Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I –
Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. G. Steinbeck

Untersuchung der Effektivität, Selektivität und Verträglichkeit von DALI-LDL-Apherese bei hohen Blutflüssen.

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München.

vorgelegt von
Ralf Schilling
aus
Ludwigsburg.

2003

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. T. Bosch
Mitberichterstatter:	Priv. Doz. Dr. A. Sellmayer
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter
Tag der mündlichen Prüfung:	04. 12. 2003

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis I
Abbildungsverzeichnis III
Tabellenverzeichnis IV
Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen V
1 Einleitung 1
1.1 Pathogenese der Atherosklerose 1
1.2 Risikofaktoren der Atherosklerose 3
1.3 Therapieverfahren der Hyperlipoproteinämie 7
1.4 Techniken der Lipidapherese 10
1.5 Vollblut Lipidapherese (DALI) 12
1.6 Selektivität, Effektivität und klinische Verträglichkeit 13
2 Ziel der Arbeit 15
3 Patienten und Methoden 16
3.1 Studiendesign 16
3.2 Patienten 16
3.3 DALI – Apherese (Direktadsorption von Lipoproteinen) 19
3.4 Labormethoden 22
3.5 Berechnungen und Statistik 24
4 Ergebnisse 25
4.1 Behandlungsdauer 25
4.2 Lipoproteine und Fibrinogen 26
4.3 Gerinnungsparameter 29
4.4 Klinische Chemie 31
4.5 Blutparameter 35
4.6 Komplikationen und Vitalparameter 37
5 Diskussion und Interpretation der Daten 39
5.1 Grundsätzliche Vorteile des DALI Verfahrens 39
5.2 Zeitliche Aspekte (Setup und Behandlungszeit) 39
5.3 Effizienz und Selektivität des DALI-Verfahrens bei Blutflussraten > 80ml/min 40
5.4 Antikoagulationsschema und Gerinnungsparameter 42
5.5 Unerwünschte Nebenwirkungen 43

6 Zusammenfassung 44
7 Literaturverzeichnis 46
8 Danksagung 52
9 Lebenslauf 53

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Funktionsweise des DALI Hämadsorbers..... 13
Abbildung 2: Der extrakorporale Kreislauf des DALI Systems. 20
Abbildung 3: Behandlungsdauer in Abhängigkeit der Flussgeschwindigkeit..... 25
Abbildung 4: Lipoprotein- und Fibrinogen- Reduktion der verschiedenen Flussgeschwindigkeiten 27
Abbildung 5: Individuelle LDL-C Reduktion der behandelten Patienten..... 27
Abbildung 6: Aktivierte Gerinnungszeit (ACT) versus Fluss..... 29

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Therapieziele der Primär- und Sekundärprävention. 7
Tabelle 2: Lipoproteine und Fibrinogen in der Vorphase. 17
Tabelle 3: Demographisch und medizinisch relevante Patientendaten. 18
Tabelle 4: Antikoagulationsschema. 19
Tabelle 5: Blutvolumen und prozessiertes Volumen. 21
Tabelle 6: Methoden, Materialien und angewandte Geräte bei der Parameterbestimmung. 23
Tabelle 7: Lipoproteine und Fibrinogen. 28
Tabelle 8: Gerinnungsparameter: ACT, PTT und Quickwert. 30
Tabelle 9: IgG und IgM. 32
Tabelle 10: Klinisch-chemische Routineparameter (Teil 1). 33
Tabelle 11: Klinisch-chemische Routineparameter (Teil 2). 34
Tabelle 12: Übersicht über die zellulären Parameter des Blutes, Hämoglobin und die Hämatokritwerte. 36
Tabelle 13: Übersicht über die Anzahl aufgetretener Nebenwirkungen in Bezug zur Anzahl der Behandlungen und der Patientenzahl. 37
Tabelle 14: Vitalparameter und Druckverhältnisse. 38

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

ACD-A	Acidum Citricum Dextrose
ACE	Angiotensin Converting Enzym
ACT	Activated Clotting Time
ALAT	Alaninaminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
ASAT	Aspartataminotransferase
CK	Kreatinkinase
DALI	Direkte Absorption von Lipiden
FH	Familiäre Hypercholesterinämie
γ-GT	γ-Glutamyltransferase
H.E.L.P.	Heparin Induced Extracorporal LDL Precipitation
Hb	Hämoglobin
HDL	High Density Lipoprotein
HK	Hämatokrit
HLP	Hyperlipoproteinämie
IL	Interleukin
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDH	Laktatdehydrogenase
LDL	Low Density Lipoprotein
Lp (a)	Lipoprotein (a)
MPG	Medizinproduktgesetz
NaCl	Natriumchlorid
NUB	Neue Untersuchungs- und Behandlungsmethoden
NW	Nebenwirkung
PAA	Poly Acrylic Acid
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PMN	Polymorphonucleäre Granulozyten
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
PTZ	Plasma-Thrombinzeit
RR	nach der Riva/Rocci- Methode bestimmter Blutdruck
TAT	Thrombin-Antithrombin-Komplex

1 Einleitung

1.1 Pathogenese der Atherosklerose

Atherosklerotische Folgeerkrankungen, wie die periphere arterielle Verschlusskrankheit, die koronare Herzkrankheit sowie der apoplektische Zerebralinsult, gehören weiterhin zu den Haupttodesursachen in den vereinigten Staaten, Europa und weiten Teilen Asiens. (BRESLOW 1997; BRAUNWALD 1997).

Nach Virchows Auffassung, waren die Lipidablagerungen in der arteriellen Wand von Blutlipiden herrührende Veränderungen, welche nach seiner Überlegung durch Transduktion der Lipide und Komplexbildung mit sauren Mukopolysacchariden entstehen. Durch diese „Verletzung“ der Arterien erklärte er die Akkumulation von Lipiden und die Entwicklung der atherosklerotischen Läsionen in der Intima und Media der Arterien (VIRCHOW 1856).

Den heutigen allgemein anerkannten Erkenntnisstand, stellt die von Ross 1973 entwickelte, und 1986 und 1993 modifizierte “response-to-injury“- Hypothese dar.

Ross betrachtet die Entwicklung der Atherosklerose als eine chronisch progressive Entzündung der arteriellen Gefäßwand, die durch ein komplexes Zusammenspiel von Wachstumsfaktoren, Zytokinen und Zellinteraktion gekennzeichnet ist. Darüber hinaus stellt die Hypothese auch die Integration der Lipidhypothese Virchows mit der Inkrustationstheorie von Rokitanskys dar (ROSS 1973, 1986, 1993, 1999).

Die “Verletzung“ des Endothels stellt laut der “response-to-injury“- Hypothese das initiale Ereignis der Erkrankung dar, das zu einer endothelialen Dysfunktion führt, die eine Kette von zellulären Interaktionen triggert, welche in der Ausbildung der atherosklerotischen Läsionen kulminiert (ROSS 1993). Als Risikofaktoren, die eine solche “Verletzung“ begünstigen, bezeichnet man exogene und endogene Einflüsse, die statistisch signifikant mit der Atherosklerose korrelieren. Zu den wichtigsten dieser endothelschädigenden Faktoren gehören beispielsweise erhöhtes und modifiziertes LDL, Lp(a), arterielle Hypertonie, Diabetes Mellitus und Hyperhomocysteinämie (ROSS 1993, 1999).

Da das Endothel keine starre, sondern vielmehr eine äußerst dynamische Barriere darstellt, kommt es im Verlauf der endothelialen Dysfunktion neben einer Permeabilitätserhöhung für Lipoproteine zu einer Vielzahl von molekularen

Veränderung, die das Zusammenspiel von Monozyten, T- Lymphozyten und Endothelzellen maßgeblich beeinflussen.

Durch die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle vom Typ der E-, L- und P-Selektine, Integrine, ICAM-1, VCAM-1 und platelet-endothelial-cell-adhaesion-molecule-1, kommt es zum Anheften von Monozyten und T-Lymphozyten lumenseitig (SPRINGER ET AL 1996).

Die anschließende Migration der Leukozyten über das Endothel wird durch MCP-1 , Interleukin-8, PDGF, M-CSF und Osteopontin vermittelt (RAJAVASHISTH ET AL. 1990).

In der Intima ortsansässige Makrophagen und Monozyten sind in der Lage, über den sogenannten Scavenger-Rezeptor, die eingedrungenen LDL- Partikel aufzunehmen und sie als Vakuolen von Cholesterinestern im Zytoplasma abzulagern (STEINBERG 1997; KHOO ET AL. 1988). Die auf diese Weise entstandenen Schaumzellen akkumulieren hauptsächlich in Gruppen im Bereich der Gefäßintima und bilden die bereits im Kindesalter auftretenden “fatty streak“- Läsionen.

LDL sind Lipoproteine geringer Dichte und entstehen durch katabole Effekte lipolytischer Enzyme aus triglyceridreichen VLDL Partikeln.

Neben den schädigenden Eigenschaften auf Endothelzellen und glatten Muskelzellen der Media (NAVAB ET AL. 1996), wirkt LDL darüber hinaus chemotaktisch auf Monozyten und ist imstande die Expression von MCSF (RAJAVAHISTH ET AL. 1990) und MCP-1 (LEONARD ET AL. 1990) der Endothelzellen über Genamplifikation zu erhöhen.

HDL ist im Gegensatz zu LDL fähig, unter Bildung von sogenannten HDL_c-Komplexen, Cholesterinester von beladenen Makrophagen unter Vermittlung von Apolipoprotein E wieder aufzunehmen. Diese mit Cholesterinestern beladenen Partikel, können durch Interaktion von SR-B1 Rezeptoren an Hepatozyten oder Nebennierenrindenzellen binden und Cholesterin für die Produktion von Gallensäuren beziehungsweise Steroiden abgeben. Dieser Mechanismus wird als “reverser Cholesterin Transport“ bezeichnet und verdeutlicht die protektive Funktion des HDL. (ACTON ET AL. 1996; BARTER 1996).

Aktivierte Makrophagen können über HLA-DR Antigene präsentieren und aktivieren dadurch CD4 und CD8 Lymphozyten, welche in Folge dessen zur Sekretion von Zytokinen, wie INF-γ und TNF-α angeregt werden und darüber zu einer Verstärkung

der entzündlichen Reaktion beitragen (HANSSON ET AL. 1989; RAINES ET AL.1996).

Im weiteren Verlauf der Erkrankung, kommt es zur Einsprossung glatter Muskelzellen der Media, in das entzündlich veränderte Gebiet der Intima. Dadurch entsteht in diesem Stadium die intermediäre Läsion.

Ausgehend von der intermediären Läsion entwickelt sich im Verlauf die fortgeschrittene und komplizierten Läsion, die morphologisch durch einen Nekrosekern, Zelldetritus und eine lumenseitige kollagenreiche fibrinöse Kappe charakterisiert ist.

Vergrößert sich die Zellzahl und der Anteil der Lipoide stetig, kommt es zu endothelialen Einrissen und Freilegung von Oberflächen mit thrombotischen Eigenschaften. Durch die Anheftung und Aktivierung von Thrombozyten an diesen Einrissen kommt es zu einer Freisetzung von Granula, welche Zytokine, Wachstumsfaktoren und Thrombin enthalten (BOMBELI ET AL. 1998).

Proteolytische Enzyme der Makrophagen sind für die Ausdünnung der fibrinösen Kappe verantwortlich, die letztendlich zu einer Rupturierung des Plaques mit konsekutiver Thrombose und Stenosierung des Gefäßes, und akuter Ischämie der Endstrombahn führt.

1.2 Risikofaktoren der Atherosklerose

Für die Entstehung von atherosklerotischen Läsionen werden verschiedenste Risikofaktoren verantwortlich gemacht. Besondere Bedeutung kommt dabei der Hyperlipoproteinämie, der arteriellen Hypertonie und dem Nikotinabusus zu.

Eine Erkrankung welche mit einer exzessiven Erhöhung des Gesamt- und LDL Cholesterins einhergeht ist die familiäre Hypercholesterinämie. Sie zählt zu den häufigsten monogenetisch vererbten Stoffwechselkrankheiten. Die moderate heterozygote Form tritt mit einer Häufigkeit von 1:500 auf, die homozygote Form mit 1:1 Mio. deutlich seltener.

Ursachen der familiäre Hypercholesterinämie sind Mutationen im LDL-Rezeptorgen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 19. Diese Mutationen können Deletionen, Insertionen oder Punktmutationen sein.

Der charakteristische Befund der Lipoproteine bei der familiären Hypercholesterinämie ist eine Erhöhung des Gesamt- und LDL- Cholesterins bei

meist normalen Triglycerid- und VLDL- Konzentrationen. Das HDL ist oft erniedrigt. Phänotypisch liegt eine Hyperlipoproteinämie Typ IIa nach Fredrikson vor (WINDLER ET AL. 1994). Das Gesamtcholesterin ist bei der heterozygoten Form um das zwei- bis dreifache, bei der homozygoten Form um das fünf- bis sechsfache der Norm erhöht.

Klinisch manifestiert sich die familiäre Hypercholesterinämie durch frühzeitige Koronarsklerose. In der Regel treten bei heterozygoten Männern die ersten Symptome einer KHK zwischen dem 30. und 40. Lebensjahr auf, bei Frauen im Durchschnitt erst 10 Jahre später. 50% der betroffenen Männer versterben vor dem 50. Lebensjahr an den Folgen ihrer Koronarsklerose (STONE ET AL. 1974). Für das rasche Fortschreiten der Atherosklerose sind neben den massiv erhöhten LDL-Spiegeln auch erniedrigte HDL- Konzentrationen verantwortlich.

Auch an extrakardialen Gefäßen, wie der Aorta, den Karotiden und peripheren Arterien, können sich atherosklerotische Veränderungen manifestieren. Bei der homozygoten Form der Erkrankung entwickelt sich die Koronarsklerose schon im frühen Kindesalter. Der erste Myokardinfarkt ereignet sich oft vor dem 10. Lebensjahr und die Betroffenen versterben meist noch vor dem 20. Lebensjahr.

Die Entwicklung von Xanthomen ist abhängig von der Höhe des Serumcholesterins und der Erkrankungsdauer. Etwa 75% der über 20jährigen heterozygot Betroffenen haben tendinöse Xanthome. Homozygote haben in nahezu 100% Haut- und Sehnenxanthome. Auch am Augenlid und in der Kornea können Lipidablagerungen auftreten (Xanthelasmen; Arcus lipoides). Sie sind jedoch kein spezifisches Zeichen einer Hypercholesterinämie, da sie auch bei normalen Cholesterinwerten gefunden werden. Ferner treten bei der FH gehäuft akute Arthritiden und Tendosynovitiden auf (GLUECK ET AL. 1968).

Die einzelnen Lipoproteine unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Größe und Dichte, da sie unterschiedlich große Anteile an Lipiden und Proteinen, sogenannte Apoproteine, enthalten. Die Dichte steigt mit zunehmendem Protein- und abnehmendem Lipidanteil. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Dichte können sie durch Ultrazentrifugation in verschiedene Fraktionen aufgetrennt werden. Hierauf beruht die Einteilung der Lipoproteine in die Hauptgruppen:

- Chylomikronen,
- Very-Low-Density Lipoproteine (VLDL)
- Intermediate-Density Lipoproteine (IDL)
- Low-Density Lipoproteine (LDL)
- High-Density Lipoproteine (HDL)
- Lipoprotein (a) (Lp(a))

Zu den Lipoproteinen mit einem hohem atherogenem Potential, gehören vor allem das LDL, das Lp(a) und das VLDL.
LDL besitzen eine Dichte von etwa d=1,006-1,063 g/ml. Den Kern bilden veresterte Cholesterinmoleküle. Dieser stark hydrophobe Kern ist von einer Hülle aus Phospholipiden, unverestertem Cholesterin und einem einzigen Apo B100-Molekül umgeben. Daneben findet sich auf der Oberfläche der LDL Partikel Apoprotein E.
Die Funktion von LDL besteht darin, Cholesterin zu peripheren Geweben zu transportieren, wo es, durch das Apoprotein B-100 vermittelt, über den LDL-Rezeptor in die Zellen aufgenommen wird. In großen epidemiologischen Studien wie der Framingham Study (KANNEL ET AL. 1971), dem Multiple Risk Factor Intervention Trial (STAMLER ET AL. 1986) und der Withehall Study (DAVEY-SMITH ET AL. 1992) konnte eine positive Korrelation zwischen der Höhe des Serumcholesterins und dem Auftreten einer koronaren Herzerkrankung aufgezeigt werden. LDL- Cholesterinwerte über 160 mg/dl stellen ein hohes kardiovaskuläres Risiko dar. Neben der Höhe des LDL- Cholesterins spielt bei der Einschätzung des Risikoprofils für kardiovaskuläre Erkrankungen auch die Höhe des gefäßschützenden HDL- Cholesterins eine große Rolle. Werte unter 35 mg/dl gehen mit erhöhtem Risiko einher.
VLDL sind Lipoproteine mit geringer Dichte (d=0,94-1,006 g/ml) und einem hohen Triglyceridanteil. Im wesentlichen enthalten VLDL Apoprotein C, in geringeren Anteilen die Apoproteine B-100 und E (MAHLEY ET AL. 1984).
Im Unterschied zu Chylomikronen bestehen VLDL nicht aus Nahrungslipiden, sondern werden aus endogen entstandenen Triglyceriden in der Leber synthetisiert und in den Kreislauf sezerniert. Wie bei den Chylomikronen werden die Triglyceride von der durch Apoprotein C-II aktivierten Lipoproteinlipase hydrolysiert und die freien Fettsäuren dem Muskel- und Fettgewebe zugeführt. Die verbleibenden

cholesterinreichen „VLDL-Remnants“ werden wegen der höheren Dichte Intermediate Density Lipoproteine genannt.

