

Aus dem Institut für Hämostaseologie und Transfusionsmedizin

Klinikum der Stadt Ludwigshafen am Rhein gGmbH

Direktor: Prof. Dr. med. Peter Hellstern

**Der Einfluss der präparativen Plasmapherese auf den  
Immunglobulin G-, Gesamteiweiß- und Flüssigkeitshaushalt  
des Plasmaspenders**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität des Saarlandes

2014

vorgelegt von: Anke Möller

geb. am: 01.06.1981 in Köln

# Inhalt

<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>4</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>6</b>
<b>1. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>8</b>
<b>2. EINLEITUNG.....</b>	<b>12</b>
2.1. DIE PLASMAPHERESE.....	13
2.1.1. <i>Richtlinien</i> .....	13
2.1.2. <i>Unerwünschte Ereignisse der Plasmapherese</i> .....	18
2.1.3. <i>Plasmaderivate</i> .....	18
2.1.4. <i>Der Plasmamarkt</i> .....	19
2.2. PLASMAPROTEINE .....	19
2.2.1 <i>Immunglobulin G</i> .....	20
2.2.2. <i>Immunglobulin M</i> .....	24
2.2.3. <i>Albumin</i> .....	24
2.3. FLÜSSIGKEITSKOMPARTIMENTE UND STOFFAUSTAUSCH.....	25
2.3.1. <i>Einfluss der Plasmapherese</i> .....	26
2.4. ZIELSTELLUNG DER ARBEIT .....	27
<b>3. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>28</b>
3.1. RETROSPEKTIVER TEIL .....	28
3.1.1. <i>Material</i> .....	28
3.1.2. <i>Berechnungen</i> .....	29
3.1.3. <i>Ausschlusskriterien</i> .....	30
3.1.4. <i>Statistik</i> .....	31
3.2. PROSPEKTIVER TEIL.....	35
3.2.1. <i>Material und Geräte</i> .....	35
3.2.2. <i>Spender</i> .....	36
3.2.3. <i>Ausschlusskriterien</i> .....	36
3.2.4. <i>Bioimpedanzspektroskopie</i> .....	38
3.2.5. <i>Plasmapherese</i> .....	42
3.2.6. <i>Blutprobenentnahme</i> .....	43
3.2.7. <i>Labormethodik</i> .....	45
3.2.8. <i>Berechnungen</i> .....	45
3.2.9. <i>Statistik</i> .....	47
<b>4. ERGEBNISSE.....</b>	<b>48</b>
4.1. RETROSPEKTIVER TEIL.....	48
4.1.1. <i>Immunglobulin G</i> .....	48
4.1.2. <i>Gesamteiweiß</i> .....	57
4.1.3. <i>Vergleich der IgG- und GEW-Ergebnisse</i> .....	65
4.1.4. <i>Zusammenfassung der Ergebnisse des retrospektiven Teils</i> .....	67
4.2. PROSPEKTIVER TEIL.....	68
4.2.1. <i>Charakterisierung von Spendern und Spenden</i> .....	68
4.2.2. <i>Bioimpedanzspektroskopie</i> .....	73
4.2.2.1. <i>Gruppe TVN</i> .....	73
4.2.2.2. <i>Gruppe T2d</i> .....	75
4.2.2.3. <i>Vergleich Gruppe TVN vs. Gruppe T2d</i> .....	77
4.2.2.4. <i>Bioimpedanzmessung während der Plasmapherese</i> .....	79
4.2.3. <i>Verdünnungsfaktoren</i> .....	81
4.2.4. <i>Zusammenfassung der Ergebnisse des prospektiven Teils</i> .....	87

<b>5. DISKUSSION .....</b>	<b>88</b>
5.1. RETROSPEKTIVER TEIL.....	88
5.2. PROSPEKTIVER TEIL.....	96
5.2.1. <i>Nachweis von Volumenflüssen bei Plasmaspendern</i> .....	96
5.2.2. <i>Verdünnungsfaktoren</i> .....	98
5.3. SCHLUSSFOLGERUNGEN .....	102
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>103</b>
<b>7. PUBLIKATIONEN .....</b>	<b>108</b>
<b>8. DANKSAGUNG .....</b>	<b>109</b>
<b>9. LEBENSLAUF .....</b>	<b>110</b>

## Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: BEZIEHUNG ZWISCHEN IGG-SERUMKONZENTRATION UND IGG-HALBWERTSZEIT.....	23
ABBILDUNG 2: DER MECHANISMUS DES IGG-RECYCLINGS .....	24
ABBILDUNG 3: ZEITPUNKTE DER IGG-/GEW-KONZENTRATIONSBESTIMMUNG .....	28
ABBILDUNG 4: WECHSELSTROMERSATZSCHALTUNG DES KÖRPERS .....	38
ABBILDUNG 5: DAS VERHÄLTNIS VON IMPEDANZ, REAKTANZ UND RESISTANCE .....	40
ABBILDUNG 6: ENTSTEHUNG DES PHASENWINKELS AN DER ZELLMEMBRAN .....	40
ABBILDUNG 7: ELEKTRODENFÜHRUNG UND IM STROMKREIS VORHANDENE IMPEDANZEN (BCM) .....	42
ABBILDUNG 8: DARSTELLUNG DES ZELLSEPARATORS .....	43
ABBILDUNG 9: VERTEILUNG IGGT1-, IGGT2- UND IGGT3-SERUMKONZENTRATIONEN.....	50
ABBILDUNG 10: AUSGEWÄHLTE IGG-KORRELATIONEN DES RETROSPEKTIVEN TEILS.....	54
ABBILDUNG 11: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG VON GEWT1, GEWT2 UND GEWT3.....	60
ABBILDUNG 12: KURZE SPENDEZEIT BEI HOHER SPENDEFREQUENZ .....	62
ABBILDUNG 13: VOLUMENVERSCHIEBUNGEN WÄHREND DER PLASMAPHERESE .....	80
ABBILDUNG 14: HÄUFIGKEITSVERTEILUNG IGG-KONZENTRATION VOR UND NACH PLASMAPHERESE .....	83
ABBILDUNG 15: KORRELATION DER IGG- UND IGM-VERDÜNNUNGSFAKTOREN .....	85
ABBILDUNG 16: KORRELATION DER IGG- UND ALBUMIN-VERDÜNNUNGSFAKTOREN .....	86

## Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: IGG-SUBKLASSEN EIGENSCHAFTEN .....	21
TABELLE 2: DER EINFLUSS DER AUSSCHLUSSKRITERIEN AUF DEN IGG- UND GEW-DATENSATZ.....	31
TABELLE 3: DER EINFLUSS DES LABORWECHSELS AUF DIE IGGT2-KONZENTRATIONEN.....	33
TABELLE 4: EINFLUSS DES LABORWECHSELS AUF DIE IGGT3-KONZENTRATIONEN.....	34
TABELLE 5: AUSGESCHLOSSENE DATENSÄTZE GEMÄß AUSSCHLUSSKRITERIEN PROSPEKTIVER TEIL – BCM	37
TABELLE 6: IGG-DATENÜBERBLICK DES RETROSPEKTIVEN TEILS.....	48
TABELLE 7: VERTEILUNG DER IGGT1-SERUMKONZENTRATIONEN.....	49
TABELLE 8: VERTEILUNG DER IGGT2-SERUMKONZENTRATIONEN.....	49
TABELLE 9: VERTEILUNG DER IGGT3-SERUMKONZENTRATIONEN .....	50
TABELLE 10: HÖHERE IGGT2- UND IGGT3-KONZENTRATIONEN DURCH RICHTLINIENNOVELLIERUNG .....	51
TABELLE 11: ZUSAMMENHANG ZWISCHEN IGG-KONZENTRATIONEN UND SPENDEDATEN.....	53
TABELLE 12: KLASSENEINTEILUNG DER IGG-REGENERATIONS RATEN .....	55
TABELLE 13: VERTEILUNG DER IGG-REGENERATIONS RATEN.....	55
TABELLE 14: PROGNOTIZIERTE, TATSÄCHLICHE UND VORGESCHRIEBENE MINDESTSPENDEPAUSE (IGG) ....	57
TABELLE 15: GEW DATENÜBERBLICK-RETROSPEKTIVER TEIL .....	58
TABELLE 16: VERTEILUNG DER GEW-KONZENTRATIONEN ZU BEGINN DER SPENDETÄTIGKEIT (GEWT1) .....	59
TABELLE 17: VERTEILUNG DER ZUR RÜCKSTELLUNG FÜHRENDEN GEW-KONZENTRATIONEN (GEWT2).....	59
TABELLE 18: VERTEILUNG DER GEW-KONZENTRATIONEN NACH ABLAUF DER RÜCKSTELLUNG (GEWT3) ....	59
TABELLE 19: VERTEILUNG DER GEW-REGENERATIONS RATEN (REG <sub>GEW</sub> ).....	61
TABELLE 20: ZUSAMMENHANG VON GEW-KONZENTRATIONEN UND SPENDEDATEN .....	63
TABELLE 21: PROGNOTIZIERTE, TATSÄCHLICHE UND VORGESCHRIEBENE MINDESTSPENDEPAUSE (GEW)..	64
TABELLE 22: VERGLEICH DER IGG-/GEW-RELEVANZ AUSGEWÄHLTER KORRELATIONS Koeffizienten.....	66
TABELLE 23: SPENDER- UND SPENDE DATEN BCM GRUPPE TVN UND GRUPPE T2D.....	69
TABELLE 24: SPENDER- UND SPENDE DATEN BCM GRUPPE TVN.....	70
TABELLE 25: SPENDER- UND SPENDE DATEN BCM GRUPPE T2D.....	71
TABELLE 26: SPENDER- UND SPENDE DATEN GRUPPE PLASMAPROTEIN-VERDÜNNUNGSFAKTOREN .....	72
TABELLE 27: FLÜSSIGKEITSKOMPARTIMENTE VOR UND NACH PLASMAPHERESE GRUPPE TVN.....	74
TABELLE 28: ÜBERWÄSSERUNG VOR UND NACH PLASMAPHERESE GRUPPE TVN.....	74
TABELLE 29: FLÜSSIGKEITSKOMPARTIMENTE VOR UND NACH PLASMAPHERESE GRUPPE T2D.....	76
TABELLE 30: ÜBERWÄSSERUNG VOR UND NACH PLASMAPHERESE GRUPPE T2D.....	76
TABELLE 31: VERGLEICH SPENDER-, SPENDE- UND BCM-DATEN GRUPPE TVN UND T2D .....	77
TABELLE 32: ZUSAMMENFASSE NDE TABELLE DER VOLUMENVERÄNDERUNGEN .....	78
TABELLE 33: KÖRPERKOMPARTIMENTE WÄHREND DER PLASMAPHERESE .....	79
TABELLE 34: PLASMAPROTEINKONZENTRATIONEN VOR DER PLASMAPHERESE .....	82
TABELLE 35: PLASMAPROTEINKONZENTRATIONEN NACH DER PLASMAPHERESE .....	83
TABELLE 36: VERGLEICH PROTEINKONZENTRATIONEN VOR UND NACH DER PLASMAPHERESE (T-TEST).....	83
TABELLE 37: VERDÜNNUNGSFAKTOREN DER EINZELNEN PLASMAPROTEINE .....	84
TABELLE 38: VERGLEICH DER VERDÜNNUNGSFAKTOREN (P-WERTE).....	84
TABELLE 39: KORRELATIONSÜBERSICHT DER VERDÜNNUNGSFAKTOREN .....	85

## Abkürzungsverzeichnis

AK	Antikoagulans
Alb	Albumin
BCM	Body Composition Monitor
BV	Blutvolumen
BVm	Blutvolumen der männlichen Spender
BVw	Blutvolumen der weiblichen Spender
C	Konzentration
Cpost	Konzentration nach Plasmapherese
Cprä	Konzentration vor Plasmapherese
CVges	Zitratvolumen gesamt
CVPI	Zitratvolumen in der Spende
CVSp	Zitratvolumen im Spender
DV	Spendevolumen
ECV	Extrakorporales Volumen
ECW	Extrazelluläres Wasser
d	Tage
GEW	Gesamteiweiß
ICW	Intrazelluläres Wasser
IE	Internationale Einheiten
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
INV	Intravasaler Netto-Volumenverlust
i.v.	intravenös
lbs	Pound
Max	Maximum
Med	Median
Min	Minimum
Min.	Minuten
MW	Mittelwert
n	Anzahl
nIP	Anzahl Plasmaspenden
NS	Volumennachstrom

nVB ..... Anzahl Vollblutspenden  
n.d. .... nicht definiert  
OH ..... Überwässerung  
p.o. .... per os  
PPH ..... Plasmapherese  
PV ..... Plasmavolumen  
Rel. OH ECW ..... Relative Überwässerung  
RegRGEW ..... Regenerationsrate Gesamteiweiß  
RegRprogGEW .... Prognostizierte Regenerationsrate Gesamteiweiß  
RegRIgG ..... Regenerationsrate Immunglobulin G  
RegRprogGEW .... Prognostizierte Regenerationsrate GEW  
RegRproglgG ..... Prognostizierte Regenerationsrate Immunglobulin G  
SD ..... Standardabweichung  
SE ..... Standardfehler  
SI ..... Einheit des Internationalen Einheitensystems  
SpFrequ ..... Spendenfrequenz  
SpPau ..... Spendenpause  
SpPauprogGEW .. Prognostizierte Spendenpause GEW  
SpPauprogIgG .... Prognostizierte Spendenpause IgG  
SpZeit ..... Spendezeit  
TER ..... transkapilläre Austauschrate (transcapillary escape rate)  
TBW ..... Gesamtkörperwasser  
VF ..... Verdünnungsfaktor  
VK ..... Variationskoeffizient

