach Ende einer Behandlungseinheit jedoch, zeigte sich kein signifikanter Unterschied mehr zwischen den beiden Immunadsorptionssäulen und die Plasmaseparation zeigte die höchste Reduktion des Immunglobulins A.

Insgesamt zeigten sich nach Ende einer Behandlungseinheit signifikante Unterschiede in der Affinität der Aphereseverfahren zu den verschiedenen Immunglobulinklassen. Während die regenerierbare Immunadsorptionssäule das IgG signifikant am besten aus dem Plasma entfernte, zeigte die Tryptophansäule die höchste Reduktion für IgM und die Plasmaseparation die höchste IgA-Reduktion. Die folgenden Abbildungen zeigen nochmals im Überblick die Mediane der Immunglobulinreduktion bei IgG, IgM und IgA für die drei diskutierten Verfahren.

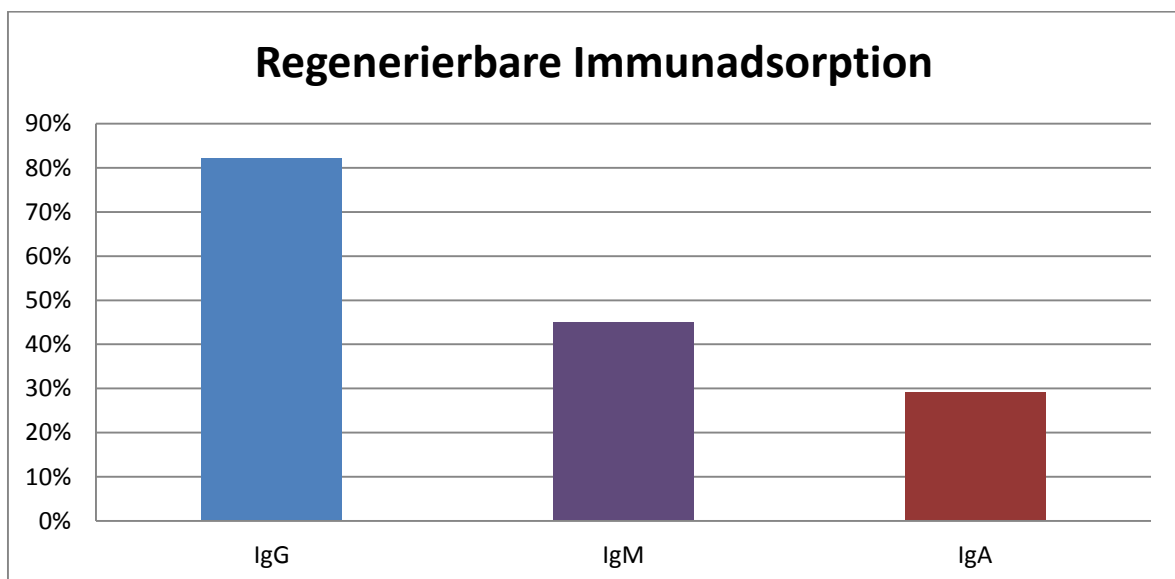


Abb. 20: Mediane der Immunglobulinreduktion mittels regenerierbarer Immunadsorptionssäule. Links ist in Blau die Reduktion des Immunglobulin G dargestellt. In der Mitte ist die Reduktion des Immunglobulin M in Violett zu sehen und rechts ist die Reduktion des Immunglobulin A in Rot dargestellt. Die Protein-A-Säule zeigte die höchste Affinität für IgG und die schlechteste Affinität für IgA.