Das Lipoprotein(a) (Lp(a)) besitzt eine Dichte von 1.05-1.12 g/ml und ähnelt in seiner Zusammensetzung dem LDL. Der Proteinanteil besteht neben dem Apoprotein B-100 aus dem für das Lp(a) charakteristischen Apoprotein(a) (MARCOVINA/MORRISETT 1995). Über die Physiologie und Funktion des Lp(a) weiß man bis heute sehr wenig. Da das Apoprotein(a)-Molekül eine hohe Sequenzhomologie zu Plasminogen aufweist (EATON ET AL. 1987), vermutet man, dass das Lp(a) sowohl die Bildung von Thromben an atherosklerotischen Plaques fördert als auch einen atherogenen Effekt hat (LIU/LAWN 1994). Lp(a) ist zusammen mit Apoprotein B in atherosklerotischen Läsionen zu finden (RATH ET AL. 1989). Retrospektive Studien haben einen Zusammenhang zwischen erhöhtem Lp(a) und einer KHK gezeigt (KOSTNER ET AL. 1981; RHOADS ET AL. 1986; DAHLEN ET AL. 1986; ORTH-GOMER ET AL. 1997). Ebenso ergab die Metaanalyse zahlreicher prospektiver Studien, dass Lp(a) ein unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten einer KHK ist (CRAIG ET AL. 1998).

Als normal gelten Werte zwischen 15 – 35 mg/dl. Lp(a) lässt sich bis jetzt weder diätetisch noch medikamentös beeinflussen. Therapiemaßnahmen beschränken sich daher auf die Reduktion weiterer Risikofaktoren. Insbesondere eine Senkung des LDL-Cholesterins scheint das kardiovaskuläre Risiko des Lp(a) zu senken (RADER ET AL. 1994; MAHER ET AL. 1995)

Erhebliche pathophysiologische Bedeutung bei der Pathogenese der Atherosklerose besitzen darüber hinaus Gerinnungsfaktoren.

Epidemiologische Befunde weisen auf einen Zusammenhang zwischen der Fibrinogenkonzentration im Plasma und der Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit und vor allem eines Myokardinfarktes hin. Erhöhte Fibrinogenspiegel (>300 mg/dl) erwiesen sich in diesem Zusammenhang als eigenständiger Indikator und Risikofaktor für Herz- Kreislauf- Erkrankungen (WILHELMSEN ET AL. 1984; KANNEL ET AL. 1987).

Aber auch hohe Konzentrationen des Gewebeplasminogenaktivator- Inhibitors tPA-I sind mit Auftreten von KHK assoziiert (HAMSTEN ET AL. 1987).

Die Beziehung zwischen Hypertriglyceridämie und koronarem Risiko ist je nach Ursache der Blutfetterhöhung unterschiedlich ausgeprägt. Trotz der Diskussion, ob Triglyceride als unabhängiger Risikofaktor zu gelten haben, ist es unbestritten, dass

sie eine wichtige Rolle in der Pathogenese der koronaren Herzkrankheiten spielen. Die Krankheitsinzidenz ist bei den Patienten am größten, die ein hohes LDL-Cholesterin und einen hohen Triglyceridspiegel aufweisen. (HULLEY ET AL. 1980, CARLSON/BOETTIGER 1981, AUSTIN 1991).

1.3 Therapieverfahren der Hyperlipoproteinämie

Grundsätzlich unterscheidet man bei den therapeutischen Strategien die primäre Prävention zur Verhinderung atherosklerotischer Veränderungen und die sekundäre Prävention, die bei bereits bestehenden atherosklerotischen Läsionen eine Progression der Erkrankung verhindern soll (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Therapieziele der Primär- und Sekundärprävention.

LDL-Cholesterin und Therapieentscheidungen			
Patientenkategorie	**Therapieeinleitung (mg/dl)**		**Zielwert (mg/dl)**
	Diätetisch	+ Medikament	
Ohne KHK + < 2 RF	≥ 160	≥ 190	< 160
Ohne KHK + > 2 RF	≥ 130	≥ 160	< 130
Mit manifester KHK	≥ 100	≥ 130	< 100
Risikofaktoren			
Alter	Männer ≥ 45 J, Frauen ≥ 55J oder Menopause		
Vorzeitige KHK in der Familienanamnese positiv			
Rauchen			
Arterielle Hypertonie	RR ≥ 140/90 mmHg oder antihypertensive Therapie		
Niedriges HDL-Cholesterin	< 40 mg/dl		
Diabetes Mellitus			

Nach den Empfehlungen der NCEP ATPIII Guidelines (NCEP ATPIII 2001).

Darüber hinaus können die Therapieverfahren in konservative und invasive Verfahren unterteilt werden. Wichtige Säulen der konservativen Therapie sind beispielsweise diätetische und medikamentöse Maßnahmen zur Senkung erhöhter Serum Lipoproteine. In diesem Zusammenhang stellten sich HMG-CoA-Reduktase-Hemmer, wie z.B. Atorvastatin (Sortis®), als überaus wirksame LDL senkende Therapie dar (BERTOLINI ET AL 1997; DART ET AL 1997). Sie hemmen die 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-CoA-Reduktase als das geschwindigkeitsbegrenzende Enzym der Cholesterinsynthese in der Leber und bewirken so eine Abnahme des hepatischen Cholesterins. Dadurch wird die Suppression des LDL-Rezeptor-Gens aufgehoben und die Expression der LDL- Rezeptoren steigt an. Die erhöhte Anzahl an LDL- Rezeptoren führt zur vermehrten LDL- Clearance und senkt dadurch das Serumcholesterin. In Abhängigkeit von der Dosis werden das Gesamtcholesterin um 25-40%, das LDL- Cholesterin um 35-40% und die Triglyceride um 10-25% gesenkt. Das HDL- Cholesterin kann um 5-10% erhöht werden. Ihre Wirksamkeit in der Primär- und Sekundärprävention der KHK, wurde in zahlreichen klinischen Studien nachgewiesen, z. B. in der 4S-Studie (PEDERSON ET AL 1994), der WOSCOP-Studie (SHEPHERD ET AL. 1995) und der CARE Studie (GOLDBERG ET AL. 1998). Die bisher umfangreichste Studie zur Wirksamkeit der Statine ist die Heart Protection Study (HPS), bei der mehr als 20 000 Patienten unabhängig von ihren Cholesterin-Werten mit Statinen behandelt wurden. Bei der Auswahl der Teilnehmer konzentrierte man sich dabei insbesondere auf Patienten nach erfolgtem Schlaganfall, Myokardinfarkte in der Vorgeschichte, Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit (AVK) oder Diabetes Mellitus. Das Gesamtcholesterin musste lediglich über 135 mg/dl liegen. Außerdem nahmen an der Studie etwa 7000 Personen teil, deren LDL-C Werte unter 116 mg/dl lagen. Über einen Zeitraum von 5 Jahren erhielten 10.269 Patienten täglich 40 mg Simvastatin und 10.267 Patienten ein Placebo. Die Gesamtmortalität war in der Statin-Gruppe signifikant geringer (12,9% vs. 14,7%). Das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse (Herzinfarkt oder Schlaganfall) wurde um ein Viertel gesenkt. Die Risikoreduktion erfolgte unabhängig vom Cholesterinausgangswert und spricht für einen lebensverlängernden Effekt der Statine (Heart Protection Study Collaborative Group 2002).

Bei nicht ausreichendem Erfolg oder schlechter Verträglichkeit von HMG-CoA-Reduktase-Hemmern werden gallensäurebindende Anionenaustauscher (z.B. Colestyramin, Colestipol) zusätzlich bzw. alternativ eingesetzt. Sie unterbrechen den enterohepatischen Kreislauf der Gallensäuren, indem sie die intestinale Resorption hemmen und stimulieren dadurch die Neubildung von Gallensäuren aus Cholesterin in der Leber und nachfolgend die LDL- Rezeptorsynthese. Das Serumcholesterin nimmt um 20-30% ab, Triglyceride und HDL- Cholesterin können leicht ansteigen. Da Ionenaustauscher nicht resorbiert werden, treten keine systemischen Nebenwirkungen auf. Sandiger Geschmack, Obstipation und Meteorismus als unerwünschte Arzneimittelwirkungen erschweren jedoch die Einnahme.

Eine neue und vielversprechende Therapieoption bietet der Cholesterin-Resorptionshemmer Ezetimib (EZETROL®), der seit November 2002 auf dem deutschen Markt zugelassen ist. Der genaue Wirkmechanismus der Substanz ist bisher noch nicht bekannt. Es wird aber vermutet, daß die Inhibierung membrangebundener Transportsysteme zu einer verminderten Resorption von diätetischem und biliärem Cholesterin im Intestinum führt, und dadurch eine Senkung des LDL-Cholesterinspiegels bewirkt. Untersuchungen an Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie konnten darüber hinaus zeigen, daß eine Kombinationstherapie aus Statinen und Ezetimib für den Patienten von Vorteil sein kann. Davidson et al beispielsweise randomisierten insgesamt 668 Patienten mit primärer Hypercholesterinämie mit einem LDL-Cholesterin zwischen 145 und 250 mg/dL in acht verschiedene Studienarme. Über zwölf Wochen erhielten die Patienten entweder eine Simvastatin-Monotherapie (10, 20, 40 oder 80 mg) und jeweils zusätzlich Ezetimib (10 mg) bzw. Placebo. Schon mit der geringsten Simvastatin-Dosis war eine Reduktion des LDL-Cholesterinspiegels um 27% zu verzeichnen. Erhielten die Patienten aber zusätzlich Ezetimib, stieg die Reduktion des LDL-Cholesterins auf 46% - unter einer Statin-Monotherapie war ein ähnlich guter Effekt erst mit der Höchstdosis von 80 mg zu erzielen. (DAVIDSON ET AL. 2002)

Kann dennoch durch medikamentöse Maßnahmen keine adäquate Einstellung des Lipoproteinprofils erreicht werden, stehen heutzutage in der klinischen Routine diverse extrakorporale Lipidapherese Verfahren zur Verfügung, welche die konservativen Maßnahmen ergänzen können. Ursächlich für solche Therapieresistenzen sind beispielsweise angeborene Lipidmetabolismusstörungen, wie die bereits beschriebene familiäre Hypercholesterinämie.

1.4 Techniken der Lipidapherese

Bereits im Jahre 1967, gelang es zum ersten mal Patienten mit Hyperlipoproteinämie erfolgreich einer Plasmaapherese Behandlung zu unterziehen (DEGENNES 1967).
Den ersten klinischen Einsatz dieser Methode realisierte Thompson 1975 (THOMPSON ET AL. 1975). Ein großer Nachteil der damals angewandten Methode bestand in der unselektiven Arbeitsweise des Verfahrens. Neben den Lipoproteinen wurden auch große Mengen Albumin filtriert, welches anschließend wieder substituiert werden musste.
Mit Hilfe der Kaskadenfiltration gelang es Agishi kurze Zeit später, die Menge an filtrierten physiologischen Makromolekülen zu senken. Allerdings mussten dabei große Einbußen hinsichtlich der Effektivität in Kauf genommen werden (AGISHI ET AL. 1980).
Hiervon ausgehend entstanden weitere Aphereseverfahren, welche sich in verschiedenen Bereichen der Selektivität und Effektivität voneinander unterscheiden.
Die Adsorptionsverfahren beruhen auf zwei Grundprinzipien: der Antigen-Antikörper Reaktion (Immunadsorption mit Anti-LDL-Antikörpern) zwischen dem Ligand und den Lipoprotein Partikeln und der elektrostatischen Wechselwirkung (Chemoadsorption an Dextransulfat).
1981 wurde von Stoffel et al. zum ersten mal das Verfahren der Immunadsorption angewandt. Der Vorteil dieses Verfahrens besteht in der hohen Selektivität und Effektivität für Apo-B-100 enthaltende Lipoproteine. Demgegenüber steht die Dauer einer Anwendung von etwa 2,5-3,5 Stunden, und der hohe technische und personelle Aufwand (STOFFEL ET AL. 1981). Seit 1993 gibt es zusätzlich spezielle spharosegebundene anti-Lp(a) Filter, zur Behandlung erhöhter Lp(a) Werte (POKROVSKY ET AL. 1991).

Beim 1983 präsentierten HELP-Verfahren werden aus dem separierten Plasma LDL-Cholesterol - Fibrinogen - Komplexe durch Zugabe von heparinisierter Acetatpufferlösung selektiv gefällt und durch anschließende Bikarbonatdialyse und Heparinentfernung die physiologischen und pH-, Elektrolyt-, und Volumenverhältnisse wiederhergestellt (SEIDEL 1996).

Mabuchi berichtete 1987 über ein Dextran-Sulfat-Adsorptions Verfahren, welches auf dem Prinzip der elektrostatischen Wechselwirkung beruht. Ähnlich wie bei der Immunadsorption ist die Selektivität für Apo-B-100 enthaltende Lipoproteine und die Effektivität groß. Dennoch ist der zeitliche und personelle Aufwand dieses Verfahrens vergleichbar hoch (MABUCHI ET AL. 1987).
Von den bereits beschriebenen Methoden, wird heutzutage in der klinischen Routine unter anderem mit drei selektiven LDL Apherese Verfahren gearbeitet:
LDL und Lp(a) Absorption durch

1. Apolipoprotein-B-Antikörper *(Immunoadsorption)*
2. Dextransulfat-Cellulose *(Chemoadsorption)*
3. das HELP-Verfahren.

Die Selektivität und Effektivität dieser drei Verfahren sind miteinander vergleichbar (OLBRICHT 1993). Technisch gesehen besteht bei allen vorher beschriebenen Systemen das Problem, das LDL und Lp(a) lediglich aus dem Plasma eliminiert werden kann. Das bedeutet, das grundsätzlich vor dem Beginn der Apherese eine Trennung der zellulären Blutbestandteile und dem Plasma stattfinden muss, welche das Verfahren zeitaufwendiger und komplexer gestaltet.
Indikationen zum Einsatz der Lipidapherese nach der Konsensus Konferenz von 1992 sind (GRETEN ET AL.1992):

1. Homozygote Form der familiären Hypercholesterinämie

- LDL-Cholesterin > 600 mg/dl.

2. Primäre Prävention der koronaren Herzerkrankung

- Junge Patienten mit positiver Familienanamnese
- LDL Cholesterin > 200 mg/dl trotz konservativer Therapie
- Koronarangiographisch nachgewiesene Koronargefäßveränderung im Stadium I-II

3. Sekundäre Prävention der koronaren Herzerkrankung

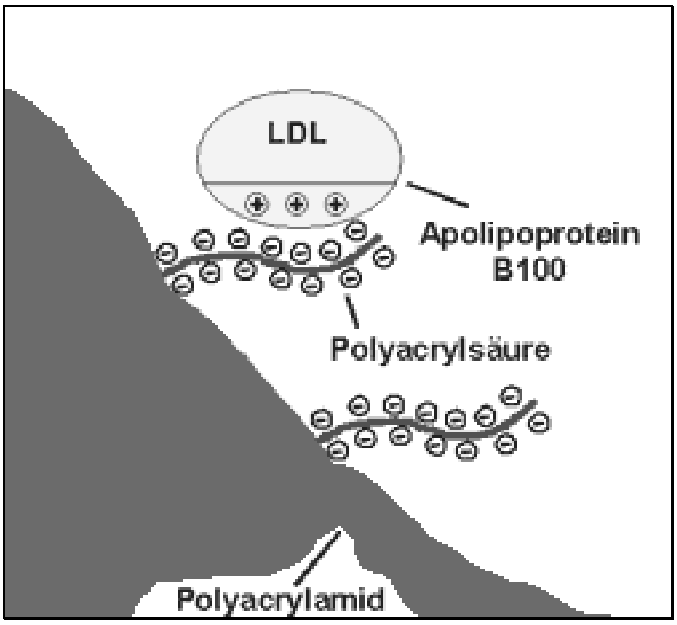
- LDL Cholesterin > 135 mg/dl trotz konservativer Therapie
- Koronarangiographisch nachgewiesene Koronargefäßveränderung im Stadium III-IV

1.5 Vollblut Lipidapherese (DALI)

Das Hauptproblem, bei den bereits vorgestellten Verfahren besteht darin, dass vor der eigentlichen Apheresebehandlung eine Separation des Vollbluts in Plasma und zelluläre Blutbestandteile mittels Membranplasmaseparator oder Hämozentrifuge vorausgehen muss. Im Gegensatz dazu entfällt dieser technische und zeitliche Mehraufwand bei dem neuen Verfahren der DALI Vollblutapherese (DALI = direct adsorption of lipids). Dieses von der Firma Fresenius entwickelte Verfahren (Fresenius HemoCare Adsorber Technology, St. Wendel, Deutschland), wurde zum ersten Mal 1993 von Bosch und Mitarbeitern beschrieben (BOSCH ET AL. 1993).
Der Adsorber des DALI Verfahrens besteht aus Polyacrylatliganden, welche kovalent an eine poröse Polyacrylamidmatrix gebunden sind. LDL und Lp(a) können frei in die Poren des Adsorbers diffundieren, während korpuskuläre Blutelemente abgehalten werden. Durch elektrostatische Wechselwirkungen zwischen dem negativ geladenen Polyacrylat und der positiven geladenen Oberflächen von LDL, Lp(a) und VLDL (siehe Abb.1), kommt es zu einer selektiven Retention dieser Lipoproteine im Inneren des Adsorbers (BOSCH 1996).

