

Immunoassorbimento e LDL-afesi

Immunoassorbimento

Molti pazienti affetti da malattie autoimmunitarie non possono essere adeguatamente trattati solo con la terapia farmacologica. Oltretutto, in aggiunta ai sintomi derivanti dalla malattia primaria i pazienti soffrono di gravi effetti collaterali dovuti alla somministrazione di farmaci a lungo termine. Per il trattamento di pazienti con malattie autoimmunitarie oggi il sistema Immunosorba® è utilizzato per diverse indicazioni. Fra i maggiori vantaggi rispetto ai farmaci, vi è la buona biocompatibilità con effetti collaterali marginali e l'alta specificità del sistema.

Immunosorba

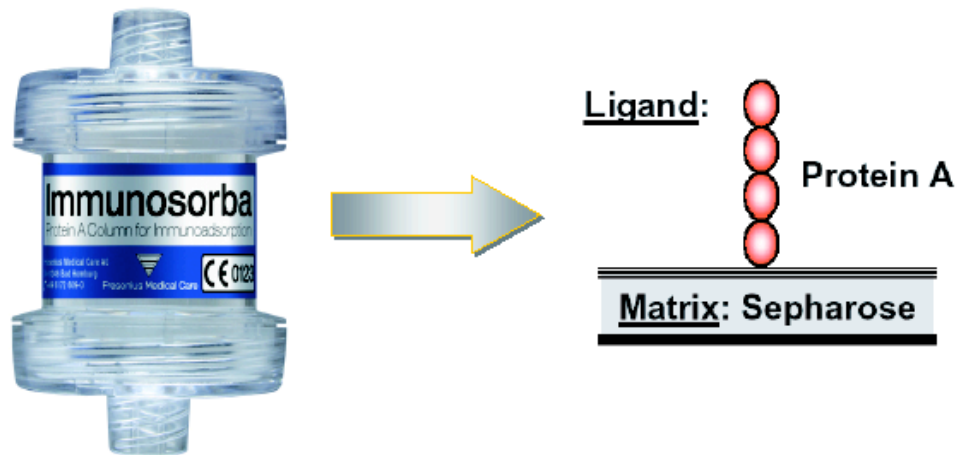
Il principio della cromatografia per affinità usato in biochimica è stato applicato alla medicina all'inizio degli anni Ottanta per sviluppare il Sistema Immunosorba® (1). La selettività per le IgG permette il trattamento di elevati volumi di plasma senza alcuna riduzione clinicamente significativa di altre proteine plasmatiche quali albumina, fibrinogeno e AT III. In questo sistema si usano due colonne in parallelo ripetutamente rigenerabili. Di conseguenza non c'è necessità di liquidi di rimpiazzo poiché il paziente nella linea di ritorno riceve il suo stesso plasma purificato. Usando il sistema Immunosorba®, tre volumi di plasma possono essere facilmente trattati in 4-5 ore e il trattamento può essere ripetuto secondo le necessità(5). In una procedura di questo tipo il livello delle IgG può essere ridotto ad un valore pari al 5% del livello di partenza. Le colonne Immunosorba sono costituite da una matrice di sefarosio alla quale sono legate numerose unità di **Proteina A** di *Staphylococcus aureus*; questa proteina è il ligando che consente l'adsorbimento delle immunoglobuline del paziente: infatti, la proteina A è in grado di legare la porzione costante (Fc) delle immunoglobuline quali IgG, IgM, IgA e immunocomplessi (CICs). La capacità legante di una colonna è pari a 1.2 g di immunoglobuline per ogni ciclo e la superficie adsorbente di una colonna è pari all'area di un campo di calcio. La selettività per le IgG permette il trattamento di elevati volumi di plasma senza alcuna riduzione clinicamente significativa di altre proteine plasmatiche quali albumina, fibrinogeno e AT III.

Il trattamento richiede l'impiego di due apparecchiature, il CITEM-10 che controlla il flusso del plasma attraverso le colonne, ed un separatore cellulare che serve per separare il plasma dalla frazione corpuscolata del sangue.