# 1. Zusammenfassung

**Hintergrund:** Die präparative Plasmapherese hat weltweit große Bedeutung für die Versorgung der Bevölkerung mit Plasmaprodukten wie Immunglobulinen oder Gerinnungsfaktoren. Von der Bundesärztekammer herausgegebene Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen sollen die Grundlage für die Sicherheit und Effizienz der Plasmapherese bilden. Zum Schutz der Spender werden maximale Spendenvolumina und feste Kontrollintervalle des Eiweißhaushaltes festgelegt. Die Begrenzung der Spendenmenge und regelmäßige Laborkontrollen haben zwei Ziele: Hypovolämisch bedingte unerwünschte Ereignisse zu vermeiden und den Spender vor einem zu großen Verlust an Plasmaproteinen zu schützen. Im internationalen Vergleich zeigen sich große Unterschiede in der Umsetzung dieser beiden Aspekte des Spenderschutzes. In Deutschland stellen einzelne Blutspendedienste Spender mit erniedrigten Immunglobulin G (IgG)- bzw. Gesamteiweißkonzentrationen (GEW) für 21 bzw. 14 Tage von weiteren Spenden zurück. Die Studie prüfte, ob die derzeit in Deutschland praktizierte Überwachung des Eiweißhaushaltes den individuellen Ansprüchen des Spenderschutzes gerecht wird. Des Weiteren wurden der unmittelbare Einfluss der Plasmapherese auf den Hydratationsstatus und verfügbare kompensierende Volumenverschiebungen im Spenderorganismus im Hinblick auf die maximal zugelassenen Spendenvolumina untersucht.

**Material und Methoden:** Im retrospektiven Teil wurde die Datenbank eines Blutspendedienstes bezüglich IgG- und GEW-bedingter Spenderrückstellungen analysiert. Eingeschlossen wurden 1167 GEW- und 1293 IgG-Datensätze. Spendenzeitraum, Spendenfrequenz, Serumkonzentrationen und Effizienz der Rückstellungsdauer wurden untersucht. Ein Prognosemodell wurde zur Ermittlung der individuellen Mindestrückstellungsdauer entwickelt.

Im prospektiven Teil wurden mittels Bioimpedanzanalyse die Volumenflüsse zwischen Gesamtkörperwasser, extrazellulärem und intrazellulärem Wasser unmittelbar vor und 30 Min. nach der Plasmapherese (Gruppe TVN, n = 21) bzw. unmittelbar vor und 2 Tage nach der Plasmapherese (Gruppe T2d, n = 20) bestimmt. Um auch Volumenverschiebungen innerhalb des Extrazellulärraums - zwischen extra- und intravasalem Kompartiment - identifizieren zu können, wurden Plasmaproteinkonzentrationen (IgG, IgG-Subklassen, IgM, Albumin) unmittelbar vor und nach der Plasmapherese bestimmt. Verdünnungsfaktoren wurden zur Schätzung des ausgetauschten Volumens berechnet. Da sich IgM zu 80-90% im Intravasalraum befindet, wurde über den IgM-Verdünnungsfaktor Richtung und Ausmaß der Volumenverschiebung ermittelt.

**Ergebnisse:** Für 6% der Spender wurden sehr niedrige IgG-Konzentrationen von unter 4,99 g/L identifiziert. Die IgG- und GEW-Konzentrationen nach Ablauf der Spendenpause lagen signifikant unter den Konzentrationen bei Beginn der Spendentätigkeit ( $p < 0,0001$ ). Die

Spender erlangten ihr Ausgangsniveau nicht wieder. Des Weiteren waren die IgG- und GEW-Konzentrationsverläufe durch eine sehr große Individualität gekennzeichnet. Die fest vorgeschriebene Rückstellungsdauer konnte dieser Individualität nicht gerecht werden. Das Prognosemodell zur Schätzung der individuell erforderlichen Spendenpause zeigte, dass 44% (IgG) bzw. 43% (GEW) der Spender bereits vor Ablauf der fest vorgeschriebenen Rückstellungsfrist wieder hätten spenden können (95% Konfidenzintervall). Die Impedanzmessungen zeigten bereits 30 Min. nach Ablauf der Spende Volumenverschiebungen. Das Flüssigkeitsvolumen innerhalb des Extrazellularraums hat sich um 230 mL reduziert. Zwei Tage nach der Plasmapherese konnten keine Veränderungen mehr beobachtet werden. Die während der Plasmapherese durchgeführten Impedanzmessungen konnten alle verfahrensbedingten Volumenänderungen (Vollblutentnahme, Zellrückgabe, NaCl-Substitution) abbilden. Alle untersuchten Proteine wurden vergleichbar stark um den Faktor 1,15 (Albumin) bis 1,19 (IgG<sub>3</sub>) verdünnt. Anhand des IgM-Verdünnungsfaktors von 1,16 und Abzug der im Rahmen des Verfahrens infundierten NaCl- und Zitrat-Volumina resultierte ein mittlerer intravasaler Volumenzufluss von 80 mL aus dem Interstitium in den Intravasalraum. Unmittelbar nach Plasmapherese ergab sich ein intravasales Volumendefizit von 334 mL. Dies entspricht lediglich 1,7% des gesamten, der Volumenkompensation schnell zur Verfügung stehenden extrazellulären Flüssigkeitsvolumens.

**Schlussfolgerungen:** Vor dem Hintergrund von Spenderschutz (Identifizierung sehr niedriger IgG-Konzentrationen) und Effizienz der Plasmapherese (zu lange zurückgestellte Spendewillige) kann die IgG- und GEW-Rückstellungspraxis in Zukunft individueller gestaltet werden. Das im Rahmen dieser Studie entwickelte Prognosemodell kann dabei als ein erster Schritt in diese Richtung gesehen werden, muss jedoch hinsichtlich seiner Anwendbarkeit auf unterschiedliche Spenderpopulationen (Alter, Geschlecht, Gewicht, etc.) weiter geprüft werden. Erstmals wurden durch Plasmapherese ausgelöste Volumenverschiebungen nachgewiesen und quantifiziert. Durch eine schnell einsetzende und effektive Volumenverschiebung in den Intravasalraum wird der resultierende intravasale Volumenverlust gering gehalten. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den geringen Nebenwirkungsraten auch bei großen Spendenvolumina.