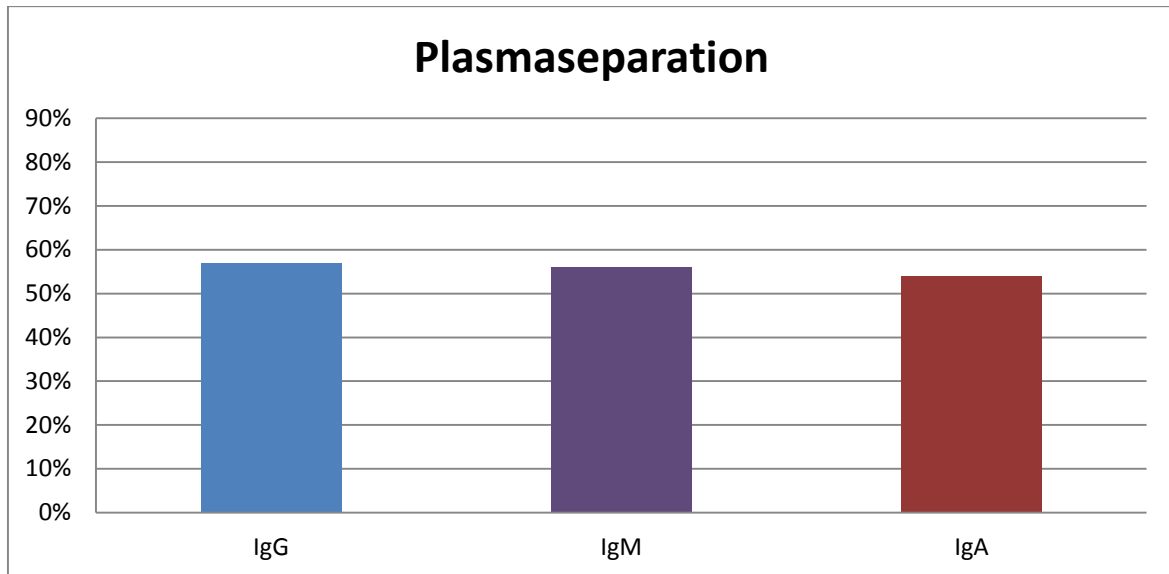


Abb. 21: Durchschnittliche Immunglobulinreduktion mittels Plasmaseparation. Links ist in Blau die Reduktion des Immunglobulin G dargestellt. In der Mitte ist die Reduktion des Immunglobulin M in Violett zu sehen und rechts ist die Reduktion des Immunglobulin A in Rot dargestellt. Die Plasmaseparation zeigte die höchste Reduktion bei IgG und die Schlechteste bei IgA. Die Mediane weichen jedoch nur gering voneinander ab.