Il Citem – 10 è un dispositivo per l'immunoassorbimento in continuo e il nome è un acronimo per "Continuous Immuno Therapy Elution Monitor". Il Citem-10 gestisce e controlla una procedura extracorporea per la rimozione delle immunoglobuline dal plasma, mediante immunoassorbimento. Il Citem-10 lavora con due colonne, impiegando un volume di 62.5 ml di plasma ciascuna utilizzate in parallelo ed indipendenti una dall'altra. L'adsorbimento comincia in una colonna e dopo un periodo di tempo predefinito, un ciclo, il plasma viene deviato automaticamente nell'altra colonna, mentre la prima colonna viene rigenerata. Poiché questo processo avviene in continuo, il plasma

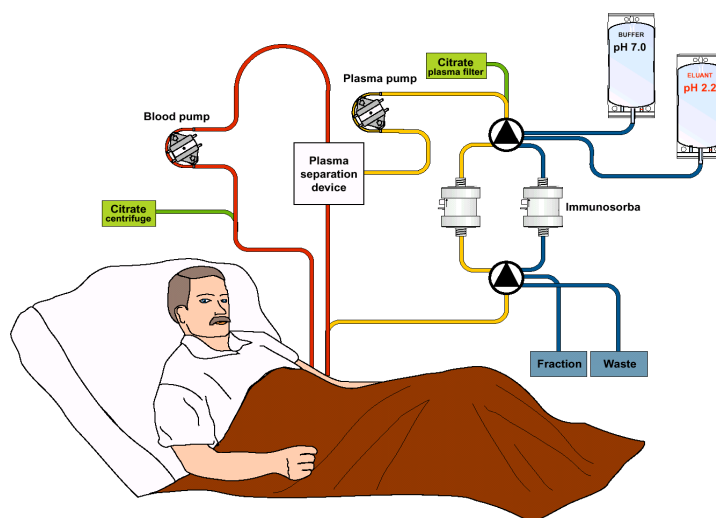
può passare attraverso le colonne un numero illimitato di volte , tanto quanto è necessario per rimuovere tutte le immunoglobuline che devono essere adsorbite.

Colonne Immunosorba - principio



Ogni coppia di colonne deve essere utilizzata soltanto per un paziente, e può essere riutilizzata per diversi trattamenti , fino a quando le colonne perderanno la loro capacità legante. La capacità legante delle colonne è indicata dall'**indice di efficienza**, che viene misurato dalla macchina all'inizio e al termine di ogni trattamento. Quando le colonne sono nuove l'indice ha un valore pari a 47-48; quando il valore scende a circa 20 occorre cambiare le colonne.

Sistema Immunosorba



- Emofilia da inibitori
- Iperimmunizzazione HLA (pre trapianto)
- Rigetto vascolare acuto
- Malattie autoimmuni neurologiche quali le Sindromi di Guillan Barré e Miastenia gravis
- Glomerulonefriti rapidamente progressive quali LES
- Granulomatosi di Wegener
- Sindrome di Goodpasture
- Sindrome emolitico-uremica
- Artrite reumatoide
- Cardiomiopatia dilatativa
- Pemfigo

Questo sistema è in grado di trattare una quantità illimitata di plasma con un favorevole rapporto costo-benefici, e possiede molti vantaggi, rispetto ad altri sistemi di trattamento extracorporeo, quali:

- Nessuna perdita di componenti plasmatiche essenziali che possono portare a problemi di coagulazione.
- Nessuna somministrazione di fluidi che possono causare allergie o reazioni anafilattiche.
- Nessun rischio di infezione derivato da prodotti plasmatici umani.

Il sistema di adsorbimento con proteina A Immunosorba® è quindi un potente mezzo per la rimozione rapida di anticorpi di origine diversa. E' accettato come metodo alternativo o come parte di un trattamento immunomodulatorio nella terapia di patologie autoimmuni anticorpo-mediate.