# The influence of preparative plasmapheresis on donors IgG, total protein and fluid balance

## Summary

**Background.** Preparative plasmapheresis contributes substantially to the worldwide supply with essential plasma derivatives such as immunoglobulins and coagulation factor concentrates. The German Medical Association has published guidelines for the production of blood and blood components in order to ensure quality and safety of plasmapheresis. Maximum donation volumes and protein analysis intervals have been defined with regard to maximum donor safety, in order to minimize hypovolemic events during apheresis and to prevent plasma protein depletion. An international comparison reveals significant differences in the implementation of both aspects of donor protection. In Germany, donors presenting with decreased levels of total protein (GEW) and/or immunoglobulin G (IgG) are withheld from donor apheresis for 14 (GEW) or 21 days (IgG), respectively. This study aimed to verify whether current plasma protein monitoring standards meet the requirements of individual donor protection. Additionally, the immediate influence of plasmapheresis on hydration and compensatory volume shifts associated with maximum donation volumes was investigated.

**Materials and Methods.** A database of donor deferrals due to decreased levels of GEW and IgG was analyzed retrospectively, yielding 1167 (GEW) and 1293 (IgG) data sets, respectively. Duration of donor program enrolment, donation frequency, serum levels and efficiency of deferral periods were investigated. A statistical prognosis model was developed in order to predict individually varying minimum deferral periods.

The prospective part of this study assessed total body water as well as extracellular and intracellular water by bioimpedance spectroscopy - immediately before and 30 minutes after plasmapheresis (group TVN, n = 21) or immediately before and two days after plasmapheresis (group T2d, n = 20). Volume shifts were registered before and after apheresis. In order to identify volume shifts within the extracellular space and between extra- and intravascular compartments, plasma protein concentrations (including IgG, IgG subclasses, IgM and albumin) were assessed immediately before and after plasmapheresis. Dilution factors were calculated to determine the exchanged volumes. Since 80 to 90% of IgM is located intravascularly, the IgM dilution factor was used to calculate volume shifts between extra and intravascular compartments.

**Results.** Six percent of the donor population showed very low IgG-concentrations of less than 4,99 g/L. Levels of IgG and total protein were significantly lower after plasmapheresis when compared to levels at first donation ( $p < 0,0001$ ). Donors did not return to their baseline levels. Interestingly, recovery patterns of IgG and total protein levels showed wide interindividual variation, which has so far not been considered by current standard deferral intervals. The prognosis model established to estimate individually adjusted deferral intervals revealed that 44% (IgG) and 43% (total protein) of subjects withheld from apheresis, respectively, would have been able to donate prior to the expiry of their standard deferral interval (95% confidence interval). Measurements by impedance spectroscopy showed volume shifts within the extracellular space occurring as early as 30 minutes after donation with an average decrease of the extracellular space by 230 mL due to plasmapheresis. This shift could not be observed when assessed two days after plasmapheresis. Changes of impedance during plasmapheresis were able to characterize process-related volume shifts. All quantified protein levels decreased by a factor ranging between 1.15 (Albumin) and 1.19 (IgG<sub>3</sub>). A mean increase in intravascular volume of 80 mL resulted when the IgM-dilution factor of 1.16 and the NaCl and citrate volumes infused during apheresis were considered. This illustrated the volume shifts from the interstitium into the intravascular space. Immediately after plasmapheresis, an intravascular volume deficit of 334 mL was observed, which refers to only 1.7% of the extracellular liquid volume available for fast volume compensation.

**Conclusion.** When considering donor protection (identification of very low IgG-concentrations) and the efficiency of plasmapheresis (donor withdrawals), IgG- and total protein follow-up analyses should be stratified more individually. The prognostic model developed within this study is a first step towards this direction, yet it has to be confirmed in further studies and different donor populations (age, sex, weight, etc.), particularly regarding practicability. This is the first study which was able to prove and quantify volume shifts caused by plasmapheresis. Loss of intravascular volume is reduced due to fast and efficient volume shifts into the intravascular compartment, which is in agreement with the good experiences regarding the tolerance of larger plasma donation volumes.

## 2. Einleitung

Humanplasma ist neben seiner unmittelbaren klinischen Anwendung als gefrorenes Frischplasma ein erforderlicher Rohstoff zur Herstellung verschiedenster Arzneimittel. Mehr als 1 Mio. Menschen werden jährlich mit Medikamenten aus Humanplasma versorgt. Im Jahr 2010 wurden in Deutschland ca. 3 Mio. Liter, weltweit ca. 33 Mio. Liter Plasma zur Fraktionierung hergestellt (48, 64). Die Plasmagewinnung erfolgt entweder durch Zentrifugation aus Vollblut oder direkt maschinell im Rahmen einer Plasmaspende, der präparativen Plasmapherese. In Deutschland, wie auch weltweit, beträgt der Anteil der Plasmapherese an dem Gesamtvolumen von Plasma zur Fraktionierung über 50% (48, 64). Die Vorteile der Plasmapherese sind im Vergleich zur Vollblutspende kürzere Spendenintervalle und größere Entnahmeholumina bei gleichzeitig sehr guter Verträglichkeit.

Es herrscht ein globaler Wettbewerb um qualitativ hochwertiges Plasma, dessen Bereitstellung in den Händen und der Verantwortung der Spendedienste liegt. Die Spendenhäufigkeit wird durch den Willen des Spenders, die vorgeschriebenen zeitlichen Mindestabstände und durch temporäre Rückstellungen zum Spenderschutz bestimmt. Vor dem Hintergrund zunehmender Indikationen für aus Plasma gewonnene Arzneimittel und des demographischen Wandels gewinnt die Spenderbindung durch optimierte Rückstellungspraxis zunehmend an Bedeutung.

Die deutschen Richtlinien erlauben derzeit maximal 45 Spenden pro Jahr. Der Mindestabstand zwischen zwei Plasmapheresen beträgt mindestens zwei spendenfreie Kalendertage (8). Diese Vorgaben berücksichtigen die individuellen Voraussetzungen des Spenders nicht.

Ein häufiger Rückstellungsgrund von regelmäßigen Plasmaspendern sind spendenbedingt niedrige Immunglobulin G- und Gesamteiweiß-Konzentrationen im Serum (59). Die Richtlinien schreiben daher im Sinne des Spenderschutzes eine Kontrolle dieser beiden Parameter bei jeder 5. Spende vor (8). Unterschreitet der Spender die festgesetzten Grenzwerte, muss er so lange von weiteren Spenden ausgeschlossen werden, bis entsprechend erholte Serumkonzentrationen nachgewiesen werden. Mit diesem Kontrollregime können auch Spender, die bei mehreren Blutspendediensten gleichzeitig spenden, vor einer Gesundheitsschädigung geschützt werden. Es ist bekannt, dass sich die Motivation zur Spende und somit die Wahrscheinlichkeit einer Wiedervorstellung mit jeder Spenderrückstellung reduziert. Je länger die Rückstellung dauert, desto geringer ist die Wiederkehrate (73). Jede temporäre Spenderrückstellung, jede Spendervorstellung ohne Zulassung zur Spende tragen daher das Risiko eines Spenderverlustes. Auch unerwünschte Ereignisse der Plasmaspende haben großen Einfluss auf die Wiederkehrate der Spender. Trotz großer Spendenvolumina und kurzer Spendenintervalle ist die Verträglichkeit des Verfahrens im Allgemeinen sehr gut. Es

ist jedoch wenig bekannt über Zeitpunkt, Ausmaß und Ablauf der physiologischen Kompensationsmechanismen während und unmittelbar nach einer Plasmapherese. Die zunehmende Intensivierung des Verfahrens in den letzten 10 Jahren ist geprägt von größeren Spendemengen und kürzeren Spendenintervallen. Eine Optimierung des Spenderschutzes und eine verbesserte Kenntnis der physiologischen Prozesse im Rahmen der Spende, besonders im Hinblick auf die Nebenwirkungen, sind daher dringend erforderlich.