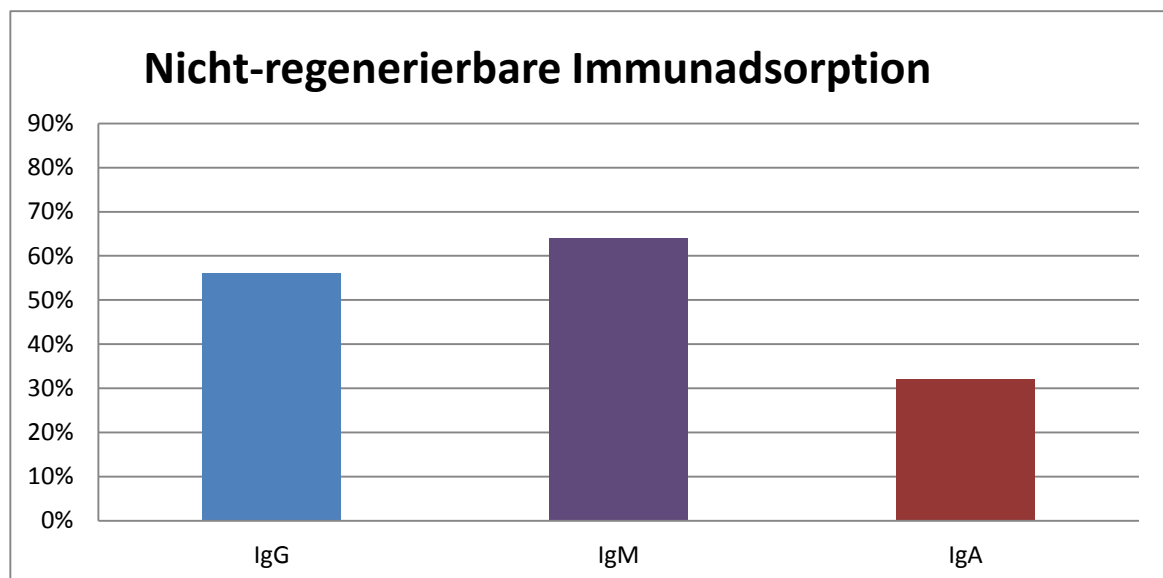


Abb. 22: Durchschnittliche Immunglobulinreduktion mittels nicht regenerierbarer Immunadsorptionssäule. Links ist in Blau die Reduktion des Immunglobulin G dargestellt. In der Mitte ist die Reduktion des Immunglobulin M in Violett zu sehen und rechts ist die Reduktion des Immunglobulin A in Rot dargestellt. Die höchste Affinität zeigt die Tryptophansäule für IgM, die Schlechteste für IgA.

In der vorliegenden Studie wurde auch anhand von Fallbeispielen ein intraindividuellem Vergleich bei fünf Patienten vorgenommen, die mit verschiedenen Apheresearten behandelt wurden. Hier wurde meist die Aphereseart gewechselt, weil Nebenwirkungen auftraten oder die gewünschte klinische Besserung der Erkrankung nicht eintrat. Die gemessenen Mediane

wichen zum Teil deutlich von den Werten der hier durchgeführten Studie ab. Hieran wird deutlich, dass die Ergebnisse der Immunglobulinreduktion und die erzielte Wirkung der Behandlung bei jedem Patienten individuell variieren können.

4.2 Grenzen der Studie

Eine Grenze der vorliegenden Studie ist, dass es sich um eine monozentrische, nicht randomisierte und nicht placebokontrollierte Studie handelt. Dies liegt zum einen daran, dass Patienten behandelt wurden, deren Erkrankungen sowohl hoch akut und schwerwiegend, sogar teilweise lebensbedrohlich, als auch therapieresistent gegenüber konservativen Behandlungsmöglichkeiten waren, sodass eine Kontrolle durch Placebo ethisch schwer möglich gewesen wäre. Zum anderen bleibt die Therapie mittels Plasmaseparation oder Immunadsorption einzelnen großen Therapiezentren überlassen, sodass sich die Durchführung einer multizentrischen Studie als schwierig erweist.

Ein anderes Problem der vorliegenden Arbeit war die relativ geringe Fallzahl für die Tryptophansäule an der Uniklinik Düsseldorf, sodass die statistische Aussagekraft der Ergebnisse bei dieser Methode begrenzt ist.

Der verwendete nichtparametrische Test wurde herangezogen, um mehrere Gruppen miteinander zu vergleichen. Diese Vergleiche waren nicht-orthogonal, so dass eine Akkumulierung von Fehlern erster Art angenommen werden kann. Die Gesamtirrtumswahrscheinlichkeit kann in diesem Fall also höher liegen, als der größte gefundene Fehler erster Art in den Paarvergleichen. Die Größenordnung dieser Akkumulierung kann nicht quantifiziert werden. Allerdings konnten für alle durchgeführten Tests Irrtumswahrscheinlichkeiten von deutlich unterhalb des angesetzten Signifikanzniveaus von 5% gefunden werden, so dass an dieser Stelle ein aussagekräftiges Gesamtergebnis angenommen werden kann.

Zusätzlich soll darauf hingewiesen werden, dass statistische Zusammenhänge keine Kausalität nach sich ziehen, sondern lediglich als Indikatoren für eine vorhandene Korrelation der Daten dienen können. In der Studie zu dieser Arbeit wurden Patienten nicht randomisiert und ohne Kontrollgruppe auf die einzelnen Behandlungsmethoden aufgeteilt, so dass ein kausaler Zusammenhang zwischen Behandlungsmethode und Immunglobulinreduktion wahrscheinlich aber nicht abschließend bewiesen ist.

Trotz eines anfänglich großen Patientenkollektivs, insbesondere bei den Apheresearten Plasmaseparation und regenerierbare Immunadsorption, konnten aufgrund der häufig unvollständig gemessenen Immunglobulinwerte während der Behandlungen nur eine deutlich geringere Anzahl an Daten verwendet werden. Für die regenerierbare Immunadsorptionssäule

und die nicht regenerierbare Immunadsorptionssäule liegen Daten der Immunglobulinreduktion nach 2 l als direkten Vergleich der beiden Apheresearten vor. Bei der Plasmaseparation erfolgte nach 2 l behandeltem Plasmavolumen in der vorliegenden Studie keine laborchemische Kontrolle des Immunglobulinspiegels, sodass hier kein direkter Vergleich mit der Plasmaseparation erfolgen konnte.