In Abbildung 1 ist die Wirkungsweise des Hämadsorbers schematisch dargestellt.

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Funktionsweise des DALI Hämadsorbers



Schematische Darstellung der Interaktion des positiv geladenen Apolipoprotein B100 und der negativ geladenen Polyacrylsäure des Adsorbers.

1.6 Selektivität, Effektivität und klinische Verträglichkeit

Die Anforderungen, die an ein extrakorporales Verfahren gestellt werden, lassen sich unter den Gesichtspunkten Selektivität, Effektivität und klinische Verträglichkeit zusammenfassen.

Durch die Charakterisierung verschiedener Messgrößen ist man heute in der Lage laboranalytische Quantifizierungen zur Erfassung der obengenannten Forderungen durchzuführen (BOSCH 1989).

Wie effektiv ein Lipidaphereseverfahren arbeitet, zeigt sich an der Elimination von LDL, Lp(a) und VLDL aus dem Blut des Patienten. Nach den NUB-Richtlinien von 1991 wird in diesem Zusammenhang eine LDL-C Absenkung im Patientenblut von mindestens 60% durch eine einzelne Apheresebehandlung gefordert. (NUB-Richtlinien 1991). Die Rolle des Fibrinogens als eigenständiger Risikofaktor der Atherosklerose wird kontrovers diskutiert.

Die Selektivität eines Lipidaphereseverfahren wird anhand der Recovery für Proteine wie z.B. HDL, Albumin und Immunglobuline bestimmt.

Darüber hinaus sollte die Recovery für Plasminogen, Antithrombin, α_2-Makroglobulin, Immunglobuline G,A,M und Haptoglobin $\geq$ 85% betragen.

Die Biokompatibilität wird durch eventuelle klinische Nebenwirkungen und die laborchemische Charakterisierung der Blut- Adsorberoberfläche bestimmt
Hierbei kann prinzipiell jede Komponente des extrakorporalen Kreislaufs eine Unverträglichkeitsreaktion auslösen. Die größte Oberfläche bei der Vollblutapherese stellt der Adsorber dar, welchem somit die größte Bedeutung bei der Modifikation von Blutbestandteilen zukommt (BOSCH 1996).
Die Bewertung der Unbedenklichkeit und Verträglichkeit erfolgt primär anhand:

- der Vitalparameter und dem klinischer Befund,
- dem eventuellen Auftreten von unerwünschten Ereignissen,
- der Veränderung zellulärer Blutkomponenten (z.B. Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten),
- der Zellschädigung (z.B. Hämolysezeichen),
- der eventuellen Gerinnungsaktivierung,
- und eventuellen Elektrolytveränderungen.

2 Ziel der Arbeit

Konventionelle Lipidaphereseverfahren sind häufig langwierig, da die Plasmaseparation den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt darstellt. Während diese Verfahren- je nach behandeltem Plasmavolumen- bis zu 3 Stunden pro Behandlung in Anspruch nehmen, gelingt eine ≥ 60-prozentige LDL-C Reduktion mit dem DALI Vollblutverfahren bei Blutflüssen von 60-80ml/min meist in ≤ 2 Stunden.

In der vorliegenden Arbeit sollte nun untersucht werden, ob die für die DALI LDL-Apherese bei Blutflüssen von 60-80ml/min nachgewiesene Effektivität, Selektivität und Verträglichkeit auch bei höheren Blutflussraten bis 240ml/min gegeben ist. Hierdurch würden sich die Behandlungszeiten zum Wohl der behandelten Patienten, als auch des behandelnden medizinischen Fachpersonals signifikant reduzieren lassen.

3 Patienten und Methoden

3.1 Studiendesign

Bei dieser offenen, multizentrisch durchgeführten Studie wurden
13 hypercholesterinämische Patienten in 7 Zentren rekrutiert. Die jeweiligen Behandlungen durch die DALI Apherese wurden von einem Facharzt mit Erfahrung auf dem Gebiet der extrakorporalen Therapieverfahren durchgeführt, und erfolgten bei Flussgeschwindigkeiten von Q_b = 60, 80, 120, 160, 200 und 240 ml/min. Die Apheresebehandlung erfolgte in wöchentlichen Abständen. Dabei wurde jeder Patient je dreimal mit den 6 geplanten Flussraten behandelt, so dass pro Patient 18 Behandlungen geplant waren.
Aufgrund von Strömungsproblemen mancher AV-Shunts kam es zu einem vorzeitigen Ausscheiden von 4 Patienten bei einer Flussrate von Q_b < 240 ml/min.
Alle Patienten wurden über die Ziele und Risiken der Studie eingehend aufgeklärt und erteilten ihr schriftliches Einverständnis. Das für die Behandlungen an den verschiedenen Zentren im Vorfeld eingeholte Votum der Ethikkommission lag ebenfalls vor.
Die Antikoagulation bei Blutflussraten ≥ 80ml/min, bestand neben kontinuierlicher ACD-A Applikation in der Gabe eines Heparinbolus (siehe 3.3 DALI-Apherese).
Elf Patienten wurden mit einem 750ml Polyacrylatadsorber behandelt. Lediglich zwei Patienten wurden aufgrund massiver Adipositas und ungenügender Effizienz des 750ml Adsorbers mit einem 1000 ml Adsorber behandelt .
Im Mittel wurde das 1.3fache des Patientenblutvolumens behandelt. Die Berechnung des Blutvolumens erfolgte nach der Nadler- Formel (NADLER ET AL 1962).

3.2 Patienten

Die Behandlung erfolgte an 13 Patienten beiderlei Geschlechts im Alter von 18 - 65 Jahren, im Sinne einer Sekundärprävention bei symptomatischer Atherosklerose.
An der Studie konnten ausschließlich Patienten mit vorbestehendem und funktionierendem AV-Shunt (z.B. Cimino-Fistel) teilnehmen, die bereits seit mindestens acht Wochen regelmäßig mit DALI-LDL-Apherese behandelt worden waren.

Der Einsatz der Lipidapherese fand nach den Richtlinien der Konsensus Konferenz zum Einsatz der LDL Apherese von 1992 statt (siehe 1.4).
Alle Patienten waren zum Zeitpunkt der Rekrutierung und im Verlauf der Studie mit CSE-Hemmern in der von ihnen tolerierten Maximaldosierung behandelt.

Ausschlusskriterien waren sämtliche Akuterkrankungen, bekannte allergische oder hämorrhagische Diathese, kardiale Akuterkrankungen, Schwangerschaft, Erkrankungen des blutbildenden Systems, Malignome, psychiatrische Erkrankungen, Erkrankungen der Lunge und Behandlung mit ACE- Inhibitoren.

Tabelle 2 und 3 geben eine Übersicht über die demographischen und medizinisch relevanten Daten vor Behandlungsbeginn.

Tabelle 2: Lipoproteine und Fibrinogen in der Vorphase.

Pat. Zentrum/Nr.	Gesamt cholesterin [mg/dl]	Triglyceride [mg/dl]	LDL [mg/dl]	HDL [mg/dl]	Lp (a) [mg/dl]	Fibrinogen [mg/dl]
11	320	183	185	56	4	335
12	206	128	133	47	14	337
21	297	132	188	76	5	280
31	314	220	229	37	93	421
32	247	211	177	35	13	323
41	229	66	155	50	60	302
42	209	42	131	56	71	232
61	189	565	80	23	n. dgf.	333
62	208	239	108	54	95	290
63	215	138	88	61	n. dgf.	317
71	249	143	180	30	67	287
72	270	141	176	67	65	366
81	360	271	273	29	126	303
MW ± SEM	**255 ± 44**	**191 ± 85**	**162 ± 42**	**48 ± 13**	**56 ± 34**	**317 ± 32**
n =	**13**	**13**	**13**	**13**	**11**	**13**

Das LDL- Cholesterin war im Durchschnitt auf 162 mg/dl erhöht. MW = Mittelwert; SEM = Standard error of the mean; n = Anzahl der Patienten; n. dgf.= "nicht durchgeführt"

Tabelle 3: Demographisch und medizinisch relevante Patientendaten.

Pat. Zentrum/Nr.	Geschlecht	Alter (Jahre)	Körpergewicht (kg)	Diagnose	Medikation
11	weiblich	44	104	KHK	ASS 100, Isoket retard 40, Concor 5, Nitrolingual.
				HLP	Sortis 20
12	weiblich	55	67	KHK	Aspirin 100, Corangin 100, Corvaton ret., Isoket, Sotalex mite.
				HLP	Sortis 20
21	weiblich	61	59	HLP	Sortis 20
				KHK	Dilzem
31	weiblich	50	88	HLP	Denan 20, Lipidil
32	weiblich	51	74	KHK	Beloc Zok mite, ISDN 20.
				HLP	Denan 20
41	weiblich	31	87	KHK	ASS 100, Selectol 200.
				HLP	Sortis 20, Pravasin 20.
42	männlich	26	95	KHK	ASS 100
				HLP	Sortis 20, Pravasin 20.
61	männlich	62	77	KHK	Dilatrend 25, Lorzaar plus.
				pAVK	ASS 300
				HLP	Sortis 20
62	weiblich	49	68	KHK	Molsidomin ret, Lorzaar, ISDN ret. 120, Baymycard 5, ASS 100.
				HLP	Pravasin 20
63	weiblich	47	78	KHK	Atenolol 25
				HLP	Zocor 20
71	männlich	53	83	KHK	Corindolan mite
				HLP	Sortis 20
72	weiblich	63	60	KHK	ASS 100
				HLP	Cranoc 40
81	männlich	33	130	KHK	ASS 100, Coravaton, Malton E.
				HLP	Zocor 40

Alle 13 Patienten litten unter mindestens einer symptomatischen atherosklerotischen Folgeerkrankung. Diagnosenerläuterung: KHK = Koronare Herzerkrankung, HLP = Hyperlipoproteinämie, pAVK = periphere arterielle Verschlusskrankheit.

3.3 DALI – Apherese (Direktadsorption von Lipoproteinen)

Die Behandlungen erfolgten mit dem Hämoadsorptionsgerät 4008 ADS, den LDL-Adsorbersäulen, den Blutschläuchen und dem Antikoagulans ACD-A (Citrat) der Firma Fresenius (Fresenius, St. Wendel, Deutschland). Bei den benutzten Kits handelte es sich um kommerzielle DALI Sets.

Vor der Behandlung wurde der extrakorporale Kreislauf mit 3 x 2000ml Primerlösung (DMR 172, Fresenius, St. Wendel), zur Äquilibrierung auf physiologische Bedingungen gespült.

Die Antikoagulation des Blutes erfolgte im Sinne eines “Low-dose citrate regimen (LDC)“ um die Gefahr eventueller Nebenwirkungen der Citratbehandlung, wie Tetanie, Krämpfe, Parästhesien und Hypotonie möglichst gering zu halten (BOSCH ET AL. 2000).

Dabei wurde bei Qb ≥ 80 ml/min der erste Primerlösungsbeutel mit einem Heparinbolus von 20000IE versetzt. Die systemische intravenöse Heparinapplikation unmittelbar vor der Behandlung erfolgte wie in Tabelle 4 beschrieben.

Zusätzlich wurde während der Apherese die Antikoagulation im extrakorporalen Kreislauf, mit einer ACD-A Infusion mit einer konstanten Infusionsgeschwindigkeit von 2,66 ml pro Minute durchgeführt (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Antikoagulationsschema.

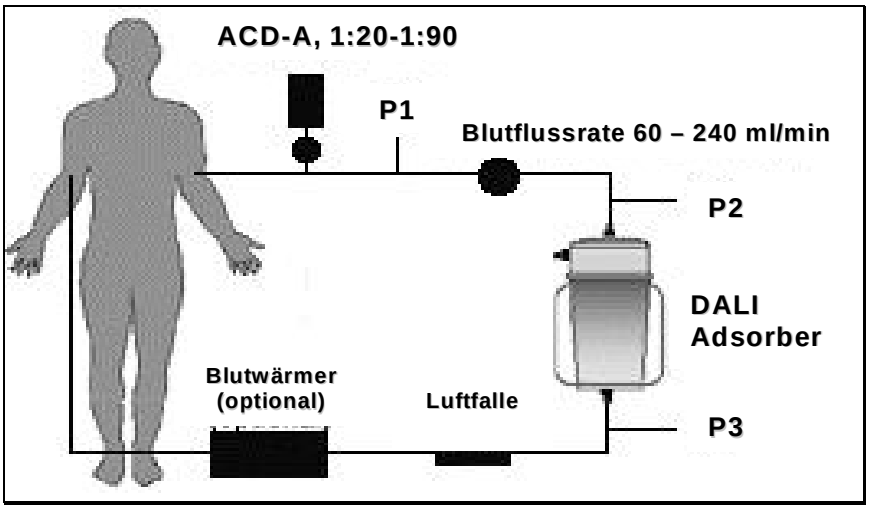
Blutflussrate (ml/min)	ACD-A/Blut-Verhältnis während Vorbereiten und Behandlung (ml/ml)	Heparin, erster Primer-lösungsbeutel (IE/2l)	Heparin-Bolus / Patient
60ml/min	1/20	-	-
80ml/min	1/30	20.000 IE	4.333 IE
120ml/min	1/45	20.000 IE	3000 IE
160ml/min	1/60	20.000 IE	2000 IE
200ml/min	1/75	20.000 IE	2000 IE
240ml/min	1/90	20.000 IE	2000 IE

Während einer Flussrate von Q_b = 60ml/min wurde im Gegensatz den übrigen Flussraten auf Heparin verzichtet. Die ACD-A Infusionsgeschwindigkeit betrug konstant 2.66 ml/min.

Der extrakorporale Kreislauf des DALI- Systems ist in Abbildung 1 dargestellt.
Am Beginn des zuführenden Schlauchsystem des extrakorporalen Kreislaufs wurde das Blut kontinuierlich mit ACD-A versetzt. Die ACD-A Beimischung wurde in einem einstellbaren Verhältnis in Abhängigkeit zum Blutfluss über eine Rollenpumpe zugemischt. Der ACD-A- Zufluss wurde über einen Tropfenzähler überwacht.

Um eine eventuelle Luftinsufflation zu verhindern, wurde das Blut des abführenden Schlauchsystems über eine Luftfalle mit Ultraschallüberwachung geleitet.
Die Druckverhältnisse im Kreislauf wurden über Monitore an der Eingangsleitung, vor der Adsorbersäule und in der Rücklaufleitung überwacht.
Mit Hilfe des Eingangsdruckmonitors P1 konnte unter anderem ein Ansaugen der Nadel an der Gefäßwand erkannt werden. Die Drucküberwachung der Adsorbersäule erfolgte an den Stellen P2 und P3, und ließ Rückschlüsse auf den Druckgradienten und eventuelle Gerinnsel in der Säule zu. In der Rücklaufleitung wurde der Infusionsdruck überwacht, um eine eventuelle Diskonnektion zu erkennen.

Abbildung 2: Der extrakorporale Kreislauf des DALI Systems.



Blut des Patienten wird durch ACD-A im Verhältnis 1:20-1:90, je nach Flussrate antikoaguliert. Druckverhältnisse innerhalb des Systems werden an den Stellen P1-3 bestimmt.. Die Kreise repräsentieren die ACD-A- und die Blutpumpe.

Die LDL-Adsorbersäulen bestanden aus einem durchsichtigen, zylindrischen Kunststoffgehäuse, an dem sich drei Schlauchanschlüsse befanden. Der Anschluss auf dem Gehäusedeckel diente zur Konnektion der Adsorberdruckleitung, der seitliche Anschluss an der oberen Gehäusewand war für die Blutzufuhr bestimmt, und an dem Anschluss an der Gehäuseunterseite wurde die Blutrücklaufleitung befestigt.

Die Gehäuse waren mit einer Füllung aus Methacrylatpolymer versehen. Diese porösen Kügelchen sind mit negativ geladenen Polyacrylsäuremolekülen kovalent beschichtet, an die die Anbindung des LDL über seinen Apolipoproteinanteil erfolgt. Die so beschaffene Matrix wurde durch zwei engmaschige Kunststoffsiebe (40 µm) an einem Austreten aus dem Gehäuse gehindert. Die Adsorbermatrix setzt sich aus dem Trägermaterial Polymethacrylat (mittlere Korngröße mit einem Durchmesser von 150 - 250 µm) und dem Liganden Polyacrylsäure (mittleres Molekulargewicht ca. 1000 kD) zusammen (siehe Abbildung 2).