## **2.1. Die Plasmapherese**

Der Begriff der Apherese leitet sich aus dem Griechischen ab und bedeutet „wegnehmen“ (gr. ἀφαιρέσις - *aphairesis*). Je nach Zielprodukt werden die einzelnen Verfahren als Erythrozytapherese, Thrombozytapherese, Granulozytapherese, Leukozytapherese oder Plasmapherese bezeichnet.

Die präparative Plasmapherese gewinnt Plasma direkt aus der Blutzirkulation eines Spenders. Sie liefert sowohl Plasma zur Transfusion als auch zur Arzneimittelherstellung. Im Rahmen der Gewinnung von Plasma zur Fraktionierung wird sie jährlich mehr als 30 Mio. Mal durchgeführt (64).

### **2.1.1. Richtlinien**

In Deutschland sind Blutprodukte Arzneimittel im Sinne von § 2 Abs. 1 Arzneimittelgesetz (AMG) in Verbindung mit § 2 Nr. 3 Transfusionsgesetz (TFG) und unterliegen den Vorschriften des Arzneimittelrechts. In Deutschland wird die Herstellung von Blutprodukten gemäß §§ 12a und 18 TFG durch die Richtlinien der Bundesärztekammer im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich Institut geregelt (8). Sie soll auf aktuellem Stand von Wissenschaft und Technik neben Vorgaben zu Herstellung, Lagerung, Transport und Inverkehrbringen der Spenden auch Vorgaben zu Spendentauglichkeit und Spenderschutz enthalten. Auf europäischer Ebene stellt die Richtlinie 2002/98/EC das entsprechende internationale Werk dar.

Die Spendedienste tragen im Rahmen der Spenderzulassung eine große Verantwortung für den Spenderschutz und für die Herstellung eines sicheren und qualitativ hochwertigen Plasmas. Die gültigen nationalen Richtlinien dienen den Mitarbeitern dabei als verpflichtende Entscheidungsgrundlage. Alle Anforderungen an eine positive Bewertung der Spendentauglichkeit hinsichtlich allgemeiner Gesundheitskriterien und Risikobewertung müssen erfüllt werden.

#### Spendenanzahl

Innerhalb von 12 Monaten dürfen bis zu 45 Plasmapheresen in einem Abstand von mindestens zwei spendenfreien Kalendertagen geleistet werden. Zusätzlich geleistete andere Spendenarten reduzieren die Anzahl der zugelassenen Plasmaspenden auf eine Gesamtspendenanzahl von 45 Spenden pro Jahr. Diese maximal zugelassene Spendenanzahl er-

laubt je nach Körpergewicht ein Spendenvolumen von maximal 38,25 L inklusive Antikoagulans pro Jahr. Die Richtlinien aus dem Jahr 2005 begrenzten das Spendenvolumen noch auf 28,5 L pro Jahr (6).

### Spendenvolumen

Die maximal zugelassene Spendenmenge pro Apherese wird in Abhängigkeit vom Körpergewicht festgelegt. Ihr Festlegungsregime wurde im Rahmen von Richtliniennovellierungen mehrfach modifiziert. War die maximale Spendemenge im Jahr 2000 noch auf 650 mL zuzüglich Antikoagulans bei einem extrakorporalen Prozessvolumen von maximal 15% des Intravasalvolumens festgesetzt, so wurde sie im Jahr 2005 in Abhängigkeit von Körpergewicht und Geschlecht auf 750 mL bzw. 850mL erhöht (5, 6). 2010 folgte mit Ergänzung der 650 mL-Spendemenge eine feinere Differenzierung der körpergewichtsabhängigen Spendenmenge. Spender dürfen nun bis zu einem Körpergewicht von 60 kg maximal 650 mL, bis zu einem Körpergewicht von 80 kg maximal 750 mL und bei einem Körpergewicht von mehr als 80 kg maximal 850 mL spenden. Das Mindestkörpergewicht für ein Entnahmenvolumen von 850 mL inklusive Antikoagulans wurde im Vergleich zu 2005 deutlich reduziert. Es konnte gezeigt werden, dass auch große Spendemengen bei Dauerspendern neben einer sehr guten Verträglichkeit den Verlauf spendespezifischer Laborparameter nicht negativ beeinflussen. Kardiovaskuläre Risikofaktoren und Marker der zellulären und humoralen Immunfunktion verschlechterten sich nicht (59, 67).

### Extrakorporalvolumen

Das Blutvolumen, das sich zu einem bestimmten Zeitpunkt während der Apherese außerhalb der Zirkulation des Spenders befindet, wird als extrakorporales Volumen (ECV) bezeichnet. Es setzt sich aus bereits gespendetem Plasmavolumen und im Apheresesystem befindlichen Blutvolumen zusammen. Verfahrensbedingt ist das ECV vor der letzten Rückgabe der zellulären Blutbestandteile bei bereits vollständig gesammelter Plasmaspendemenge am höchsten. Die Richtlinien aus dem Jahr 2000 schrieben eine Begrenzung des ECV auf maximal 15% des Intravasalvolumens vor (5). Es gibt jedoch keine Messmöglichkeiten für das ECV während der Apherese. Eine Studie aus dem Jahr 2003 deckte auf, dass ein ECV von 15% bei 90% der Frauen und 60% der Männer überschritten wurde. Die Wahrscheinlichkeit einer hypovolämischen Nebenwirkung stieg hierdurch jedoch nicht (28). Vermehrte Nebenwirkungsraten konnten erst bei einem ECV von > 20% des Gesamtblutvolumens beobachtet werden (29). Schließlich wurde das ECV als fester Bestandteil der Kalkulation des zugelassenen Spendevolumens in Deutschland im Jahr 2000 wieder aus den Richtlinien entfernt. In einigen internationalen Richtlinien (England, USA) hat es allerdings heute noch Bedeutung (26, 68).