In der vorliegenden Arbeit konnten Aussagen über die Reduktion der Immunglobuline im Blut der Patienten gemacht werden. Die klinische Auswirkung der Immunglobulinreduktion wurde nicht untersucht. Auch über einen langfristigen Erfolg der Apheresetherapien konnte keine Aussage getroffen werden.

Insgesamt sind die vorhandenen Studien über die Reduktion der Immunglobuline bei verschiedenen Aphereseverfahren schwer miteinander zu vergleichen. Dies liegt zum Beispiel an den unterschiedlichen Austauschvolumina, den unterschiedlichen Ausgangswerten der Antikörper im Patientenblut und an der unterschiedlichen begleitenden immunsuppressiven Therapie der einzelnen Patienten.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Immunglobulin G insgesamt im Blut des Patienten bestimmt. Unterklassen wie IgG1, IgG2 und IgG3 wurden nicht unterschieden. Protein-A-Säulen adsorbieren jedoch im Vergleich deutlich weniger IgG3 (vergleiche Kapitel 1.1.2), woraus sich, besonders bei IgG3-vermittelten Erkrankungen, ein Nachteil ergeben kann.

4.3 Schlussfolgerung

Durch alle drei Aphereseverfahren konnten Antikörper effektiv aus dem Blut entfernt werden. Die hier untersuchten Aphereseverfahren zeigen deutliche Unterschiede in der Affinität zu den verschiedenen Immunglobulinklassen.

Durch diese Unterschiede kann die Auswahl der Aphereseart bei bestimmten immunvermittelten Erkrankungen anhand der hauptsächlich verantwortlichen Antikörper erfolgen. IgG wurde in der Literatur als das maßgeblich verantwortliche Immunglobulin bei vielen Autoimmunerkrankungen beschrieben. Bei der Pathogenese einiger Erkrankungen können jedoch auch IgM und IgA eine zentrale Rolle spielen. Teilweise konnte bei Erkrankungen jedoch noch nicht geklärt werden, welche Antikörper vorrangig an der Pathogenese beteiligt sind. Zudem ist bei vielen Autoimmunerkrankungen nicht eine einzige Immunglobulinklasse maßgeblich verantwortlich, sondern das Krankheitsgeschehen beruht auf der Reaktion von verschiedenen Antikörpern [9].

Die Indikationen für die einzelnen Aphereseverfahren wurden bislang teilweise in Studien belegt. Trotzdem existieren nach wie vor, im Gegensatz zu anderen in der Medizin eingesetzten Therapieverfahren, nur wenige Studiendaten. Häufig wird die Indikation anhand von klinischen Erfahrungsberichten oder Expertenmeinungen gestellt. Somit muss für jeden Patienten individuell anhand seiner zu behandelnden Erkrankung und seiner Risikofaktoren abgewogen werden, welche Apherese­methode für ihn geeignet ist.

Die Immunglobulinreduktion nach Ende einer Behandlungseinheit ist zunächst der für das medizinische Ergebnis relevante Wert. Für den direkten Effektivitätsvergleich ist jedoch der Wert nach zwei Litern behandeltem Plasmavolumen insofern interessant, als dass er Aufschluss darüber ermöglicht, in wieweit die Leistungsfähigkeit der nicht regenerierbaren Immunadsorptionssäule von ihrer beschränkten Kapazität abhängt. Bei einer möglichen Entwicklung von Tryptophansäulen mit höherer Plasmakapazität mag dieser Befund noch an Bedeutung gewinnen.