Das individuelle Blutvolumen wurde über Geschlecht, Körpergewicht und Größe für jeden Patienten nach der sogenannten Nadler- Formel berechnet (siehe 3.5 Berechnungen und Statistik.). Es wurde das 1.3fache Patientenblutvolumen pro DALI Apherese behandelt. Die Messung des Blutdrucks und der Pulsfrequenz erfolgte alle 30 Minuten.

Tabelle 5: Blutvolumen und prozessiertes Volumen.

Patienten	Geschlecht	Größe (m)	Gewicht (kg)	Blutvolumen in Litern nach Nadler (s. 4.5)	Prozessiertes Volumen (1,3 x BV in Litern)
11	weiblich	1,76	104,00	5,56	7,23
12	weiblich	1,60	67,40	3,87	5,03
21	weiblich	1,53	59,00	3,41	4,43
31	weiblich	1,68	88,00	4,78	6,22
32	weiblich	1,53	74,00	3,91	5,08
41	weiblich	1,79	87,40	5,12	6,65
42	männlich	1,94	95,00	6,34	8,24
61	männlich	1,69	77,00	4,85	6,31
62	weiblich	1,63	68,00	3,97	5,17
63	weiblich	1,64	78,00	4,33	5,63
71	männlich	1,71	83,00	5,11	6,64
72	weiblich	1,60	60,00	3,63	4,71
81	männlich	1,85	130,00	7,11	9,25
MW ± SEM		**1,69 ± 0,09**	**82,4 ± 14,3**	**4,8 ± 0,9**	**6,2 ± 1,1**

3.4 Labormethoden

Die Entnahmezeitpunkte und die zu untersuchenden Laborparameter sind der nachfolgenden tabellarischen Übersicht zu entnehmen. Insgesamt wurden für alle unten genannten Parameter pro Behandlung und Patient etwa 30ml Blut entnommen. Die Blutproben wurden vor und 5 Minuten nach Beendigung der Apherese aus der liegenden Shuntpunktionsnadel entnommen.

Sämtliche Blutanalysen fanden im beteiligten Zentrallaboratorium der Medizinische Universitätsklinik Freiburg (Abteilung für klinische Chemie, Medizinische Universitätsklinik Freiburg) statt und wurden mit gebräuchlichen Methoden bestimmt.

Das Labor nahm im Vorfeld an Ringversuchen im Sinne einer Qualitätssicherung teil und erhielt für sämtliche bestimmten Messgrößen über den Zeitraum der Untersuchungen eine Zertifizierung des Instituts für Standardisierung und Dokumentation im medizinischen Laboratorium (INSTAND e.V., Düsseldorf).

Tabelle 7 gibt eine Übersicht über angewandte Methoden, verwendete Geräte und Materialien:

Tabelle 6: Methoden, Materialien und angewandte Geräte bei der Parameterbestimmung.

Parameter	**Methode**	**Materialien und Geräte**
Gesamtcholesterin	enzymat. Farbtest	Reagenzien: Wako
Triglyceride	enzymat. Farbtest	Reagenzien: Wako
LDL	enzymat. Farbtest	Reagenzien: Roche
HDL	enzymat. Farbtest	Reagenzien: Roche
Lp (a)	immunologisch	Reagenzien: Roche
Zitrat	enzymat. UV-Test	Reagenzien: Roche
Kalzium, gesamt	Farbtest	Reagenzien: Roche
Glucose	enzymat. UV-Test	Reagenzien: Roche
Natrium	Ionenselektive Elektrode	Elektroden: Roche
Kalium	Ionenselektive Elektrode	Elektroden: Roche
ALAT	UV-Test	Reagenzien: Roche
ASAT	UV-Test	Reagenzien: Roche
CK	N-Acetylcystein	Reagenzien: Roche
y-GT	enzymat. Farbtest	Reagenzien: Roche
AP	Farbtest -	Reagenzien: Roche
TP	Biuret	Reagenzien: Roche
LDH	UV-Test	Reagenzien: Roche
Albumin	Farbtest	Reagenzien: Roche
Harnstoff	kinet. UV-Test	Reagenzien: Roche
Harnsäure	enzymat. Farbtest	Reagenzien: Roche
Kreatinin	enzymat. Farbtest	Reagenzien: Roche
Bilirubin, gesamt	DPD Photometrie	Reagenzien: Roche
Hb, gesamt	Cyanhämoglobin	Sysmex SE9000
Hkt	optoelektronisch	Sysmex SE9000
Erythrozyten	optoelektronisch	Sysmex SE9000
Thrombozyten	optoelektronisch	Sysmex SE9000
Leukozyten	optoelektronisch	Sysmex SE9000
Lymphozyten	optoelektronisch	Sysmex SE9000
Eosinophile	optoelektronisch	Sysmex SE9000
Basophile	optoelektronisch	Sysmex SE9000
PTT	clotting test	Dade Behring/BCS
PTZ (nach Quick)	clotting test	Dade Behring/BCS
Fibrinogen	Clauss	Dade Behring/BCS
IL-6	immunologisch	DPC Biermann
IgG	immunologisch	Reagenzien: Roche
IgM	immunologisch	Reagenzien: Roche

Analyzer / Klinische Chemie: Hitachi 917/Modular, Roche Diagnostics.

3.5 Berechnungen und Statistik

Die Ergebnisse der Untersuchung sind im folgenden als Mittelwerte und Standardabweichungen des Mittelwerts angegeben (MW ± SEM).
Die Reduktionen der einzelnen Parameter wurden nach Gleichung 1 berechnet und in Prozent angegeben:

(1): $\textbf{\textit{Reduktion}}_{\textbf{Parameter}}\ \textbf{\%} = (C_{vor} - C_{nach}) \times 100 / C_{vor}$

C_{vor} stellt die Serum- bzw. Plasmakonzentration vor der Behandlung, C_{nach} die Serum- bzw. Plasmakonzentration nach der entsprechenden Behandlung mit DALI dar.
Zur Bestimmung der Mittelwerte von C_{vor} und C_{nach} wurden von Parameter der einzelnen Patienten pro Flussgeschwindigkeiten addiert und das arithmetische Mittel sowie die Standardabweichung des Mittelwerts berechnet.

Das Patientenblutvolumen wurde über Geschlecht, Körpergewicht und Größe nach der Nadler- Formel berechnet (NADLER ET AL. 1962).

Das Männerblutvolumen in Litern berechnet sich nach Gleichung (2):

(2): $\mathbf{M_{BV}} = 0{,}3669 \times (\text{Größe in m})^3 + 0{,}03219 \times (\text{Körpergewicht in kg}) + 0{,}6041.$

Das Frauenblutvolumen in Litern berechnet sich nach Gleichung (3):

(3): $\mathbf{F_{BV}} = 0{,}3561 \times (\text{Größe in m})^3 + 0{,}03308 \times (\text{Körpergewicht in kg}) + 0{,}1833.$

4 Ergebnisse

Neun von 13 Patienten konnten die komplette Studie im Sinne des Studienprotokolls beenden. Die mittlere Menge des insgesamt behandelten Blutvolumens pro Sitzung betrug 6,20 ± 1,10 Liter. Dies entsprach 130% des Patienten Blutvolumens.

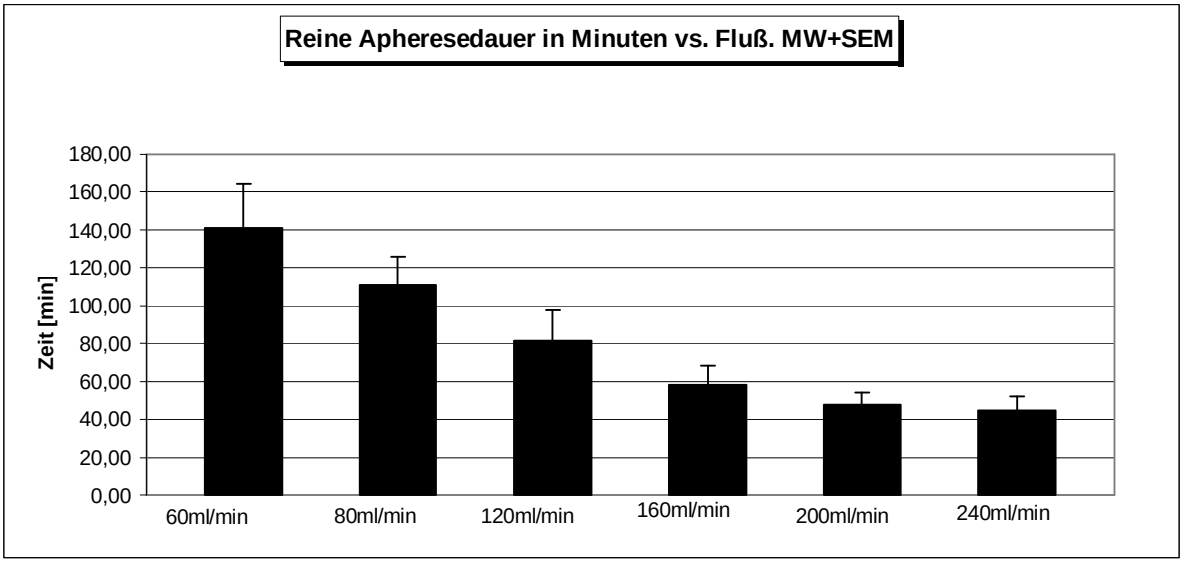
4.1 Behandlungsdauer

Die “set-up“ Zeit inklusive der vorangehenden Spülung des Systems benötigte pro Behandlung etwa 30 Minuten.

Im Vergleich zu Q_b = 60 ml/min konnte die effektive Behandlungsdauer durch die Erhöhung der Flussrate auf 120 ml/min von 143 auf 83 Minuten (42% Reduktion) verkürzt werden. In Diagramm 4 ist die stetige Abnahme der Behandlungsdauer in Abhängigkeit der Flussrate dargestellt.

Abbildung 3: Behandlungsdauer in Abhängigkeit der Flussgeschwindigkeit.

Die Behandlungsdauer konnte bei Q_b = 120 ml/min um 42% gegenüber Q_b = 60 ml/min gesenkt



werden. Bei maximaler Blutflussrate von Q_b = 240 ml/min sogar um 70%.

4.2 Lipoproteine und Fibrinogen

Die Tabelle 7 zeigt die gemessenen Lipoprotein- und Fibrinogenkonzentrationen, sowie die berechneten Lipoproteinreduktionen.

Die Daten der Lipoproteinbestimmung zeigten, dass die Effektivität der DALI Apherese mit zunehmender Flussgeschwindigkeit abnahm (Abb. 4 und 5).

Die Reduktion des Gesamtcholesterins nahm von 56 ± 5 % (Q_b = 60ml/min) mit steigender Geschwindigkeit auf 43 ± 3 % (Q_b = 240ml/min) ab.

Bei einer Flussgeschwindigkeit von Q_b > 80ml/min unterschritt der Wert der LDL-C Reduktion den angestrebten Zielwert von 60% und fiel bei Q_b = 120ml/min im Mittel auf 57 ± 8 % ab.

Die Reduktion des Lp(a) dagegen unterschritt diesen Grenzwert erst bei einem Fluss von Q_b > 160ml/min und betrug bei Q_b = 160ml/min noch 60 ± 10%.

Bis auf Q_b = 60ml/min war die Reduktion der Triglyceride relativ konstant und ergab durchschnittlich einen Wert von 42 ± 6%. Allein der Wert der Reduktion bei Q_b = 60ml/min lag mit 25 ± 19% deutlich niedriger.

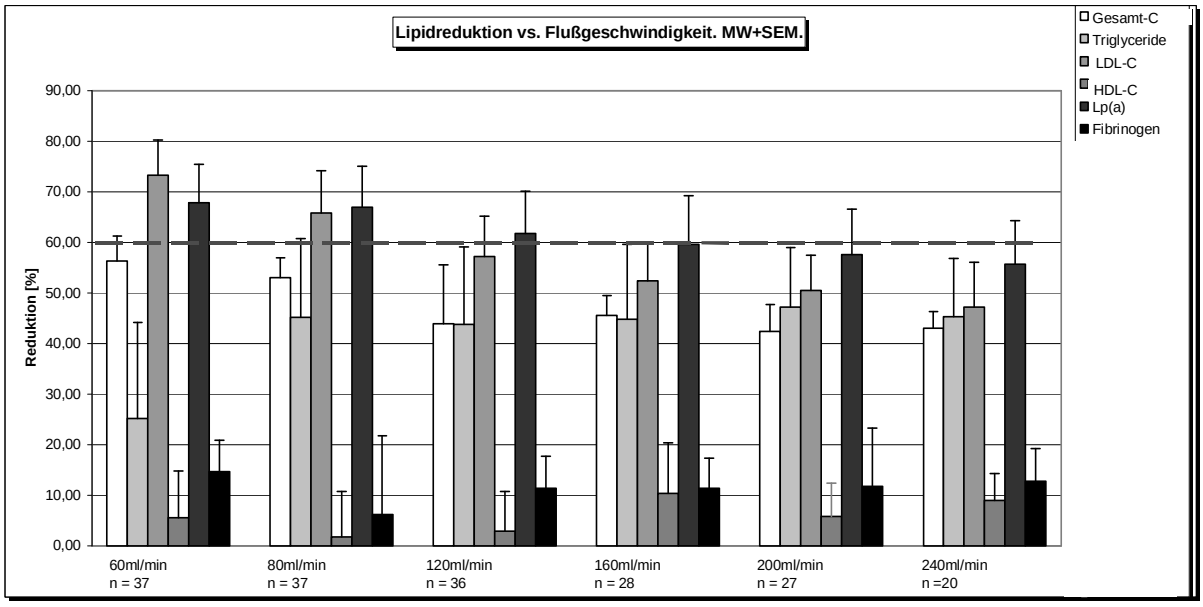
Die mittleren Reduktionsraten des HDL-C und des Fibrinogen blieben während nahezu allen Geschwindigkeitsstufen konstant und betrugen 5 ± 4 % und 11 ± 2 %.

Eine Gesamtübersicht, der ermittelten Daten der Lipoprotein und Fibrinogen Bestimmungen zeigt Tabelle 7.

Abbildung 4 und 5 zeigen graphische Darstellungen der ermittelten Werte der Lipoprotein- und Fibrinogen- Reduktion geordnet nach der Flussgeschwindigkeit.

Die rote gestrichelte Linie stellt die angestrebte 60% Reduktion pro durchgeführter Behandlung des Verfahrens für LDL-C und Lp(a) dar.

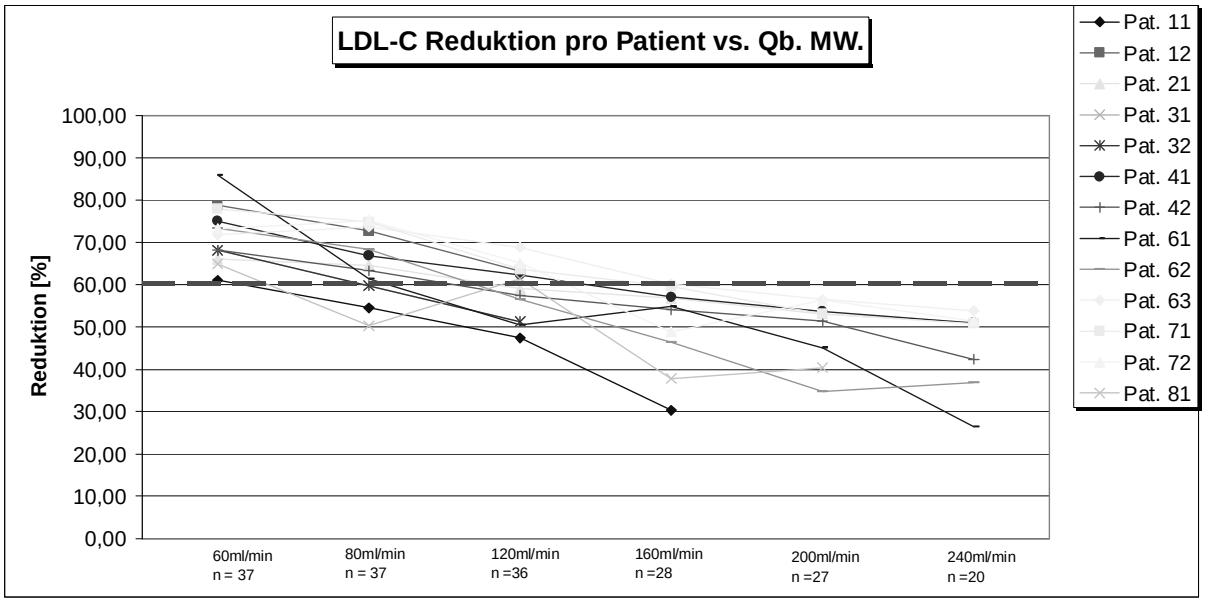
Abbildung 4: Lipoprotein- und Fibrinogen- Reduktion der verschiedenen Flussgeschwindigkeiten



Die 60% Reduktionsgrenze für LDL-C wird bei Q_b = 120ml/min unterschritten. Für Lp(a) wird diese Grenze erst bei Q_b= 160 ml/min erreicht. Die Balken zeigen MW und SEM der einzelnen Parameter. n = Anzahl der Behandlungen.