Die Entwicklung der Richtlinien Hämotherapie während der vergangenen 10 Jahre stellt eine deutliche Intensivierung der Plasmapherese hinsichtlich Spendevolumen, Spendeintervall und Spendehäufigkeit dar. Sie erfordert daher im Rahmen des Spenderschutzes eine strenge Überwachung des Spenders bei möglichst individueller ärztlicher Betreuung.

### Überwachung des Eiweißhaushaltes

Schon lange ist bekannt, dass der Verlust von Plasmaproteinen und die individuelle Regenerationsfähigkeit des Spenders wichtige limitierende Faktoren der Plasmapherese darstellen (18, 35, 61). Der Überwachung des Eiweißhaushaltes kommt eine große Bedeutung im Rahmen des Spenderschutzes zu. Die von 1999 bis 2003 durchgeführte SIPLA-Studie belegte die Sicherheit einer gegenüber den damals gültigen Richtlinien deutlich intensivierten Plasmapherese unter engmaschiger Überwachung der Proteinkonzentrationen (59). Bis zur Novellierung der Richtlinien im Jahr 2005, vor dem Vorliegen der Ergebnisse der SIPLA Studie, lag das Kontrollintervall für IgG noch bei jeder 15. Spende. Heute erfolgt die Kontrolle des Eiweißhaushaltes dagegen bei jeder ersten und mindestens jeder weiteren fünften Plasmaspende mit der Bestimmung der IgG- und GEW-Serumkonzentrationen. Die IgG-Konzentration im Serum muss mindestens 6,0 g/L betragen, die GEW-Konzentration im Serum mindestens 60,0 g/L. Die kurzen Überwachungsintervalle ermöglichen ein frühzeitiges Erkennen abfallender Plasmaspiegel und somit eine rechtzeitige Adaption der Spendenintervalle und des Spendenvolumens. Werden die vorgegebenen Grenzwerte unterschritten, erfolgt eine temporäre Rückstellung des Spenders von weiteren Plasmapheresen. Der Spender darf erst bei ausreichend hohen IgG- und GEW-Konzentrationen wieder zur Spende zugelassen werden. Die aktuell gültigen Richtlinien legen nicht fest, wie lange der Spender zurückgestellt werden muss. Die Spendedienste müssen die erforderliche Rückstellungszeit daher ohne Kenntnis der individuellen Voraussetzungen und nicht evidenzbasiert schätzen. Zurzeit werden beispielsweise pauschale Rückstellungen von mindestens 21 Tagen (IgG) bzw. mindestens 14 Tagen (GEW) unabhängig von der zur Rückstellung führenden Plasmakonzentration angewendet. Auf Grund der individuellen Regenerationsfähigkeit stellen sich Spender häufig zu früh zu einer weiteren Spende vor. Die zu kurze Rückstellungsdauer ermöglichte keine ausreichende Regeneration. Andererseits gibt es Spender, deren Kontrollwerte nach abgelaufener Sperrfrist bereits im hochnormalen Bereich liegen. Sie hätten bereits früher wieder zur Spende zugelassen werden dürfen. Eine zuverlässige und individuelle, die physiologischen Voraussetzungen berücksichtigende Schätzung dieses Zielzeitpunktes hätte positiven Einfluss auf Spenderbindung, Spendersicherheit und Produktqualität. Es gilt zu überlegen, Spender mit sehr niedrigen Werten und langer Erholungsphase im Sinne des Spenderschutzes dauerhaft von der Plasmaspende auszuschließen. Für Erstspender mit niedrigen Eiweißkonzentrationen könnten längere Spendeintervalle günstig sein. Die Ar-

beitsgemeinschaft Präparative Plasmapherese der DGTI Sektion Präparative und Therapeutische Plasmapherese (Sektion 3) hat in ihrer gutachterlichen Stellungnahme aus dem Jahr 2007 bereits eine entsprechende Verfahrensanweisung für die Kalkulation der Sperrdauer gefordert (14).

### Richtlinien im internationalen Vergleich

Die Verfügbarkeit zuverlässiger Plasmaspender wird insbesondere in den hochentwickelten Ländern neben strengen Ausschlusskriterien durch eine schrumpfende und alternde Bevölkerung begrenzt. Zusätzlich erschweren fest vorgeschriebene Spendemengen pro Apherese und Jahr die regionale Selbstversorgung. Befürchtungen, große Entnahmehäufigkeiten könnten eine bisher unerkannte Spendergefährdung mit sich bringen, führten zu großen internationalen Unterschieden in der Festlegung von Spendemenge, Spendehäufigkeit und Mindestspendeabstand. Auch die Kontrolle des Eiweißhaushaltes gestaltet sich hinsichtlich herangezogener Parameter (IgG, GEW, Albumin), Kontrollabstände und Grenzwerte nicht einheitlich.

In den englischen Richtlinien sind das extrakorporale Volumen (max. 15% des Gesamtblutvolumens) und das Gesamtblutvolumen Bestandteil der Festlegung der maximalen Spendemenge (26). Es stehen auf Schätzungen beruhende, geschlechtsspezifische Nomogramme dieser beiden Größen zur Verfügung. In Deutschland, Österreich und den USA hingegen erfolgt die Festlegung der pro Verfahren zugelassenen Spendemenge körpergewichtsadaptiert. Während die österreichische Richtlinie die Spendemenge auf maximal 1% des Körpergewichts begrenzt, werden die Spender in den USA und Deutschland in drei Körpergewichtsklassen eingeteilt. Zugelassen sind Spendemengen von 690 - 880 mL (USA), bzw. 650 - 850 mL (Deutschland) inklusive Antikoagulans.

Auch der Mindestspendeabstand zwischen zwei Plasmapheresen (je nach Richtlinie 24h – 72h) und die pro Zeiteinheit zugelassene Spendenanzahl (je nach Richtlinie 24 – 104 Spenden p.a.) unterscheiden sich auf internationaler Ebene. Während einige Richtlinien zusätzlich ein konkretes maximales jährliches Spendevolumen benennen, ergibt sich in anderen Richtlinien die jährliche Spendemenge indirekt aus Spendenanzahl und Spendenvolumen. Mit jährlich 91,5 Litern dürfen Spender mit einem Körpergewicht ab 80 kg in den USA nahezu die 2,5fache Menge eines Spenders gleichen Körpergewichts in Deutschland spenden. Die jahrzehntelange Erfahrung der USA mit langfristig großen Spendevolumina konnte zeigen, dass das Risiko ernster klinischer Komplikationen im Rahmen dieser intensivierten Plasmapherese nicht erhöht ist (51, 52).