Von allen drei untersuchten Verfahren ist die regenerierbare Immunadsorption am kostenintensivsten. Für die nicht regenerierbare Tryptophansäule betragen die Kosten für die Behandlung von 2 l Plasma zwischen 1.000 und 1.500 Euro. Eine (erste) Behandlungseinheit mit der regenerierbaren Immunadsorptionssäule „Immunosorba“ kostet bis zu 10.700 Euro. Bei der Plasmaseparation hingegen liegen die Kosten zwischen 950 Euro bei einer Substitution mittels Humanalbumin und 1300 Euro bei einer Substitution mittels Fresh Frozen Plasma (Information Abteilung für Controlling, Universitätsklinik Düsseldorf).

Rein finanziell lohnt sich die Verwendung der teuren regenerierbaren Immunadsorptionssäule im Vergleich zu den anderen beiden Apheresearten also erst, wenn mehr als fünf Behandlungseinheiten geplant sind.

Es ist jedoch zu beachten, dass die Immunadsorption eine geringe Rate an Nebenwirkungen hat und am effektivsten das Immunglobulin G aus dem Blut des Patienten entfernt.

Das Kosten-Nutzen-Verhältnis muss also abgewogen werden. Die zunächst zu Beginn der Behandlung hohen Kosten, können sich jedoch durch die Regenerierbarkeit der Säulen und die eventuell langanhaltende und nachhaltige klinische Besserung des Patienten ausgeglichen werden.

5 Literatur- und Quellenverzeichnis

- [1] Bambauer R, Latza R (2006). Wohin steuert die Aphereseherapie? Dial akt 10(3): 20-33
- [2] Renders L, Wen M, Kühle C (2014). Plasmapherese und Immunadsorption. Nephrologie 9(4): 284-92
- [3] Behm E, Zinner G, Zingler G (1983). Immunadsorption mittels Staphylokokkus aureus, Stamm COWAN. Z Urol Nephrol 76(8): 511-7
- [4] Rech J (2005). Separationsverfahren bei Autoimmunerkrankungen und rheumatischen Prozessen. Arthritis Rheum 25(3): 136-140
- [5] Nakanishi T, Suzuki N, Kuragano T (2014). Current topics in therapeutic plasmapheresis. Clin Exp Nephrol 18(1): 41-9
- [6] Bosch T (2005). Therapeutic Apheresis – State oft the art in the year 2005. Ther Apher Dial 9(6): 459-468
- [7] Heininger K (1993). In-vitro und in-vivo-Untersuchungen zur selektiven Immunadsorptionsbehandlung neurologischer Erkrankungen. 1. Auflage. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 15-16
- [8] Balogun RA, Kaplan A, Wars DM (2010). Clinical applications of therapeutic apheresis. J Clin Apher 25(5): 250-264
- [9] Braun N, Bosch T (2000). Immunoadsorption, current status and further developments. Expert Opin Investig Drugs 9(9): 2017-2038
- [10] Deisenhofer J (1981). Crystallographic refinement and atomic models of a human Fc fragment and ist complex with fragment B of protein A from Staphylococcus aureus. Biochemistry 20(9): 2361-70
- [11] Stryer L (1979). Biochemistry. 1. Auflage. Braunschweig: Vieweg & Sohn Verlag, 97-98
- [12] Fresenius Medical Care. Gebrauchsanweisung Art Universal: 6-7
- [13] Hoffmann LR (2008). Langzeitergebnisse der Immunadsorption als Teil eines multimodalen Behandlungskonzepts bei therapierefraktärer myasthener Krise [Dissertation]. Bonn: Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, 15-17
- [14] Dittrich E, Schmaldienst S, Derfler K (2007). Plasmaaustausch und Immunadsorption. Wien klin Wochenschr 2(1): 39-54