In Abbildung 5 wird die individuelle LDL-C Reduktion der einzelnen Patienten in Form einer Kurvenschar gegenübergestellt. Die rote Linie stellt wiederum die angestrebte 60% Soll-Reduktion dar. Es zeigt sich, das bei Q_b= 120 ml/min acht, bei Q_b= 160 ml/min alle Patienten die 60% Soll-Reduktion unterschreiten.

Abbildung 5: Individuelle LDL-C Reduktion der behandelten Patienten



Die 60% Reduktionsgrenze für LDL wird bei Q_b = 120ml/min von 8 Probanden unterschritten. Bei Q_b= 160 ml/min ist die Reduktionsrate bei allen Probanden unterhalb der 60% Marke.

Tabelle 7: Lipoproteine und Fibrinogen.

Fluss-Geschwindigkeit		Gesamt Cholesterin [mg/dl]	Triglyceride [mg/dl]	LDL-C [mg/dl]	HDL-C [mg/dl]	Lp (a) [mg/dl]	Fibrinogen [mg/dl]
60ml/min	vor/MW ± SEM	247 ± 40	182 ± 83	160 ± 38	46 ± 12	64 ± 38	324 ± 40
	nach/MW ± SEM	110 ± 19	130 ± 66	44 ± 17	42 ± 10	21 ± 14	277 ± 44
	%R/MW ± SEM	56 ± 5	25 ± 19	73 ± 7	6 ± 9	68 ± 8	15 ± 6
	n =	33	35	37	37	33	37
80ml/min	vor/MW ± SEM	243 ± 40	200 ± 105	156 ± 37	47 ± 12	59 ± 31	316 ± 63
	nach/MW ± SEM	114 ± 20	115 ± 80	54 ± 23	46 ± 12	20 ± 13	278 ± 52
	%R/MW ± SEM	53 ± 4	45 ± 16	66 ± 8	2 ± 9	67 ± 8	6 ± 16
	n =	37	37	37	37	37	37
120ml/min	vor/MW ± SEM	250 ± 41	213 ± 92	161 ± 36	44 ± 13	65 ± 29	328 ± 45
	nach/MW ± SEM	125 ± 22	129 ± 72	67 ± 19	42 ± 12	25 ± 15	292 ± 52
	%R/MW ± SEM	44 ± 12	44 ± 15	57 ± 8	3 ± 8	62 ± 8	11 ± 6
	n =	37	36	37	35	35	40
160ml/min	vor/MW ± SEM	227 ± 43	196 ± 108	138 ± 38	45 ± 14	58 ± 31	310 ± 57
	nach/MW ± SEM	136 ± 33	129 ± 88	74 ± 28	42 ± 14	29,29 ± 18	274 ± 52
	%R/MW ± SEM	46 ± 4	45 ± 15	52 ± 8	10 ± 10	60 ± 10	11 ± 6
	n =	30	30	28	25	26	30
200ml/min	vor/MW ± SEM	227 ± 44	235 ± 137	142 ± 42	44 ± 17	65 ± 28	286 ± 60
	nach/MW ± SEM	156 ± 49	160 ± 114	91 ± 44	43 ± 15	39 ± 24	259 ± 41
	%R/MW ± SEM	42 ± 5	47 ± 12	51 ± 7	2 ± 15	58 ± 9	12 ± 12
	n =	27	27	27	26	26	28
240ml/min	vor/MW ± SEM	219 ± 51	182 ± 89	137 ± 48	46 ± 16	59 ± 30	325 ± 57
	nach/MW ± SEM	165 ± 51	133 ± 73	99 ± 40	43 ± 15	40 ± 22	282 ± 53
	%R/MW ± SEM	43 ± 3	45 ± 11	47 ± 9	9 ± 5	56 ± 9	13 ± 7
	n =	25	25	20	21	22	25
MW ± SEM / 60-240 / vor		235 ± 11	201 ± 15	148 ± 10	45 ± 1	62 ± 3	315 ± 11
MW ± SEM / 60-240 / nach		134 ± 18	133 ± 9	72 ± 17	43 ± 1	29 ± 7	277 ± 7
MW ± SEM / 60-240 / %R		47 ± 5	42 ± 6	58 ± 8	5 ± 4	62 ± 4	11 ± 2
n =		189	190	189	181	179	197

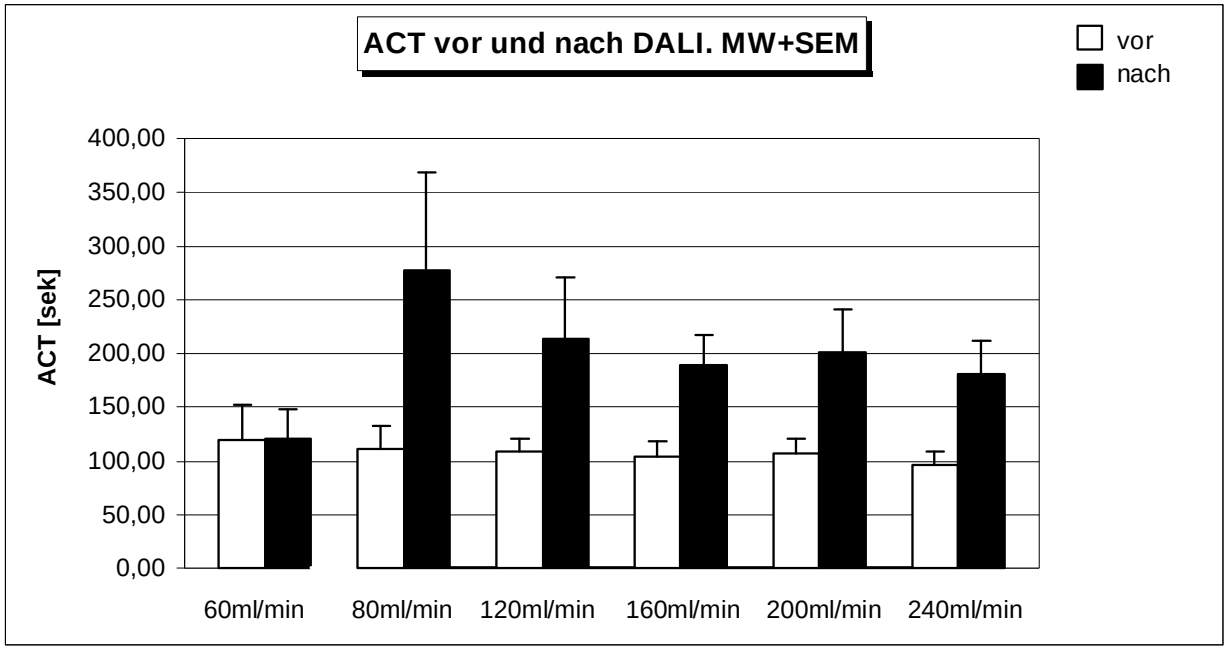
vor = Vor Behandlung mit DALI; nach = Nach Behandlung mit DALI; %R = Reduktion in Prozent; n = Anzahl der Behandlungen; MW = Mittelwert; SEM = Standardfehler des Mittelwerts.

4.3 Gerinnungsparameter

Die ermittelten Werte der Gerinnungsparameter werden in Abbildung 6 und Tabelle 8 dargestellt. Die Antikoagulation war sicher und effektiv ohne Anhalt für die Bildung von Gerinnseln oder Blutungen. Die aktivierte Gerinnungszeit (ACT), die partielle Thromboplastinzeit (PTT) und die Thromboplastinzeit (TPZ/Quick) lagen in einem adäquat verlängerten Bereich. Die Gerinnungswerte der Heparin abhängigen Größen ACT und PTT zeigten bei DALI- Behandlungen mit einer **Flussgeschwindigkeit von Q_b = 60ml/min**, welche heparinfrei durchgeführt wurden, nur minimale Veränderungen. Der Wert der aktivierten Gerinnungszeit, verlängerte sich von 119 ± 33 Sekunden auf 126 ± 33 Sekunden. Der Wert der PTT dagegen war im Durchschnitt von 36 ± 5 Sekunden auf 74 ± 21 Sekunden auf das doppelte verlängert.

Bei der Anwendung von Heparin, bei **Flussraten Q_b > 60ml/min** verlängerte sich die ACT im Mittel von 105 ± 4 Sekunden auf 214 ± 28 Sekunden und der Wert der PTT von 39 ± 4 Sekunden auf 160 ± 1 Sekunden. Der Quickwert wurde bei sämtlichen Flussraten nur gering verlängert und sank im Durchschnitt von 96 ± 2 % nur auf 85 ± 3 %.

Abbildung 6: Aktivierte Gerinnungszeit (ACT) versus Fluss.



Ab Q_b = 80ml/min ist gegenüber Q_b = 60ml/min die Verlängerung der ACT durch die Anwendung von Heparin zu erkennen.

Tabelle 8: Gerinnungsparameter: ACT, PTT und Quickwert.

Fluss-Geschwindigkeit		ACT [sec]	PTT [sec]	Quick [%]
60ml/min	vor/MW ± SEM	119 ± 33	36 ± 5	99 ± 2
	nach/MW ± SEM	126 ± 33	74 ± 21	82 ± 10
	%R/MW ± SEM	-9 ± 20	-106 ± 46	17 ± 11
	n =	29	37	37
80ml/min	vor/MW ± SEM	111 ± 22	48 ± 24	95 ± 7
	nach/MW ± SEM	277 ± 91	158 ± 4	76 ± 11
	%R/MW ± SEM	-150 ± 76	-307 ± 86	-3 ± 50
	n =	33	32	37
120ml/min	vor/MW ± SEM	109 ± 17	39 ± 10	98 ± 3
	nach/MW ± SEM	221 ± 67	>160 ± 0	85 ± 10
	%R/MW ± SEM	-117 ± 70	-350 ± 62	14 ± 10
	n =	39	34	40
160ml/min	vor/MW ± SEM	104 ± 15	36 ± 4	98 ± 4
	nach/MW ± SEM	190 ± 27	>160 ± 0	88 ± 8
	%R/MW ± SEM	-88 ± 25	-345 ± 68	10 ± 6
	n =	28	26	30
200ml/min	vor/MW ± SEM	107 ± 14	40 ± 9	92 ± 11
	nach/MW ± SEM	202 ± 39	>160 ± 0	86 ± 8
	%R/MW ± SEM	-88 ± 44	-320 ± 81	-42 ± 105
	n =	28	24	28
240ml/min	vor/MW ± SEM	97 ± 13	33 ± 3	98 ± 3
	nach/MW ± SEM	180 ± 31	>160 ± 0	88 ± 8
	%R/MW ± SEM	-89 ± 37	-380 ± 51	10 ± 6
	n =	22	20	23
MW ± SEM / 80-240 / vor		106 ± 4	39 ± 4	96 ± 2
MW ± SEM / 80-240 / nach		214 ± 28	160 ± 1	85 ± 3
n =		150	136	158

vor = Vor Behandlung mit DALI; nach = Nach Behandlung mit DALI; %R = Reduktion in Prozent; n = Anzahl der Behandlungen; MW = Mittelwert; SEM = Standardfehler des Mittelwerts.

4.4 Klinische Chemie

Die durchschnittliche Veränderung der folgenden routinemäßig bestimmten Laborparameter durch die DALI Apheresen war während der verschiedenen Geschwindigkeitsstufen konstant. Insgesamt lagen die ermittelten Werte innerhalb der vorgegebenen Referenzbereiche. Die Tabellen 9-11 zeigen die ermittelten Daten.
ACD-A bedingt zeigte sich bei den jeweiligen Behandlungsstufen eine leichte Erhöhung der Glucose im Serum (im Mittel: 119 ± 3 mg/dl → 128 ± 6 mg/dl), sowie ein Absinken des ionisierten Kalziums (im Mittel: 1,09 ± 0,03 mmol/l → 0,93 ± 0,02 mmol/l) und des Gesamtkalziums (im Mittel: 2,29 ± 0,02 mmol/l → 2,02 ± 0,18 mmol/l). Die Werte des ionisierten Kalziums lagen dabei während jeder Behandlung über der kritischen Konzentration von 0,9 mmol/l (s. Tabelle 10).
Die Daten der Citratbestimmung spiegeln die infundierte Menge an ACD-A über den Verlauf der Behandlung wider. Der größte Zuwachs vor und nach der Behandlung war in diesem Zusammenhang bei Q_b = 60ml/min zu verzeichnen (280±87%).
Während jeder Behandlung trat ein konstant geringer Verlust an Protein und Albumin auf. Protein wurde von im Mittel von 6,60 ± 0,05 g/dl auf 5,79 ± 0,02 g/dl, Albumin von 3,95 ± 0,08 auf 3,56 ± 0,06 g/dl vermindert. Zur näheren Untersuchung der Selektivität des Systems wurden außerdem die Proteine IgG und IgM bestimmt. Die Werte beider Immunglobuline, wurden bei steigender Flussrate nur leicht verringert. Die mittlere Reduktion des IgG (13,25 ± 0,89%) war dabei etwas geringer als die des IgM (15,62 ± 0,73%). Die Protein Recovery für IgG und IgM lag bei allen Behandlungen bei etwa 85%.
Die Laktatdehydrogenase (LDH), als Marker für einen Zellzerfall (Hämolyse) war konstant und zeigte auch bei hohen Flussgeschwindigkeiten keine Erhöhung der Werte sondern vielmehr ein durchschnittliche Verminderung von 171 ± 3 U/l auf 155 ± 4 U/l.

Tabelle 9: IgG und IgM.

Fluss-Geschwindigkeit		IgG [mg/dl]	IgM [mg/dl]
60ml/min	vor/MW ± SEM	815 ± 131	70 ± 22
	nach/MW ± SEM	722 ± 133	60 ± 21
	%R/MW ± SEM	12 ± 4	14 ± 4
	n =	36	36
80ml/min	vor /MW ± SEM	844 ± 137	70 ± 23
	nach /MW ± SEM	727 ± 120	59 ± 19
	%R/MW ± SEM	14 ± 3	16 ± 3
	n =	37	37
120ml/min	vor /MW ± SEM	839 ± 131	67 ± 23
	nach /MW ± SEM	730 ± 109	56 ± 20
	%R/MW ± SEM	13 ± 3	17 ± 6
	n =	42	42
160ml/min	vor /MW ± SEM	860 ± 138	67 ± 24
	nach /MW ± SEM	750 ± 119	58 ± 22
	%R/MW ± SEM	13 ± 3	15 ± 5
	n =	30	30
200ml/min	vor /MW ± SEM	862 ± 123	67 ± 22
	nach /MW ± SEM	744 ± 104	56 ± 20
	%R/MW ± SEM	13 ± 2	16 ± 5
	n =	27	27
240ml/min	vor /MW ± SEM	877 ± 119	71 ± 23
	nach /MW ± SEM	745 ± 98	60 ± 19
	%R/MW ± SEM	15 ± 3	15 ± 6
	n =	25	25
MW ± SEM / 60-240 / vor		850 ± 17	69 ± 2
MW ± SEM / 60-240 / nach		736 ± 10	58 ± 2
MW ± SEM / 60-240 / %R		13 ± 1	16 ± 1
n =		197	197

vor = Vor Behandlung mit DALI; nach = Nach Behandlung mit DALI; %R = Reduktion in Prozent; n = Anzahl der Behandlungen; MW = Mittelwert; SEM = Standardfehler des Mittelwerts.

Tabelle 10: Klinisch-chemische Routineparameter (Teil 1).