International werden für die Überwachung des Eiweißhaushaltes von Plasmaspendern unterschiedliche Parameter (Albumin, IgG, GEW) herangezogen. Weder die Auswahl der Grenzwerte noch deren Kontrollregime sind einheitlich. Einige Länderrichtlinien enthalten

keine Grenzkonzentrationen für die Beurteilung der Spendefähigkeit (England, Österreich). In den USA ist eine Plasmaspendemenge von 14,4 L für Spender mit einem Körpergewicht von mehr als 80 kg pro Jahr ohne Überwachung des Eiweißhaushaltes möglich. Bis zu über 90 L pro Jahr sind unter regelmäßiger Eiweißkontrolle zugelassen. Die österreichischen Richtlinien fallen durch die Bestimmung von IgG und GEW bei jeder Plasmapherese auf (47). Keine Länderrichtlinie enthält Vorschriften über die Rückstellungsdauer bei erniedrigten Eiweißkonzentrationen. Die Rückstellung dient der Regeneration der Plasmaproteine des Spenders und sollte so lange wie nötig, jedoch so kurz wie möglich ausfallen. Maßnahmen zur Abschätzung der notwendigen Erholungsdauer sind in keiner der Richtlinien zu finden. Studien, die ein evidenzbasiertes Handeln in Bezug auf die Rückstellungsdauer ermöglichen, liegen derzeit nicht vor.

### **2.1.2. Unerwünschte Ereignisse der Plasmapherese**

Die Plasmapherese wird auch bei großen Entnahmemengen und kurzen Spendeabständen gut vertragen (59, 67). Unerwünschte Ereignisse können jedoch auftreten und die Wiederkehrtrate der Spender beeinflussen. Eine professionelle Betreuung des Spenders erfordert Kenntnis von Ursache und bestmöglicher Therapie. Nur ein Spender, der sich professionell betreut fühlt, leistet auch nach einem erlebten unerwünschten Ereignis weitere Spenden.

Lokale Nebenwirkungen treten im Zusammenhang mit der Venenpunktion oder einer ungünstigen intravaskulären Kanülenposition auf. Hämatome, Schmerzen, Schwellungen und Rötungen sind die häufigsten Beschwerden (12, 42). Vasovagale Dysregulationen auf Grund akuter Emotionen wie Schmerz und Angst sind die häufigsten systemischen Nebenwirkungen (13). Sie treten häufig bereits kurz nach Beginn der Spende bei noch geringem Volumenverlust auf.

Während der Plasmapherese wird Natriumzitrat als Antikoagulans in das extrakorporale System infundiert und vermischt sich dort mit dem Spenderblut. In der Phase der Rückgabe erhält der Spender somit zittrathaltige Blutbestandteile zurück. Der Chelatbildner senkt die Konzentration des ionisierten freien Kalziums im Blut mit der Folge einer temporären Hypokalzämie. Zitratreaktionen treten mit einer Häufigkeit von 0,38% auf (13).

Der Volumenverlust kann zu einer Hypovolämie führen (29). Sie äußert sich in einer reduzierten kardialen Vorlast, einer Abnahme des Schlagvolumens und des thorakalen Blutvolumens. Der hypovolämische Reiz führt zu einem Anstieg der Herzfrequenz und einer peripheren Vasokonstriktion (57). Das ECV während der Spende korreliert mit dem Ausmaß der hämodynamischen Antwort, nicht jedoch mit den Parametern der hypovolämischen Belastung (29). Auch neurohumorale Mechanismen, die sich in einem Abfall des Atrial Natriuretischen Peptids (ANP) im Verlauf der Plasmapherese äußern, unterstützen die Aufrechterhaltung der kardiovaskulären Homöostase (30). Die reduzierte Vorhofdehnung im Rahmen der reduzierten Vorlast stellt den entscheidenden Stimulus für die Freisetzung von ANP aus den Kardiomyozyten dar (15). Die geringe Anzahl rein hypovolämisch bedingter Nebenwirkungen belegt die hohe Effektivität der beschriebenen Mechanismen (29).

### **2.1.3. Plasmaderivate**

Ende des Jahres 1891 gelang es Emil von Behring, zwei an Diphtherie erkrankte Kinder mit Hilfe eines Gegengiftes auf der Basis von Schafserum zu heilen. Später verwendete er die  $\gamma$ -Globulinfraktion von immunisierten Tieren zur Arzneimittelherstellung. Die Idee eines gezielten Einsatzes von Blutkomponenten und Blutproteinen zu therapeutischen Zwecken war geschaffen. Sowohl eine nun mögliche ökonomische Nutzung des Blutes als auch Sicherheit, Verträglichkeit und Wirkung der Komponententherapie überzeugten schnell.

Die Isolierung von therapeutischen Proteinen aus Blutplasma wird als Plasmafraktionierung bezeichnet und umfasst deren Auftrennung und Reinigung zu konzentrierten Wirkstoffen. 1941 gelang Edwin Joseph Cohn erstmals die Isolierung von Albumin aus Blutplasma. Im Jahr 2010 betrug der Immunglobulin-Verbrauch in Deutschland 2,7 Tonnen. Bereits bewährte Indikationen zu einer Therapie mit Plasmaderivaten werden ergänzt von immer neuen Entwicklungen (u.a. intravenöse Immunglobuline bei Alzheimer-Erkrankung) und formen einen global wachsenden Markt.

#### **2.1.4. Der Plasmamarkt**

Humanplasma ist ein weltweit gehandelter Rohstoff für die Arzneimittelherstellung. Die Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen verteilt sich in Deutschland auf drei Säulen,

- das Deutsche Rote Kreuz,
- die staatlich-kommunalen und universitären Blutspendedienste sowie die Bundeswehr,
- private Spendedienste inkl. Plasmaphereseeinrichtungen der pharmazeutischen Industrie.

Im Jahr 2010 lag der Anteil der privaten Spendedienste bei der Gewinnung von Plasma zur Fraktionierung bei über 60%. Im Jahr 2010 wurden in Deutschland 2,4 Mio. Plasmapheresen und 4,9 Mio. Vollblutspenden durchgeführt. Es konnten 2,9 Mio. L Plasma zur Fraktionierung gewonnen werden. Das Aphereseplasma leistete dabei einen Anteil von ca. 63%. Der Anteil des vom Hersteller verworfenen Plasmas lag bei nur 0,007% des hergestellten Volumens. In den letzten 10 Jahren zeigte sich mit Ausnahme des Jahres 2004 eine stetige Zunahme des Exports in die nicht-europäische Wirtschaftszone. Er konnte sich seit dem Jahr 2001 um das mehr als 45fache steigern (48). Die intensive internationale Vernetzung des Plasmamarktes erfordert in der Spenderzulassung und Spenderführung ein standardisiertes, evidenzbasiertes Vorgehen.