Protezione cardiovascolare con la rimozione selettiva del colesterolo LDL,VLDL e Lp(a) direttamente dal sangue intero

DALI – il primo sistema di LDL-afèresi su sangue intero

In pazienti con forme particolari di ipercolesterolemia, i livelli aumentati di colesterolo non possono essere sempre abbassati con i metodi classici di riduzione (controllo del peso corporeo, dieta ipocolesterolemica e farmaci). In questi casi, e maggiormente dove sono evidenti danni a livello vascolare, è indicato l'uso di metodi aferetici extracorporei per l'eliminazione del colesterolo. Diversi studi scientifici controllati hanno dimostrato che:

1. pazienti sottoposti alla metodica della LDL-afèresi in associazione alle statine sono affetti da un minor numero di eventi cardiovascolari (procedure di angioplastica, stenting, interventi di by-pass, recidive) rispetto ai pazienti trattati con la sola terapia farmacologica;
2. la LDL-afèresi determina un arresto e/o una regressione delle placche coronariche
3. la LDL-afèresi riduce il dolore anginoso
4. pazienti sottoposti ad LDL-afèresi hanno ottenuto un arresto e/o una regressione delle placche a livello delle carotidi.

Il sistema DALI[®] (Direct Adsorption of Lipids) viene utilizzato per la rimozione di lipoproteine a bassa densità dal sangue intero. Lo scopo terapeutico è quello di ridurre effettivamente il livello di colesterolo per prevenire lesioni aterosclerotiche e far regredire quelle già presenti. Per questo scopo è necessario il costante abbassamento del livello delle LDL nel sangue.

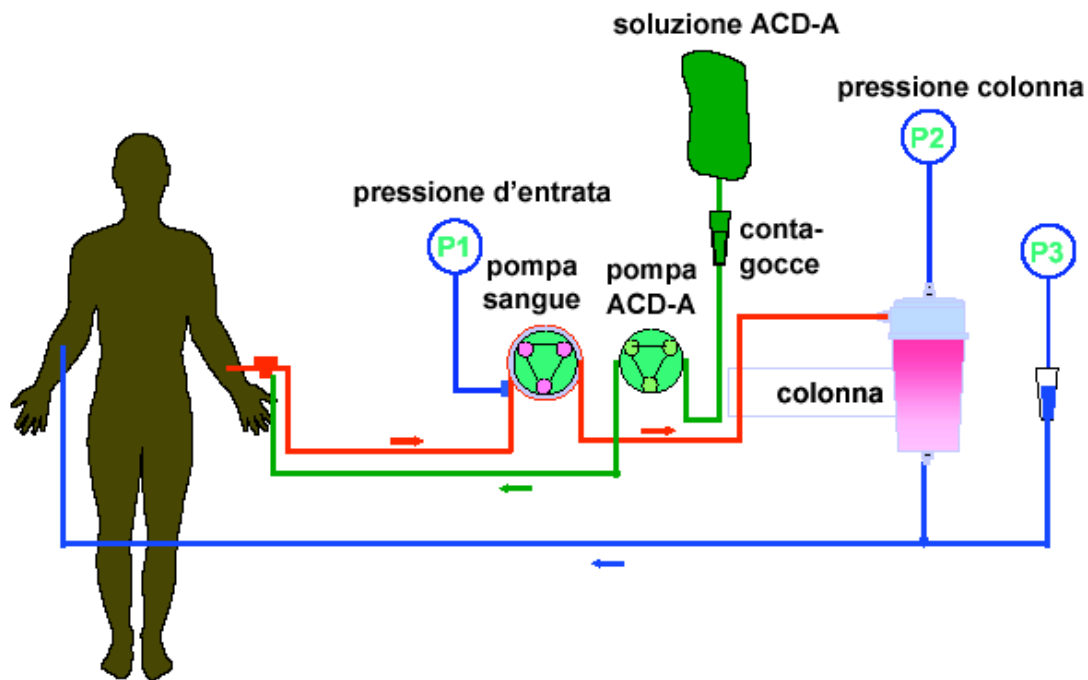
Il sistema DALI[®] sviluppato da Fresenius, non richiede la separazione del plasma, ma lavora direttamente su sangue intero (2). La separazione tra plasma e cellule del sangue avviene all'interno del materiale adsorbente tramite un meccanismo di gel filtrazione. La rigenerazione del materiale adsorbente non è necessaria durante il trattamento, grazie all'alta specificità e alla elevata capacità adsorbente del materiale stesso. L'anticoagulazione del sangue è realizzata tramite aggiunta, in continuo, di citrato (ACD-A).