Fluss-Geschwindigkeit		Citrat [mmol/l]	Kalzium Gesamt [mmol/l]	Kalzium ionisiert [mmol/l]	Glucose im Serum [mg/dl]	Natrium [mmol/l]	Kalium [mmol/l]	SGPT (ALT) [U/l]	SGOT (AST) [U/l]	Kreatinin kinase [U/l]	γ-GT [U/l]	Alk. phosph. [U/l]
60ml/min	vor/MW ± SEM	0,23 ± 0,06	2,32 ± 0,08	1,07 ± 0,14	119 ± 18	140 ± 3	4 ± 0	13 ± 4	10 ± 2	45 ± 14	20 ± 13	109 ± 18
	nach/MW ± SEM	1,11 ± 0,50	2,24 ± 0,13	0,91 ± 0,11	126 ± 21	142 ± 3	4 ± 0	12 ± 3	9 ± 2	39 ± 12	17 ± 11	95 ± 17
	%R/MW ± SEM	-280 ± 87	2 ± 3	14 ± 9	-10 ± 21	-1 ± 1	6 ± 4	9 ± 8	10 ± 10	13 ± 4	17 ± 5	12 ± 5
	n =	34	35	33	35	36	36	35	36	36	36	36
80ml/min	vor/MW ± SEM	0,23 ± 0,06	2,32 ± 0,08	1,07 ± 0,14	119 ± 18	140 ± 3	4 ± 0	13 ± 4	10 ± 2	45 ± 14	20 ± 13	109 ± 18
	nach/MW ± SEM	0,76 ± 0,20	2,35 ± 0,51	0,95 ± 0,10	120 ± 23	142 ± 4	4 ± 0	14 ± 5	12 ± 6	35 ± 12	16 ± 11	96 ± 16
	%R/MW ± SEM	-259 ± 88	3 ± 13	5 ± 20	-1 ± 23	-1 ± 2	6 ± 5	-12 ± 37	-24 ± 54	10 ± 21	23 ± 12	11 ± 3
	n =	35	36	36	37	37	37	37	37	37	37	37
120ml/min	vor/MW ± SEM	0,21 ± 0,02	2,26 ± 0,09	1,03 ± 0,16	124 ± 19	161 ± 37	4 ± 0	12± 4	9 ± 1	45 ± 15	18 ± 11	113 ± 25
	nach/MW ± SEM	0,66 ± 0,17	2,04 ± 0,18	0,91 ± 0,13	143 ± 27	143 ± 3	4 ± 0	12 ± 4	9 ± 2	39 ± 14	14 ± 9	99 ± 24
	%R/MW ± SEM	-213 ± 73	10 ± 7	11 ± 7	-19 ± 23	2 ± 5	8 ± 5	0 ± 16	0 ± 19	14 ± 2	22 ± 6	12 ± 5
	n =	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42	42
160ml/min	vor/MW ± SEM	0,21 ± 0,02	2,27 ± 0,09	1,13 ± 0,09	122 ± 20	143 ± 5	4 ± 0	12 ± 3	9 ± 1	46 ± 12	19 ± 13	115 ± 25
	nach/MW ± SEM	0,70 ± 0,19	1,92 ± 0,25	0,92 ± 0,08	128 ± 14	143 ± 4	4 ± 0	12 ± 5	9 ± 3	40 ± 10	16 ± 11	103 ± 22
	%R/MW ± SEM	-225 ± 80	15 ± 11	21 ± 9	-8 ± 16	0 ± 2	6 ± 5	1 ± 26	-4 ± 29	13 ± 3	26 ± 12	10 ± 3
	n =	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
200ml/min	vor/MW ± SEM	0,22 ± 0,02	2,28 ± 0,08	1,11 ± 0,09	119 ± 20	143 ± 4	4 ± 0	13 ± 3	10 ± 2	46 ± 15	21 ± 15	115 ± 19
	nach/MW ± SEM	0,70 ± 0,17	1,70 ± 0,48	0,94 ± 0,09	132 ± 19	144 ± 4	4 ± 0	12 ± 4	9 ± 3	40 ± 12	16 ± 12	103 ± 19
	%R/MW ± SEM	-226 ± 61	25 ± 21	16 ± 6	-13 ± 15	-0 ± 1	5 ± 4	4 ± 21	9 ± 19	14 ± 3	23 ± 8	11 ± 3
	n =	27	26	27	27	27	27	27	27	27	27	27
240ml/min	vor/MW ± SEM	0,23 ± 0,05	2,28 ± 0,12	1,11 ± 0,12	113 ± 20	142 ± 4	4 ± 0	13 ± 5	10 ± 2	43 ± 10	17 ± 10	112 ± 21
	nach/MW ± SEM	0,69 ± 0,23	1,89 ± 0,28	0,97 ± 0,08	119 ± 11	143 ± 5	4 ± 0	12 ± 5	10 ± 3	37 ± 9	13 ± 8	99 ± 19
	%R/MW ± SEM	-199 ± 70	17 ± 10	15 ± 12	-9 ± 14	-1 ± 2	6 ± 4	-0 ± 26	3 ± 19	14 ± 3	26 ± 10	12 ± 3
	n =	26	26	24	26	26	26	26	26	26	26	26
MW ± SEM / 60-240 / vor		0,22 ± 0,01	2,29 ± 0,02	1,09 ± 0,03	119 ± 3	145 ± 5	4 ± 0	13 ± 0	10 ± 0	45 ± 1	19 ± 1	112 ± 2
MW ± SEM / 60-240 / nach		0,77 ± 0,11	2,02 ± 0,18	0,93 ± 0,02	128 ± 6	143 ± 1	4 ± 0	12 ± 1	10 ± 1	38 ± 1	15 ± 1	99 ± 3
MW ± SEM / 60-240 / %R		-234 ± 24	12 ± 7	14 ± 4	-10 ± 4	-0 ± 1	6 ± 1	0 ± 4	-1 ± 8	13 ± 1	23 ± 2	11 ± 1
n =		194	195	192	197	198	198	197	198	198	198	198

vor = Vor Behandlung mit DALI; nach = Nach Behandlung mit DALI; %R = Reduktion in Prozent; MW = Mittelwert; SEM = Standardfehler des Mittelwerts.

Tabelle 11: Klinisch-chemische Routineparameter (Teil 2).

Fluss-geschwindigkeit		Protein [g/dl]	LDH [U/l]	Albumin [g/dl]	Harnstoff [mg/dl]	Harn säure [mg/dl]	Serum kreatinin [mg/dl]	Bilirubin, indirekt [mg/dl]	Hapto globin [mg/dl]
60ml/min	vor/MW ± SEM	6,60 ± 0,26	166 ± 21	4,03 ± 0,21	35 ± 8	6 ± 1	0,74 ± 0,14	0,44 ± 0,17	148 ± 53
	nach/MW ± SEM	5,80 ± 0,29	153 ± 22	3,43 ± 0,47	32 ± 9	6 ± 1	0,68 ± 0,13	0,27 ± 0,21	133 ± 44
	%R/MW ± SEM	12 ± 3	7 ± 9	15 ± 10	9 ± 5	7 ± 3	8 ± 8	38 ± 38	12 ± 4
	n =	37	37	37	37	37	37	13	36
80ml/min	vor/MW ± SEM	6,49 ± 0,31	167 ± 22	3,99 ± 0,20	35 ± 11	7 ± 2	0,75 ± 0,14	0,38 ± 0,11	145 ± 50
	nach/MW ± SEM	5,77 ± 0,21	151 ± 18	3,64 ± 0,17	34 ± 11	6 ± 1	0,70 ± 0,15	0,35 ± 0,12	130 ± 44
	%R/MW ± SEM	8 ± 10	9 ± 4	8 ± 4	1 ± 11	7 ± 2	6 ± 8	1 ± 41	11 ± 4
	n =	36	36	36	36	36	36	13	36
120ml/min	vor/MW ± SEM	6,61 ± 0,22	173 ± 23	4,02 ± 0,17	35 ± 8	6 ± 1	0,76 ± 0,14	0,49 ± 0,07	160 ± 49
	nach/MW ± SEM	5,84 ± 0,23	152 ± 16	3,65 ± 0,18	34 ± 9	6 ± 1	0,71 ± 0,15	0,40 ± 0,03	145 ± 47
	%R/MW ± SEM	12 ± 2	12 ± 5	10 ± 2	4± 4	5 ± 2	7 ± 7	19 ± 9	9 ± 5
	n =	37	37	37	37	37	37	13	37
160ml/min	vor/MW ± SEM	6,59 ± 0,22	171 ± 21	3,96 ± 0,22	38 ± 12	7 ± 1	0,82 ± 0,16	0,43 ± 0,14	136 ± 49
	nach/MW ± SEM	5,79 ± 0,21	155 ± 16	3,57 ± 0,21	37 ± 12	7 ± 1	0,77 ± 0,16	0,31 ± 0,12	124 ± 43
	%R/MW ± SEM	12 ± 2	9 ± 5	10 ± 3	3 ± 4	5 ± 2	6 ± 8	26 ± 20	8 ± 5
	n =	30	30	30	30	30	30	10	30
200ml/min	vor/MW ± SEM	6,63 ± 0,17	171 ± 19	3,72 ± 0,57	37 ± 11	6 ± 1	0,82 ± 0,16	0,38 ± 0,10	146 ± 57
	nach/MW ± SEM	5,75 ± 0,19	149 ± 17	3,55 ± 0,16	37 ± 11	6 ± 1	0,77 ± 0,16	0,35 ± 0,08	120 ± 37
	%R/MW ± SEM	13 ± 2	13 ± 5	18 ± 13	0 ± 5	5 ± 1	6 ± 6	0 ± 15	15 ± 6
	n =	27	27	27	27	27	27	10	27
240ml/min	vor/MW ± SEM	6,71 ± 0,18	179 ± 24	3,96 ± 0,14	38 ± 8	7 ± 1	0,84 ± 0,13	0,32 ± 0,18	132 ± 39
	nach/MW ± SEM	5,82 ± 0,17	167 ± 32	3,55 ± 0,12	38 ± 9	6 ± 1	0,77 ± 0,14	0,40 ± 0,10	125 ± 33
	%R/MW ± SEM	13 ± 3	7 ± 10	10 ± 3	1 ± 4	5 ± 2	9 ± 6	-25 ± 41	12 ± 3
	n =	22	23	23	23	23	23	7	21
MW ± SEM / 60-240 / vor		6,60 ± 0,05	171 ± 3	3,95 ± 0,08	36 ± 1	7 ± 0	0,79 ± 0,04	0,41 ± 0,05	144 ± 7
MW ± SEM / 60-240 / nach		5,79 ± 0,02	155 ± 4	3,56 ± 0,06	35 ± 2	6 ± 0	0,73 ± 0,04	0,35 ± 0,04	130 ± 7
MW ± SEM / 60-240 / %R		12 ± 1	9 ± 2	12 ± 3	3 ± 2	6 ± 1	7 ± 1	10 ± 18	11 ± 2
n =		189	190	190	190	190	190	66	187

vor = Vor Behandlung mit DALI; nach = Nach Behandlung mit DALI; %R = Reduktion in Prozent; MW = Mittelwert; SEM = Standardfehler des Mittelwerts.

4.5 Blutparameter

Eine Übersicht der ermittelten Daten der zellulären Parameter des Blutes, des Hämoglobins und des Hämatokrits gibt Tabelle 12.
Die Werte der zellulären Parameter des Blutes zeigten keine klinisch relevanten Veränderungen. Im Durchschnitt konnte ein geringes Absinken des Hämatokrits (Reduktion = 6 ± 1 %) und der Leukozyten (Reduktion = 5 ± 11 %) beobachtet werden.

Die Anzahl der Erythrozyten verminderte sich im Mittel um 6 ± 0 %, die der Thrombozyten um 10 ± 1 %.
Der Wert des Hämoglobins veränderte sich bei zunehmendem Fluss nur gering. Während der Behandlung mit Q_b = 60ml/min sank der Ausgangswert von 13 ± 1 g/dl auf 12 ± 2g/dl. Bei Q_b = 240ml/min zeigte sich ein Absinken von 12 ± 1 g/dl auf 11 ± 1 g/dl. Die mittlere Reduktion bei allen Geschwindigkeiten betrug 8 %. Diese diskreten Veränderungen der Blutparameter, können am ehesten durch Hämodilution im Rahmen der Behandlung erklärt werden.
Die Leukozytenanzahl stieg bei der Behandlung mit moderaten Flussraten von 60 ml/min im Mittel leicht an (26±56 %), war konstant bei 80 ml/min (-2±7 %) und fiel etwas bei 120 ml/min ab (-8±15 %). Bei Erhöhung der Flussrate >120 ml/min, sank die Leukozytenzahl um 11±8% (Q_b = 160ml/min) und 18±10%(Q_b = 240ml/min). Die normalen Referenzwerte wurden dabei allerdings nie überschritten.
Zeichen einer Hämolyse, wie beispielsweise das Ansteigen der Laktatdehydrogenase (LDH) oder ein Absinken des Haptoglobins konnte nicht beobachtet werden.

Tabelle 12: Übersicht über die zellulären Parameter des Blutes, Hämoglobin und die Hämatokritwerte.

Flussgeschwindigkeit		Hämoglobin [g/dl]	Hämatokrit [%]	Erythrozyten [T/l]	Thrombozyten [G/l]	Leukozyten [G/l]
60ml/min	vor/MW ± SEM	13 ± 1	41± 4	4,23 ± 0,38	228 ± 41	9,5 ± 6,3
	nach/MW ± SEM	12 ± 2	39 ± 3	3,99 ± 0,34	207 ± 43	10,8 ± 8,6
	%R/MW ± SEM	11 ± 11	6 ± 3	6 ± 3	8 ± 8	-26 ± 56
	n =	35	35	35	35	35
80ml/min	vor/MW ± SEM	13 ± 1	41 ± 3	4,18 ± 0,36	229 ± 34	6,6 ± 1,5
	nach/MW ± SEM	11 ± 2	38 ± 3	3,90 ± 0,35	207 ± 32	6,6 ± 2,0
	%R/MW ± SEM	12 ± 10	7 ± 2	7 ± 2	10 ± 6	2 ± 7
	n =	36	36	36	36	36
120ml/min	vor/MW ± SEM	12 ± 1	40 ± 3	4,03 ± 0,36	246 ± 32	6,8 ± 1,5
	nach/MW ± SEM	12 ± 1	37 ± 2	3,80 ± 0,31	218 ± 30	6,2 ± 1,9
	%R/MW ± SEM	6 ± 2	6 ± 2	6 ± 2	10 ± 4	8 ± 15
	n =	41	41	41	41	41
160ml/min	vor/MW ± SEM	12 ± 1	41 ± 3	4,09 ± 0,38	244 ± 37	6,6 ± 1,3
	nach/MW ± SEM	12 ± 1	38 ± 3	3,86 ± 0,38	219 ± 38	5,9 ± 1,0
	%R/MW ± SEM	5 ± 3	6 ± 3	6 ± 3	10 ± 6	11 ± 8
	n =	30	30	30	30	30
200ml/min	vor/MW ± SEM	12 ± 1	40 ± 4	4,08 ± 0,42	231 ± 36	6,5 ±1,2
	nach/MW ± SEM	12 ± 1	37 ± 4	3,82 ± 0,41	210 ± 34	5,4 ± 0,8
	%R/MW ± SEM	6 ± 2	8 ± 4	6 ± 2	9 ± 4	16 ± 7
	n =	28	28	28	28	28
240ml/min	vor/MW ± SEM	12 ± 1	40 ± 4	4,00 ± 0,41	236 ± 38	6,4 ± 1,0
	nach/MW ± SEM	11 ± 1	37 ± 3	3,74 ± 0,36	211 ± 36	5,2 ± 0,6
	%R/MW ± SEM	7 ± 2	7 ± 3	7 ± 2	11 ± 4	18 ± 10
	n =	24	24	24	24	24
MW ± SEM / 60-240 / vor		12 ± 0	40 ± 0	4,10 ± 0,07	236 ± 6	7,8 ±0,8
MW ± SEM / 60-240 / nach		11 ± 0	38 ± 1	3,85 ± 0,07	212,02 ± 4,39	6,7 ±1,4
MW ± SEM / 60-240 / %R		8 ± 2	6 ± 1	6 ± 0	10 ± 1	5 ± 11
n =		194	194	194	194	194

vor = Vor Behandlung mit DALI; nach = Nach Behandlung mit DALI; %R = Reduktion in Prozent; MW = Mittelwert; SEM = Standardfehler des Mittelwerts

4.6 Komplikationen und Vitalparameter

Die Behandlung mit DALI verlief insgesamt relativ komplikationsfrei. Insgesamt gab es 4 drop outs. Davon mussten zwei Patienten aufgrund zunehmender Nebenwirkungen wie Parästhesien, Flush und Dyspnoe, ein Patient aufgrund mangelnder Effizienz der LDL-C Reduktion bei zunehmender Flussrate und ein Patient wegen mangelnder Compliance bei höheren Flussraten abbrechen.
Klinisch kam es zu keinen ernsthaften Nebenwirkungen. Lediglich bei 26 der 201 Behandlungen mit DALI kam es zu apheresebedingten Phänomenen wie Hypotension, Übelkeit, Parästhesien und Tetanie.

Die Vitalparameter unterlagen während der Apherese bei den unterschiedlichen Flussgeschwindigkeiten nur minimalen Schwankungen.
Die Pulsfrequenz blieb konstant und betrug im Mittel f = 74 min. Der Blutdruck stieg im Mittel minimal von 119/71 mmHg auf 122/71mmHg. Die Körpertemperatur blieb während sämtlicher Behandlungen bei praktisch konstant 36°C.
Die größte Anzahl an Nebenwirkungen pro Blutflussrate lag bei 11 und wurde bei Q_b = 120 ml/min dokumentiert.
Dies entspricht einer Inzidenz von 0,28 bei 39 Behandlungen und einem absoluten Anteil von 0,31 bei 4 von 13 betroffenen Patienten. Bei den Nebenwirkungen handelte es sich vorwiegend um Parästhesien, leichte Hypotonien und Übelkeit.

Tabelle 13: Übersicht über die Anzahl aufgetretener Nebenwirkungen in Bezug zur Anzahl der Behandlungen und der Patientenzahl.

Fluss-Geschwindigkeit	Behandlungen	Anzahl der NW	Inzidenz der NW	Anzahl der betroffenen Patienten	Anzahl der Patienten, gesamt	Inzidenz der betroffenen Patienten
60ml/min	37	5	0,14	4	13	0,31
80ml/min	37	3	0,08	2	13	0,15
120ml/min	39	11	0,28	4	13	0,31
160ml/min	32	2	0,06	2	11	0,18
200ml/min	33	3	0,09	2	10	0,20
240ml/min	20	2	0,10	1	9	0,11
Gesamt:	198	26	-	15	-	-

Insgesamt gab es im Verlauf der Behandlungen vier drop outs.

Tabelle 14: Vitalparameter und Druckverhältnisse.