- [15] Braun N, Fundamentals and Applications of Immunoabsorption. 1. Auflage, Bremen, London, Boston: Uni-Med Verlag, 24-75
- [16] Gjørstrup P, Robert M (1990). Therapeutic protein A immunoabsorption: A review. *Transfus Sci* 11(3): 281-302
- [17] Gabutti L, Marone C (2002). Citrate anticoagulation in continuous venovenous hemodiafiltration: a metabolic challenge. *Intensive Care Med* 28(10): 1419-25
- [18] Lämmle B, Kremer Hovinga JA, Alberio L (2005). Thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 3(8): 1663-75
- [19] Liu L, Hutzler M (2001). Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) and Hemolytic Uremic Syndrome (HUS): The New Thinking. *J Thromb Thrombolysis* 11(3): 261-72
- [20] Murrin RJ, Murray JA (2006). Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: aetiology, pathophysiology and treatment. *Blood Rev* 20(1): 51-60
- [21] Scharrer I, Großmann R (2000). Acquired inhibitory body hemophilia. *Anaesthesist* 49(1): 34-42
- [22] Malin JP, Sindern E (1996). Das akute Guillain-Barré-Syndrom. *Dtsch Arztebl* 93(43): A1895
- [23] Köller H, Kieseier BC, Jander S, Hartung HP (2003). Akute und chronisch entzündliche Neuropathien – Diagnostik. *Dtsch med Wochenschr* 128(24): 1357-60
- [24] Schünke M, Schulte E, Schumacher U (2006). Prometheus Kopf- und Neuroanatomie. 1. Auflage, Bremen: Georg Thieme Verlag, 174
- [25] Weinshenker BG, O'Brien PC, Petterson TM (1999). A randomized trial of plasma exchange in acute central nervous system inflammatory demyelinating disease. *Ann Neurol* 46(6): 878-86
- [26] Myasthenia gravis. S1-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie e.V.
- [27] Mattle H, Mumenthaler M (2011). Lehrbuch Neurologie. 3. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 223-425
- [28] Thaler E, Lechner K (1981). Antithrombin III deficiency and thrombolism. *Clin Haematol* 10(2): 369-90
- [29] Pielawa L, Vehling A, Lauterbach G (2007). Antikoagulation mit Citratlösungen für Dialyse und EKZ – experimentelle Entwicklung eines Regelprogramms zur Citrat-Calcium-Regulation. *Kardiotechnik Germ J Perf* 16(1): 13-15
- [30] Langer H, Gawaz M (2005). The coagulation cascade – clinical implications. *Herz* 30(3): 170-5

- [31] Tolwani A, Wille K (2009). The clinical application of CRRT – Current status: Anticoagulation for Continuous Renal Replacement Therapy. *Semin Dial* 22(2): 141-45
- [32] Eller K (2011). Hypokalziämie und Hyperkalziämie: Ätiologie, Klinik, Diagnose und Therapie. *J Clin Endocrinol Metab* 4(3), 40-45
- [33] Frank RD (2014). Zitratantikoagulation in der akuten Nierenersatztherapie. *Med Klin Intensivmed Notfmed* 109(5): 336-41
- [34] Strasser E (2013). Therapeutische Apheresen. *Transfusionsmed* 3(3): 152-66
- [35] Huestis DW (1989). Risks and safety practises in hemapheresis procedures. *Arch Pathol Lab Med* 113(3): 273-8
- [36] Kramer L (1998). Indikationen und Komplikationen der Plasmapherese im Rahmen der Intensivmedizin. *Intensivmed* 35(5): 349-55
- [37] Renaux JL, Thomas M, Crost T (1999). Activation of the kallikrein-kinin system in haemodialysis: Role of membrane electronegativity, blood dilution and pH. *Kidney Int* 55(3): 1097-103
- [38] Olbricht CJ, Schaumann D, Fischer D (1992). Anaphylactoid reactions, LDL apheresis with dextran sulphate, and ACE-inhibitors. *Lancet* 340(8824): 908-9
- [44] Bortz J (2005). *Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler*. 6. Auflage. Berlin: Springer Verlag, 150-154
- [40] Schwenger V, Morath C (2010). Immunoabsorption in nephrology and kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 25(8): 2307-13
- [41] Schmaldienst S, Müllner M, Goldhammer A (2000). Intravenous immunoglobulin application following immunoabsorption: benefit or risk in patients with autoimmune diseases? *Rheumatology (Oxford)* 40(5): 513-21
- [42] Bucka C, Köhler W, Hertel G (1998). Immunadsorption bei Myasthenia gravis. *Akt Neurol* 25(2): 57-61
- [43] Belák M, Borberg H, Jimenez C (1994). Technical and clinical experience with protein A immunoabsorption columns. *Transfus Sci* 15(4): 419-22

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

19. September 2017, Andrea Burgers, geb. Kirsch