Il componente principale del sistema DALI[®] è la colonna adsorbente. Questa è costituita da un involucro in materiale plastico, contenente biglie di poliacrilamide a cui è legato acido poliacrilico. Il materiale di sostegno si presenta in forma di biglie porose circolari di circa 100-200 µm di diametro. Queste biglie di poliacrilamide sono rivestite di acido poliacrilico, un polimero caricato negativamente (ligando). Grazie alla carica negativa del gruppo carbossilico, l'acido poliacrilico lega il dominio positivo della proteina ApoB100 presente nelle LDL e VLDL. Vengono legati anche ioni Calcio e Magnesio. Questo principio di legame simula la condizione fisiologica del legame del recettore per le LDL nel fegato. La separazione delle cellule del sangue dal plasma viene realizzata tramite tecnica di gel filtrazione. I pori presenti nelle biglie dell'adsorbitore permettono l'entrata solo a sostanze molto più piccole delle dimensioni cellulari. Per questo, solo le componenti plasmatiche del sangue intero (tra cui l'LDL) possono accedere alla superficie caricata negativamente all'interno dei pori (1g di materiale rappresenta 100 m² di superficie). Le interazioni ioniche e idrofobiche delle cellule del sangue con la superficie del materiale adsorbente vengono in questo modo minimizzate.

Caratteristiche e vantaggi del trattamento

- Rimozione selettiva del colesterolo LDL, VLDL, Lp(a) e Apo B
- Riduzione del fattore di Von Willebrand e trigliceridi
- Riduzione del fibrinogeno
- Riduzione della proteina C-reattiva
- Aumento del colesterolo HDL
- Miglioramento delle caratteristiche reologiche del sangue (p.es. riduzione dell'aggregazione eritrocitaria
- Effetti positivi sulle molecole di adesione (VCAM-1 e ICAM-1)
- Metodica semplice
- Risparmio di tempo
- Risparmio di personale

Il sistema DALI



Attualmente il sistema DALI[®] esiste in cinque diverse configurazioni a seconda delle richieste dei singoli pazienti.

- ◆ DALI[®] 500, con una colonna adsorbente 500
- ◆ DALI[®] 750, con una colonna adsorbente 750
- ◆ DALI[®] 1000, con due colonne adsorbenti 500
- ◆ DALI[®] 1250, con una colonna adsorbente 500 e una da 750

Le colonne 500 e 750 sequestrano un volume extracorporeo di sangue di circa 220 e 330 ml rispettivamente. A seconda della dimensione dell'adsorbente, le percentuali di riduzione del colesterolo LDL che si possono ottenere sono tra 64 % e 76 % (3). Il colesterolo HDL non è significativamente influenzato. Il trattamento dura circa due ore. L' LDL aferesi viene effettuata una volta ogni una o due settimane, e deve essere continuata durante tutta la vita, nei casi di ipercolesterolemia familiare di tipo omo- o eterozigote.

L'apparecchiatura ART Universal multi-uso

L'apparecchio per emoadsorbimento ART Universal multi-uso aziona e controlla il circolo ematico extracorporeo. Il trattamento di aferesi viene fatto con sangue intero. Nel circolo sanguigno extracorporeo il sangue viene anticoagulato continuamente con soluzione ACD-A. Il flusso ACD-A è regolabile in rapporto al flusso del sangue e viene regolato a seconda del flusso del sangue. Il flusso ACD-A viene controllato da un sensore di gocce. Un sensore di aria impedisce la trasfusione di aria. Tre monitor per pressione controllano la pressione al condotto di entrata, prima dell'adsorbente e nel condotto di uscita. Con il monitor per la pressione di entrata si può per esempio rilevare un risucchio dell'ago nel vaso. Con il monitor per la pressione di uscita si può per esempio scoprire un coagulo di sangue nella parte di uscita del sistema di tubi. Il controllo della pressione dell'adsorbente scopre elevate pressioni nell'adsorbente, cioè con la coagulazione di sangue o sangue vischioso. L'apparecchio per emoadsorbimento ART Universal multi-uso è dotato

di tutti i sistemi di protezione per il funzionamento e la sicurezza dei pazienti. Il controllo automatico dei sistemi di protezione (test di funzionamento) deve venire attivato prima di ogni trattamento da parte dell'operatore.