Fluss-Geschwindigkeit		Sys-RR mmHg	Diast-RR mmHg	PULS Min^{-1}	Körpertemp. °C
60ml/min	vor/MW ± SEM	117 ± 12	71 ± 8	71 ± 8	36,0 ± 0,4
	nach/MW ± SEM	124 ± 12	72 ± 8	72± 7	35,8 ± 0,7
	%R/MW ± SEM	-6 ± 7	-2 ± 9	-2 ± 7	0 ± 1
	n =	35	35	35	35
80ml/min	vor/MW ± SEM	119 ± 9	70 ± 8	74 ± 8	36,2 ± 0,5
	nach/MW ± SEM	122 ± 9	70 ± 7	75 ± 8	36,0 ± 0,5
	%R/MW ± SEM	-2 ± 5	-2 ± 8	-2 ± 6	0 ± 1
	n =	36	36	36	36
120ml/min	vor/MW ± SEM	117 ± 9	70 ± 6	76 ± 8	36,1 ± 0,4
	nach/MW ± SEM	123 ± 10	71 ± 7	76 ± 7	36,1 ± 0,4
	%R/MW ± SEM	-5 ± 6	-2 ± 8	-0 ± 4	0 ± 1
	n =	36	36	36	36
160ml/min	vor/MW ± SEM	117 ± 9	70 ± 8	74 ± 7	36,0 ± 0,4
	nach/MW ± SEM	121 ± 11	69 ± 8	75 ± 6	36,0 ± 0,4
	%R/MW ± SEM	-4 ± 5	2 ± 8	-1 ± 7	3 ± 6
	n =	30	30	30	30
200ml/min	vor/MW ± SEM	120 ± 9	70 ± 9	73 ± 5	36,1 ± 0,4
	nach/MW ± SEM	120 ± 11	69 ± 9	74 ± 6	36,1 ± 0,4
	%R/MW ± SEM	0 ± 7	1 ± 6	-2 ± 6	0 ± 1
	n =	29	29	29	29
240ml/min	vor/MW ± SEM	122 ± 11	74 ± 7	75 ± 6	36,1 ± 0,5
	nach/MW ± SEM	122 ± 10	74 ± 8	73 ± 6	35,9 ± 0,4
	%R/MW ± SEM	-1 ± 4	1 ± 3	3 ± 5	0 ± 1
	n =	26	26	26	26
MW ± SEM / 60-240 / vor		119 ± 2	71 ± 1	74 ± 1	36,1 ± 0,1
MW ± SEM / 60-240 / nach		122 ± 1	71 ± 2	74 ± 1	36,0 ± 0
MW ± SEM / 60-240 / %R		-3 ± 2	-1 ± 2	-1 ± 1	1± 1
n =		192	192	192	192

vor = Vor Behandlung mit DALI; nach = Nach Behandlung mit DALI; %R = Reduktion in Prozent; MW = Mittelwert; SEM = Standardfehler des Mittelwerts.

5 Diskussion und Interpretation der Daten

5.1 Grundsätzliche Vorteile des DALI Verfahrens

Der grundsätzliche Vorteil des DALI Verfahrens besteht in seiner Kompatibilität zu Vollblut. Verglichen mit anderen Systemen, benötigt das Verfahren keine Trennung des Blutplasmas von den zellulären Bestandteilen des Blutes. Hierdurch vereinfacht sich die Vorbereitung sowie die Handhabung des extrakorporalen Kreislaufs enorm. Darüber hinaus wird der Aufwand an Personal und Personaleinarbeitungszeit deutlich verringert.
Durch die Anwendung von sterilen Einmalkomponenten, wird das Risiko von eventuellen Infektionsquellen minimiert.
Da das Verfahren herstellerseitig bisher für Flussraten von $Q_b \leq 80$ml/min zugelassen ist, erscheint eine Steigerung der Flussrate und die damit verbundene Verkürzung der Behandlungsdauer für Patienten und behandelndes medizinisches Personal äußerst attraktiv.

5.2 Zeitliche Aspekte (Setup und Behandlungszeit)

Um die Elimination von positiv geladenen Ionen wie z.B. Magnesium und Kalzium während der Apherese zu verhindern, wurden die Adsorber mit einer elektrolythaltigen Primerlösung vor der Behandlung gesättigt. Die Vorbereitung des extrakorporalen Kreislaufs inklusive des automatischen Spülens mit 3 x 2000ml Primerlösung (DMR 172, Fresenius, St. Wendel) dauerte, pro durchgeführter Behandlung ungefähr 30 Minuten.

In Studien, die mit Blutflussraten von 60 und 80 ml/min durchgeführt wurden, dauerte die Behandlung mit dem DALI- Verfahren je nach prozessierter Blutmenge etwa 2-2.5 Stunden. Durch die schrittweise Erhöhung der Flussrate von initial 60 ml/min auf maximal 240 ml/min, konnte die effektive Behandlungsdauer von 140 auf 44 Minuten verkürzt werden. Dies entspricht einer durchschnittlichen Zeitersparnis von etwa 70%.
Es zeigte sich allerdings, dass die durch die NUB Richtlinien geforderte 60% Mindestreduktion des LDL-C pro Apheresebehandlung nur bis zu einer Flussrate von $Q_b \leq 120$ ml/min erreicht werden konnte. Gegenüber der initialen Blutflussrate von Q_b

= 60 ml/min bedeutet diese Steigerung dennoch eine Zeitersparnis von 42%, was sowohl für das medizinische Fachpersonal als auch den Patienten eine erhebliche Verkürzung der Therapie mit sich bringt und nicht zuletzt eine bedeutende wirtschaftliche Optimierung des Behandlungsablaufes darstellt.

5.3 Effizienz und Selektivität des DALI-Verfahrens bei Blutflussraten > 80ml/min

Die Affinität des LDL-C und des Lp(a) zur negativ geladenen Polyacrylsäureoberfläche des Adsorbers ist in der elektrostatischen Wechselwirkung zwischen dem positiv geladenem Apolipoprotein B100 des LDL-C und Lp(a) und der negativ geladenen Oberfläche des Adsorbers begründet.
Bei Erhöhung der Blutflussrate > 80ml/min zeigte sich, das die Effizienz der LDL-C- und Lp(a)-Reduktion abnahm.
Die LDL-C-Reduktion, bei einer Adsorbergröße von 750ml und 1000ml und einem prozessierten Blutvolumen von 130% des Patientenblutvolumens, war bei Flussraten von Q_b = 60ml/min (73 ± 7%) und Q_b = 80ml/min (66 ± 8%) mit Angaben aus der Literatur vergleichbar (BOSCH ET AL. 2000). Der in den NUB- Richtlinien geforderte Grenzwert einer unkorrigierten Reduktion des LDL- C von 60% während einer Behandlung wurde bei Q_b = 60ml/min und Q_b = 80ml/min problemlos eingehalten (NUB-Richtlinien 1998). Ab einer Flussgeschwindigkeit von Q_b = 120ml/min allerdings, kam es zu einem Absinken der LDL- Cholesterin Reduktion unter die 60% Marke (57 ± 8%). Die maximale Flussrate von 240ml/min erbrachte dann lediglich noch eine prozentuale Reduktion des LDL-Cholesterin von 47 ± 9%.
Bei der Betrachtung der individuellen Verläufe der LDL Reduktion zeigte sich, das bei einer Flussrate von Q_b= 120 ml/min acht, bei Q_b= 160 ml/min alle 13 Patienten die geforderte 60% Soll-Reduktion des LDL-C unterschritten.

Für die Erklärung der Abnahme der LDL-C- Reduktion bei steigender Flussrate sind 2 Hypothesen denkbar; zum einen könnte sich bei höheren Flussraten durch das verminderte ACD-A : Blut Verhältnis im extrakorporalen Kreislauf die Interaktion zwischen Blut und Adsorberoberfläche verschlechtert haben und zu einer sinkenden Effizienz des Verfahrens geführt haben. Die wahrscheinlichere Erklärung für die Abnahme der Effizienz ist allerdings in einer kinetischen Beeinträchtigung der

Adsorbereffizienz zu sehen. Die Erhöhung der Blutflussrate führt zu einer reduzierten Kontaktzeit des Blutes mit dem Adsorber, so dass die Diffusion der LDL und Lp(a) Partikel in die Adsorberporen beeinträchtigt sein könnte.
Dabei bleibt die Frage offen, ob durch den Einsatz von größeren Adsorbern mit 1000 oder 1250ml Volumen die Kontaktzeit entsprechend verlängert und damit die LDL-C Reduktion bei höheren Blutflussraten verbessert werden kann.
Eine Erkenntnis für die praktische klinische Tätigkeit stellte die Tatsache dar, dass offensichtlich nur Patienten mit einer guten individuellen LDL-C Reduktion von 70-80% bei einer Blutflussrate von 80 ml/min von einer Erhöhung der Flussrate > 80 ml/min profitieren und sich die geforderte 60% LDL-C Reduktion auch bei Q_b = 120ml/min realisieren lässt. (s. Abbildung 5). Darüber hinaus beeinflusst auch die individuelle Abstimmung des Adsorbers und die Menge des prozessierten Blutvolumens, die effektive LDL-C Reduktion.
Auch die Werte des Lp(a) sanken durch die Erhöhung der Flussrate unter die 60% Reduktionsgrenze ab. Diese Grenze wurde allerdings erst bei einer Flussrate von Q_b = 200ml/min (58±9%) unterschritten.

Die Selektivität der LDL-Cholesterin und Lp(a) Elimination des DALI-Verfahrens war hoch. Die Recovery von HDL-Cholesterin, Proteinen wie dem Albumin, dem IgG und IgM lag bei sämtlichen Flussraten im Durchschnitt bei 85% und zeigte keine Abhängigkeit von höheren Blutflussraten.
Die Reduktion der Triglyceride lag bei ca. 45% (Q_b = 80-240ml/min). Lediglich bei einer Flussrate von Q_b = 60ml/min, bei der die Apheresen heparinfrei durchgeführt wurden, zeigte sich eine geringfügig schlechtere Reduktion der Triglyceride (25±19%). Eine Erklärung dieser Beobachtung könnte der fehlende heparininduzierte lipolytische Effekt unter diesen Bedingungen sein (PERSON ET AL. 1985). Des weiteren verminderten sich klinische Routineparameter wie Harnsäure, Harnstoff, Kreatininkinase, alkalische Phophatase und Bilirubin durch die Behandlung lediglich um < 15 %. Diese Beobachtungen stimmen mit Ergebnissen früherer Studien überein (BOSCH ET AL. 1999; BOSCH ET AL. 2000). Die mittleren Reduktionsraten des Fibrinogens bei steigenden Flussraten unterlagen nur geringen Schwankungen (11 ± 2%) und zeigen, das das DALI-Verfahren, wie andere LDL-C Apherese Verfahren

(Immunadsorption, Chemoadsorption an Dextransulfat), nur unbedeutende Mengen an Fibrinogen eliminiert (BOSCH ET AL.2000).

5.4 Antikoagulationsschema und Gerinnungsparameter

Das potenzielle Hauptproblem von LDL- Hämoperfusionssystemen in Bezug auf die Biokompatibilität besteht im Auftreten einer Hämolyse und der Aktivierung der Gerinnungskaskade (BOSCH ET AL. 1998). Laboranalytische Hämolysezeichen, wie die Verminderung des Haptoglobin, eine Erhöhung des LDH oder des freien Hämoglobins wurden in diesem Zusammenhang selbst bei hohen Flussraten nicht festgestellt.

Während der Behandlungen traten weder thrombotische noch hämorrhagische Komplikationen auf. Dies belegt eine suffiziente Antikoagulation durch die gewählten Heparin/Citratdosen. Das ACD-A:Blutverhältnis wurde mit steigender Geschwindigkeit von 1:20 auf 1:90 gesenkt, so das eine konstante ACD-A Applikation von 2.66ml/min gewährleistet war und die Gefahr einer Hypokalzämie minimiert wurde. Der Anteil des ionisierten Kalziums verringerte sich im Verlauf der DALI-Apherese, was durch die ACD-A Applikation erklärt werden kann. Allerdings lagen die Werte des ionisierten Kalziums dabei in einem sicheren Bereich von > 0.9 mmol/l und wurden dabei nicht unterschiedlich durch die Blutflussraten beeinflusst. Die heparinfreie Durchführung (weder im ersten Primerlösungsbeutel noch als Bolus) der Behandlung bei Q_b = 60ml/min erwies sich grundsätzlich als möglich. Diese Erkenntnis, dass das DALI-Verfahren mit ACD-A als einzigem Antikoagulanz durchführbar ist, eröffnet somit Patienten, die beispielsweise an einer Heparin-Intoleranz leiden die Möglichkeit, dennoch mit dem DALI-Verfahren behandelt werden zu können. Die Ergebnisse vorausgegangener Pilot- Studien stimmen mit diesen Resultaten überein (WENDLER ET AL. 2000).

Durch die Applikation von Heparin im ersten Primerlösungsbeutel und der systemischen Bolusapplikation ab einem Fluss von Q_b = 80ml/min, kam es zu einer Verlängerung der aktivierten Gerinnungszeit (im Mittel von 106 $\pm$ 4 → 214 $\pm$ 28 sek) und der partiellen Thromboplastinzeit (im Mittel von 39 $\pm$ 4 →160 $\pm$ 1 sek).

Die Anzahl der Thrombozyten war mit einer durchschnittlichen Reduktion von 10 $\pm$ 1 % ebenfalls konstant und zeigte keinerlei auffälligen Schwankungen.

Die routinemäßig bestimmten klinisch-chemischen Parameter waren innerhalb der Referenzbereiche. ACD-A bedingt, zeigte sich bei den jeweiligen Behandlungsstufen eine leichte Erhöhung der Glucose im Serum (im Mittel: 119 ± 3 mg/dl → 128 ± 6 mg/dl) sowie ein Absinken des ionisierten Kalziums (1,09 ± 0,03 mmol/l → 0,93 ± 0,02 mmol/l).

5.5 Unerwünschte Nebenwirkungen

Aufgrund der Wechselwirkung zwischen negativ geladenen Adsorber Oberflächen und Plasma kommt es bei DALI wie bei dem Dextran-Sulfat-Adsorptions Verfahren zur Bradykininaktivierung über den Faktor XII und das Kallikreinsystem, mit der Folge des potenziellen Auftretens von Quinke Ödemen, allergischen Hautreaktionen und Hypotension (THIELEMANS ET AL. 1990; LINTZ ET AL. 1995).

ACE-Hemmer blockieren das Schlüsselenzym Kininase II des schnellen Bradykininabbaus. Aufgrund dieser Erfahrungen waren ACE-Hemmer deshalb während dem Zeitraum der Behandlung mit DALI kontraindiziert (BOSCH ET AL. 1998).

Auch bei höheren Blutflussraten wurden keine schwerwiegenden klinischen Nebenwirkungen dokumentiert. Im Verlauf der Studie schieden 4 Patienten aus. Die Gründe bestanden in 2 Fällen in einer Zunahme von Parästhesien und Flush-Symptomatik. Am meisten unerwünschten Nebenwirkungen, wie z.B. Hypotension, Flush und Parästhesien, traten bei einer Blutflussrate von 120 ml/min auf und waren gut zu beherrschen. Körpertemperatur, Puls und Blutdruck zeigten keine Beeinflussung durch eine Steigerung der Blutflussrate und waren annähernd konstant. Auch die Werte der Blutuntersuchungen zeigten keine unerwarteten Veränderungen der zellulären und der nicht-zellulären Blutkomponenten. Darüber hinaus gab es keine Anzeichen für eine Hämolyse oder Blutgerinnsel im extrakorporalen Kreislauf. Hinweise für eine mangelnde Biokompatibilität und Sicherheit des DALI-Verfahrens bei Erhöhung der Blutflussrate bis maximal 240 ml/min waren nicht zu erkennen.

6 Zusammenfassung

Das DALI- Verfahren zeichnet sich vor allem durch seine einfache Handhabung und seine Kompatibilität zu Vollblut gegenüber anderen LDL- Apherese Verfahren aus.
Die bisher in Studien untersuchten und herstellerseitig zugelassenen Blutflussraten von 60 und 80 ml/min führen in der Regel zu einer Behandlungsdauer pro Behandlung von etwa 2 Stunden.
Die hier vorgelegte Studie sollte nun klären, inwieweit es möglich ist die Behandlungsdauer durch Erhöhung der Blutflussrate auf 120, 160, 200 und 240 ml/min zu verkürzen. Die Sicherheit, Biokompatibilität, Selektivität und Effektivität der LDL-C und Lp(a) Reduktion stellten in diesem Zusammenhang die zu untersuchenden Faktoren dar.
Das Patientengut bestand aus 13 Patienten mit chronischer Hypercholesterinämie und symptomatischer Atherosklerose die in 7 verschieden Zentren deutschlandweit rekrutiert wurden und über einen bestehenden AV-Shunt verfügten und bereits schon mit dem DALI- Verfahren behandelt worden waren. Das mittlere LDL-C vor Beginn der Behandlungen betrug 162 ± 42 mg/dl. Die Behandlung mit DALI erfolgte wöchentlich. Für jede Blutflussrate waren 3 Anwendungen mit derselben Flussrate geplant, welche von 60 auf 80, 120, 160, 200 und 240 ml/min gesteigert wurden.
Das Antikoagulationsschema bestand in einer reinen ACD-A Applikation bei 60 ml/min (heparinfrei) und einer Kombination aus einem Heparinbolus und einer kontinuierlichen ACD-A Infusion mit 2.66 ml/min während der übrigen Flussraten. Die klinische Verträglichkeit und Sicherheit des DALI Verfahrens war hoch. Die klinisch-chemischen Routineparameter sowie die zellulären und nichtzellulären Blutkomponenten zeigten keine signifikanten Veränderungen. Lediglich während 26 der 201 Behandlungen kam es zu leichten klinischen Nebenwirkungen die zu keiner ernsthaften Gefährdung der Patienten führten. Die Reduktion des bestimmten LDL-C betrug durchschnittlich 73%, 66%, 57%, 52%, 51%, 47% bei Q_b = 60, 80, 120, 160, 200, 240 ml/min. Die mittlere Reduktion des Lp(a) lag bei 68%, 67%, 62%, 60%, 58%, 56% während die Reduktion von Selektivitätsparametern, wie dem HDL-C, Protein, Albumin und den Immunglobulinen G und M, ≤ 17% betrug. Durch die Erhöhung der Flussrate konnte die Dauer der Behandlung von Initial 142 Minuten bei Q_b = 60 ml/min auf 83 bzw. 45 Minuten bei Q_b = 120 bzw. 240 ml/min gesenkt werden.