Per assicurare un flusso uniforme attraverso la colonna, il materiale assorbente deve venire propriamente miscelato durante la fase di preparazione. Successivamente deve essere effettuato il lavaggio con la soluzione di preparazione. Questo lavaggio è necessario per equilibrare (saturare) la colonna con i sali contenuti nella soluzione di preparazione, prima di potere collegare il paziente per il trattamento. Durante il processo aferetico vengono processati da 6000 a 9000 ml di sangue intero durante un periodo di circa 90 minuti.



ART Universal multi-uso

Sulla base delle passate esperienze in clinica nel sistema DALI[®] per l'anticoagulazione del circolo extracorporeo si esegue una combinazione di somministrazione di eparina prima del trattamento ed un'aggiunta continuativa di ACD-A. L'anticoagulazione necessaria con ogni procedimento terapeutico extracorporeo viene introdotta inizialmente con la somministrazione di un bolo di eparina. Inoltre, segue la somministrazione di eparina nella prima sacca di soluzione di priming, per saturare l'adsorbente con eparina. Durante il trattamento si possono liberare e passare al paziente piccole quantità di questa eparina. Esistono due regimi di anticoagulazione e quindi la scelta del rapporto ACD-A/sangue adatto si basa sui fattori clinici del paziente e viene prescritta dal medico curante (4).

Schema di Anticoagulazione

2 Diversi Sistemi

Citrato	Regime Standard (STD)	Bassa Dose (LDC)
Priming/rinsing	ACD :WB 1:20	ACD :WB 1:40
Bolo eparina	20 IU/kg	60 IU/kg
Trattamento	ACD : WB 1:20	ACD : WB 1:40

In generale con questa forma dell'anticoagulazione si può avere una diminuzione passeggera del calcio ionizzato nel sangue. Se nelle aggiunte di citrato si verificano segni di ipocalcemia, a seconda delle caratteristiche dei sintomi va ridotta la velocità del flusso del sangue o va sostituita al paziente una quantità corrispondente di calcio. In caso di pazienti che mostrano già un tasso di calcio preterapeutico nel settore inferiore di norma, va preso in considerazione un trattamento di sostituzione di calcio orale a corrispondenti intervalli di tempo. Un'ipocalcemia che si verifichi durante il trattamento mostra sintomi di aumento di eccitabilità neuromuscolare e parestesie che si manifestano per lo più prima perioralmente o alle dita (5).

Il sistema DALI[®] mostra una biocompatibilità eccellente, quindi i pazienti tollerano bene il trattamento. Il sistema è facile da utilizzare, sicuro ed affidabile.

BIBLIOGRAFIA

- 1) SAMUELSSON G : Extracorporeal Immunoabsorption with Protein A : Technical Aspects and Clinical Results. *Journal of Clinical Apheresis*. 2001; 16:49-52.
- 2) BOSCH T, LENNERTZ A, SCHMIDT B, FINK E, KELLER C, TOEPFER M, DRAEGER J, SAMTLEBEN W: DALI Apheresis in Hyperlipidemic Patients: Biocompatibility, Efficacy and Selectivity of Direct Adsorption of Lipoproteins from Whole Blood. *Artificial Organs*. 2000; 24(2):81-90.
- 3) BOSCH T : Direct Adsorption of Lipoproteins from Whole Blood by DALI Apheresis: Technique and Effects. *Therapeutic Apheresis*. 2001; 5(4):239-243.
- 4) 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. *Artificial Organs*. 2000; 24(2):790-796.
- 5) BOSCH T : Practical aspects of direct adsorption of lipoproteins from whole blood by DALI LDL-apheresis. *Transfusion and Apheresis Science*. 31(2004): 83-88.

Per ulteriori informazioni rivolgersi a:

Dr. Chris. Siewicz
Responsabile
Adsorber Technology

Fresenius Medical Care
Via Crema 8
26020 Palazzo Pignano - CR - Italy
Tel. ++39 0373 974460 Fax. +39 0373 974201
Mobile: ++39 348 6537057
E-mail: chris.siewicz@fmc-ag.com