Die Daten der hier vorgelegten Studie implizieren, dass eine sichere und effektive Anwendung des DALI- Verfahrens mit Blutflussraten von bis zu 120 ml/min möglich ist. Die signifikante Senkung der Behandlungsdauer von 142 auf 83 Minuten entspricht dabei einer Zeitersparnis von 42%. Außerdem ist es möglich, das DALI-Verfahren bei 60 ml/min heparinfrei durchzuführen.

7 Literaturverzeichnis

Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, Xu S, Hobbs HH, Krieger M. Identification of scavenger receptor SR-B1 as a high density lipoprotein receptor. Science. 1996;271:518-520.

Agishi T, Kaneko J, Hasuo Y, Hasasaka Y, Sanaka T, Ota K, Anemiya H, Sugino N. Double filtration plasmapheresis with no or minimal amount of blood derivative for substitution. In: Sieberth HG, ed. Plasma exchange. Schattauer: Stuttgart, New York, 1980;53-7.

Austin MA. Triglyceride and coronary heart disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1991;11:2-14.

Barter PJ, Rye KA. Molecular mechanisms of reverse cholesterol transport. Curr Opin Lipidol. 1996 Apr;7(2):82-87.

Bertolini S, Bon GB, Campbell LM et al. Efficacy and safety of atorvastatin compared to pravastatin in patients with hypercholesterolemia. Atherosclerosis 1997;130:130:191-197.

Bombeli T, Schwartz BR, Harlan JM. Adhesion of activated platelets to endothelial cells: eviddence for a GPIIbIIIa-dependent bridging mechanism and novel roles for endothelial intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1),(alpha)v(beta)3 integrin, and GPIb(alpha). J Exp Med. 1998;187:329-339.

Bosch T. Lipid apheresis: from a heroic treatment to routine clinical practice. Artif Organs. 1996 May;20(5):414-9.

Bosch T, Lennertz A, Schmidt B, Fink E, Keller C, Toepfer M, Dräger J, Samtleben W. Direct adsorbtion of lipoproteins from whole blood by DALI apheresis: Clinical efficacy and biocompatibility. Int J Artif Organs. 1998;21:611.

Bosch T, Blumenstein M, Gurland HJ. Biokompatibilität bei Langzeithämodialyse: Fakten-Theorien-Klinische Bedeutung. Z Urol Nephrol. 1998;82:69-76. Thieme, Leipzig.

Bosch T, Lennertz A, Kordes B, Samtleben W. Low density lipoprotein hemoperfusion by direct adsorption of lipoproteins from whole blood (DALI apheresis): Clinical experience from a single center. Ther Apher 1999;3:209-13.

Bosch T, Lennertz A, Schmidt B, Fink E, Keller C, Toepfer M, Dräger J, Samtleben W. DALI Apheresis in Hyperlipidemic Patients: Biocompatibility, Efficacy and Selectivity of Direct Adsorption of Lipoproteins from whole Blood.
Int J Artif Organs. 2000;24(2):81-90.

Bosch T. Lipidapherese mittels Heparin induzierter extrakorporaler LDL- und Fibrinogenpräzipitation bei hypercholesterinämischen Dialysepatienten: Technik, Effizienz, Biokompatibilität. Habilitationsschrift, Med Klinik I, Klinikum Großhadern München.

Bosch T, Heinemann O, Duhr C, Wendler T, Keller C, Fink E, Kirschner T, Klebert S, Samtleben W. Effect of low-dose citrate anticoagulation on the clinical safety and efficacy of direct adsorption of lipoproteins (DALI apheresis) in hypercholesterolemic patients: a prospective controlled clinical trial. Artif Organs. 2000;24(10):790-6.

Bosch T. Low-density lipoprotein hemoperfusion using a modified polyacrylate adsorber: In vitro, ex vivo, and first clinical results. Artif Organs. 1986;20(4):344-345.

Braunwald E. Shattuck Lecture- cardiovascular medicine at the turn of the millenium: triumphs, concerns, and opportunities. N Engl J Med. 1997;337:1360-1369.

Breslow JL. Cardiovascular disease burden increases, NIH funding decreases. Nat Med. 1997;3:600-601.

Carlson LA, Boettiger LE. Serum triglycerides, to be or not to be a risk factor for ischaemic heart disease? Atherosclerosis. 1981;39:287-291.

Craig WY, Neveux LM, Palomaki GE, et al. Lipoprotein(a) as a risk factor for ischemic heart disease: metaanalysis of prospective studies. Clin Chem. 1998;44:2301-2306.

Dahlen GH, Guyton JR, Attar M, et al. Association of levels of lipoprotein(a), plasma lipids, and other lipoproteins with coronary artery disease documented by angiography. Circulation. 1986;74:758-765

Dart A, Jerums G, Nicholson G, d´Emden M, Hamilton-Craig I. A multicenter, double-blind, one-year study comparing safety and efficacy of atorvastatin versus simvastatin in patients with hypercholesterolemia. Am J Cardiol. 1997;80:39-44.

Davey-Smith G, Shipley MJ, Marmot MG, Rose G. Plasma cholesterol and mortality: The Whitehall Study. JAMA. 1992;267:70-76.

Davidson MH, McGarry T, Bettis R, Melani L, Lipka LJ, LeBeaut AP, Suresh R, Sun S, Veltri EP. Ezetimibe coadministered with simvastatin in patients with primary hypercholesterolemia. J Am Coll Cardiol. 2002 Dec 18;40(12):2125-34.

DeGennes. Formes homozygotes cutaneo-tenineuses de xanthommastose hypercholesterolemique dans une observation familiale exemplaire. Essi de plasmapherese a titre de traitment heroique. Bull Mem Soc Med Hosp Paris. 1967;18:1377-1402.

Eaton D, Fless GM, Kohr WJ, McLean JW, et al. Partial amino acid sequence of apolipoprotein (a) shows that it is homologous to plasminogen. Proc Natl Acad Sci USA. 1987;84:3224-3228.

Glueck CJ, Levy RI, Frederickson DS. Acute tendinitis and arthritis. A presenting symptom of familial type II hyperlipoproteinemia. JAMA. 1968;206: 2895-2897.

Goldberg RB, Mellies MJ, Sacks FM, Moye LA, Howard BV, Howard WJ, Davis BR, Cole TG, Pfeffer MA, Braunwald E. Cardiovascular events and their reduction with pravastatin in diabetic and glucose-intolerant myocardial infarction survivors with average cholesterol levels: subgroup analyses in the cholesterol and recurrent events (CARE) trial. The Care Investigators. Circulation. 1998 Dec 8;98(23):2513-9.

Greten H et al. LDL-Apherese. Ein therapeutisches Verfahren bei schwerer Hypercholesterinämie. Deutsches Ärzteblatt. 1992;89(1/2):48-49.
Habilitationsschrift, Med Klinik I, Klinikum Großhadern München.

Hamsten A, De Faire U, Wallidus G, et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. Lancet. 1987;2:3-9.

Hansson GK, Jonasson L, Seifert PS, Stemme S. Immune mechanisms in atherosclerosis. Arteriosclerosis. 1989;9:567-578.

Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. Lancet *2002; 360*: 7-22M

Hulley SB, Rosenman RH, Bawol RD, Brand RJ. Epidemiology as a guide to clinical decisions. The association between triglyceride and coronary heart disease. N Engl J Med. 1980;302:1383-1389.

Kannel WB, Castelli WP, Gordon T, McNamara PM. Serum cholesterol, lipoproteins and the risk of coronary heart disease. The Framingham Study. Ann Intern Med. 1971;74:1-12.

Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. JAMA. 1987;258:1183-1186.

Khoo JC, Miller E, McLoughlin P, Steinberg D. Enhanced macrophage uptake of low density lipoprotein after self-aggregation. Arteriosclerosis. 1988 Jul-Aug;8(4):348-58.

Kostner GM, Avogaro P, Cazzolato G, Marth E, et al. Lipoprotein Lp(a) and the risk of myocardial infarction. Atherosclerosis. 1981;38:51-61.

Leonard EJ, Yoshimura T. Human monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). Immunol Today. 1990;11:97-101.

Linz W, Wiemer G, Gohlke P, Unger T, Schölkens BA. Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme Inhibitors. Pharmacol Rev. 1995;47:25-44.

Liu AC, Lawn RM. Vascular interactions of lipoprotein(a). Curr Opin Lipidol. 1994;5:269-273.

Mabuchi H, Michishita T, Mitsuaki T, Fjuita H, Koizumi J, Takeda S, Oonishi M. A new low density lipoprotein apheresis system using two dextran sulfate cellulose collumns in an automated column regeneraing unit (LDL-continuous apheresis). Atherosclerosis. 1987;68:19-25.

Maher VMG, Brown BG, Marcovina SM, et al. Effects of lowering elevated LDL cholesterol on the cardiovascular risk of lipprotein(a). JAMA. 1995;274:1771-1774.

Mahley RW, Innerarity TL, Rall SC Jr, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. J Lipid Res. 1984;25:1277-1294.

Marcovina SM, Morrisett JD. Structure and metabolism of lipoprotein(a). Curr Opin Lipidol. 1995;6:136-145.

Nadler SB, Hidalgo JU, Bloch T. Prediction of blood volume in normal human adults. Surgery. 1962;51:224-32.

Navab M, Berliner JA, Watson AD, et al. The Yin and Yangof oxidation in the development of the fatty streak: a review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1996;16:831-842.

NCEP ATPIII. Executive Summary of The Third Report Of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001;285:2486-2497.

NUB-Richtlinien(1991). Richtlinien über die Einführung neuer Untersuchungs- und Behandlungsmethoden. Deutsches Ärzteblatt 88:C672-674.

Olbricht CJ. Extracorporeal treatment of hypercholesterolaemia. Nephrol Dial Transplant. 1993;8:814-820.

Orth-Gomér K, Mittleman MA, Schenck-Gustafsson K, et al. Lipoprotein(a) as a determinant of coronary heart disease in young women. Circulation. 1997;95:329-334.

Pederson TR et al, for the Scandinavian Simvastatin Survival Study Group: Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). Lancet. 1994;344:1383-1390.

Person E, Nordenstrom J, Nilsson-Ehle P, Hagenfeldt L. Lipolytic and anticoagulant activities of a low molecular weight fragment of heparin. Eur J Clin Invest. 1985;15:215-220.

Pokrovsky SN, Adamova IY, Afanasieva OY, Benevolenkskaya GF. Immunosorbent for selective removal of lipoprotein (a) from human plasma: in vitro study. Artif Organs. 1991;15:136-39.

Rader DJ, Hoeg JM, Brewer HB Jr. Quantitation of plasma apolipoproteins in the primary and secondary prevention of coronary artery disease. Ann Intern Med. 1994;120:1012-1015.

Raines EW, Rosenfield ME, Ross R. The role of macrophages. In: Fuster V, Ross R, Topol EJ, eds. Atherosclerosis and coronary artery disease. Vol. 1. Philadelphia:Lippincott-Raven. 1996:539-555.

Rajavashisth TB, Andalibi A, Territo MC, et al. Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage-colony-stimulating factors by modified low-density lipoproteins. Nature. 1990;344:254-257.

Rath M, Niendorf A, Reblin T, et al. Detection and quantification of lipoprotein(a) in the arterial wall of coronary bypass patients. Arteriosclerosis. 1989;9:579-592.

Rhoads GG, Dahlen G, Berg K, Morton NE, Dannenberg AL. Lp(a) lipoprotein as a risk factor for myocardial infarction. JAMA.1986;256:2540-2544.

Rokitansky Cv. A manual of pathological Anatomy. Vol. 4., Day GE, Sydenham Society, London. 1852.

Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis.
Science. 1973 Jun 29;180(93):1332-9.

Ross R. Mechanism of disease: Atherosclerosis- An Inflammatory disease. N Engl J Med. 1999;340(2):115-126.

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis--an update. N Engl J Med. 1986 Feb 20;314(8):488-500. Review.

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature. 1993;362:801-809.

Seidel D. HELP Apheresis in the treatment of severe hypercholesterolemia: 10 years of clinical experience. Artif Organs 1996;20:303-10.

Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Group. N Engl J Med. 1995;333:301-1307.

Springer TA, Cybulsky MI. Traffic signals on endothelium for leucocytes in health, inflammation, and atherosclerosis. In: Fuster V, Ross R, Topol EJ, eds. Atherosclerosis and coronary artery disease. Vol. 1. Philadelphia: Lipincott-Raven. 1996;511-538.

Stamler J, Wentworth D, Neaton JD for the Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous or graded? JAMA. 1986;256:2823-2828.

Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and ist pathobiological significance. J Biol Chem. 1997;272:20963-20966.

Stoffel W, Borberg H, Grewe V. Application of specific extracorporeal removal of low-density lipoprotein in familial hypercholesterolemia. Lancet. 1981;2:1005.

Stone NJ, Levy RI, Fredrickson DS, Verter J. Coronary artery disease in 116 kindreds with familial type II hyperlipoproteinemia. Circulation. 1974;49: 474-488.

Thompson GR, Kitano Y. The role of low-density-lipoprotein apheresis in the treatment of familiar hypercholesterolemia. Ther Apher. 1975;1:113-6.

Thielemans C, Madhoun P, Lenaers M, Schandene L, Goldman M, Vanherwegheim JL. Anaphylactiodreactions duiring hhemodialysis on AN 69 membranes in patients receiving ACE inhibitors. Kidney Int. 1990;38:982-4.

Virchow R. Phlogose und Thrombose im Gefäßsystem. In: Virchow, Gesammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medizin, S.458-564 Meidinger Sohn, Berlin, Frankfurt am Main, 1856

Wendler T, Lennertz A, Heinemann O, Duhr C, Samtleben W, Bosch T. Heparin-free DALI LDL-apheresis in hyperlipidemic patients; Efficacy, safety, and biocompatibility. Int J Artif Organs 2000;23:710-717.

Windler E, Beil FU, Greten H. Fettstoffwechselerkrankungen; in Classen M, Diehl V, Kochsiek K Innere Medizin. 1994;Urban/Schwarzenberger, München Wien Baltimore: 1097.

Wilhelmsen L, Svärdsud K, Korsan-Bengtson K, Larsson B, Welin I, Tibblin J. Fibrinogen as a risk factor for cerebral stroke and myocardial infarction. N Engl J Med. 1984;311:501-505.

8 Danksagung

Bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med Dr. rer. nat. Thomas Bosch möchte ich mich bedanken, der mir dieses interessante klinische Thema zur Bearbeitung überlassen hat, und mir die Erstellung der Arbeit am Schwerpunkt Nephrologie, Medizinische Klinik und Poliklinik I, Klinikum der Universität München-Großhadern ermöglichte.
Über die gesamte Dauer der Ausarbeitung unterstützte er mich durch Ratschläge und kritische Diskussionen, und ermöglichte so die Fertigstellung der Arbeit.

Mein weiterer Dank gilt Herrn Hum. Biol. Thorsten Wendler, für die Unterstützung bei der computergestützten Ausarbeitung und Anregungen zur Ausarbeitung.

Ganz besonderer Dank gilt Melany für ihre Geduld und Liebe und meinen Eltern, für ihre universelle und moralische Unterstützung meines Studiums.

Herrenberg, den 20.06.2003

9 Lebenslauf

22. Mai 1975	geboren in Ludwigsburg als Sohn von Christine Maria Schilling geb. Bader und Horst Helmut Schilling.

Schulische Laufbahn

1981 – 1985	Schlößlesfeld- Grundschule in Ludwigsburg.
1985 – 1994	Mörike-Gymnasium in Ludwigsburg und Erlangung der allgemeinen Hochschulreife 1994.
November 1994 - Februar 1996	Zivildienst bei der Johanniter-Unfall-Hilfe in Ludwigsburg.

Studium und Prüfungen

Sommersemester 1996	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität in Gießen.
1998	Ärztliche Vorprüfung in Gießen
1999	1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung in Gießen
2001	2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung in Gießen
2001-2002	Praktisches Jahr am Klinikum der Universität München
2002	3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung in München
2003	Beginn der AiP-Phase