## **2.2. Plasmaproteine**

Die Gesamteiweißkonzentration des Plasmas wird von mehr als 100 Einzelproteinen gebildet, deren Struktur bekannt ist. Von ca. 50 Proteinen ist auch die biologische Funktion bekannt (65). Der Begriff Plasmaproteine bezeichnet alle Eiweißstoffe des Blutplasmas und der interstitiellen Flüssigkeit, darunter Immunglobuline, Komponenten des Gerinnungssystems, Proteaseinhibitoren und Transportproteine. Sie verteilen sich in Abhängigkeit von Molekulargewicht, elektrischer Ladung, Transportmöglichkeiten und weiteren physikochemischen und pharmakokinetischen Eigenschaften auf Interstitium und Plasma. Neben Synthese, Katabolismus und Verlust bestimmt auch die Verteilung in den Flüssigkeitsräumen die Plasmakonzentration eines Proteins.

### 2.2.1 Immunglobulin G

Zur ständigen Abwehr von potentiellen Krankheitserregern und Toxinen verfügt der Organismus über eine angeborene und eine adaptive Immunität. Die humanen Immunglobuline mit ihren 5 Klassen A, D, E, G und M stellen als Antikörper einen wesentlichen Bestandteil der adaptiven humoralen Immunantwort dar (63). Sie finden sich im Blutplasma, der interstitiellen Flüssigkeit, auf der Zellmembran diverser Zellen, vor allem der B-Lymphozyten, und in Sekretionsprodukten. Mit ca. 75 % stellt das IgG den überwiegenden Anteil der Immunglobuline im Plasma dar (25).

Alle Immunglobuline sind Glykoproteine, unterscheiden sich jedoch grundlegend in Funktion, Größe, Aminosäurezusammensetzung, Ladung und Serumkonzentration.

#### Struktur

Gerald Edelman und Rodney Porter erarbeiteten in den frühen 1960er Jahren als Erste die Grundstruktur der Immunglobuline. Sie wurden 1972 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet. Das charakteristische symmetrische, Y-förmige Grundgerüst eines IgG-Moleküls wird von vier Polypeptidketten gebildet, zwei identischen leichten L-Ketten und zwei identischen schweren H-Ketten. Die leichten Ketten bestehen aus jeweils einer variablen ( $V_L$ ) und einer konstanten Domäne ( $C_L$ ). Die schweren Ketten besitzen je nach Hauptklassenzugehörigkeit eine variable und drei (IgG, IgA) bzw. vier (IgM, IgE) konstante Domänen. Über kovalente Disulfidbrücken sind je eine schwere und eine leichte Kette, sowie die beiden schweren Ketten miteinander verbunden. Innerhalb einer Kette stabilisieren Disulfidbrücken die globuläre Struktur der einzelnen Domänen. Das Ig-Molekül besitzt ein von den beiden schweren Ketten gebildetes carboxyterminales und ein von beiden schweren und leichten Ketten gebildetes aminoternales Ende.

Die leichten Ketten werden in zwei verschiedene Typen (Kappa und Lambda) unterschieden, von denen jedes Antikörpermolekül immer nur eine besitzt. Die schweren Ketten  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$ , und  $\mu$  bestimmen die Zugehörigkeit des Immunglobulins zu seiner Hauptklasse IgA, IgD, IgE, IgG oder IgM. Bedingt durch Unterschiede in der Struktur der beiden schweren Ketten werden beim Menschen vier IgG-Subklassen unterschieden, die als IgG<sub>1</sub> bis IgG<sub>4</sub> bezeichnet werden (23). Sie tragen unterschiedliche Funktionen und biologische Eigenschaften (Tabelle 1). Die Serumkonzentrationen der einzelnen Subklassen verhalten sich wie folgt: IgG<sub>1</sub> > IgG<sub>2</sub> > IgG<sub>3</sub> > IgG<sub>4</sub> (17, 60). Das IgG<sub>1</sub> stellt mit einem Anteil von ca. 65 % den größten Anteil der Antikörper im menschlichen Blut dar. Mit ca. 23% stellt das IgG<sub>2</sub> den zweitgrößten Anteil der zirkulierenden IgG-Antikörper. IgG<sub>3</sub> fällt durch seine im Vergleich zu den Subklassen 1, 2 und 4 (20 bis 21 Tage) deutlich kürzere Halbwertszeit von sieben Tagen auf. Bedingt durch seine lange Hinge-Region besitzt es mit 165 kDa das größte Moleku-

largewicht der vier Subklassen (24). IgG<sub>4</sub> tragen mit ca. 4% den geringsten Anteil am Gesamt-IgG.

Immunglobuline sind Glykoproteine. IgG-Moleküle, die auf Grund einer Mutation der Aminosäuresequenz keinen Kohlenhydratanteil mehr besitzen, können nur sehr eingeschränkt oder gar nicht an Fc<sub>γ</sub>-Rezeptoren binden (45, 58). Die Glykosylierung schützt die im Blut zirkulierenden Antikörper vor dem proteolytischen Abbau.

**Tabelle 1: IgG-Subklassen Eigenschaften**

	<b>IgG<sub>1</sub></b>	<b>IgG<sub>2</sub></b>	<b>IgG<sub>3</sub></b>	<b>IgG<sub>4</sub></b>
<b>Anteil am Gesamt-IgG [%]</b>	65	23	8	4
<b>Molekulargewicht [kDa]</b>	146	146	165	146
<b>Serumkonzentration [g/L]</b>	5,0 – 11,4	1,5 – 6,4	0,2 – 1,1	0,08 – 1,4
<b>Halbwertszeit [Tage]</b>	21	20	7	21
<b>Membranpassage</b>	+	(+)	+	+
<b>Fc-Rezeptor</b>	Fc <sub>γ</sub> RI Fc <sub>γ</sub> RII Fc <sub>γ</sub> RIII	Fc <sub>γ</sub> RII	Fc <sub>γ</sub> RI Fc <sub>γ</sub> RII Fc <sub>γ</sub> RIII	Fc <sub>γ</sub> RI

modifiziert nach (53), (31) und (19)

### IgG-Synthese

Aus pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks entstehen gemeinsame lymphatische Vorläuferzellen, die sich in den primären lymphatischen Organen weiter zu B-Lymphozyten (Knochenmark), bzw. T-Lymphozyten (Thymus) differenzieren. Von hier aus gelangen sie über den Blutstrom in die sekundären lymphatischen Organe. Als naive Lymphozyten patrouillieren sie solange zwischen Blut und sekundären lymphatischen Organen, bis sie auf ein spezifisches Antigen treffen. Die Lymphozyten wandern dabei ausgehend vom Lymphknoten über das *Vas efferens* in die Lymphbahnen und den *Ductus thoracicus* in den venösen Kreislauf. Über den arteriellen Schenkel des Kreislaufs gelangen sie wieder in die Lymphknoten zurück. Begegnen die Lymphozyten nun im Lymphknoten ihrem dort, beispielsweise von dendritischen Zellen präsentierten, spezifischen Antigen, kommt es zu einer Zellaktivierung. T-Lymphozyten, die auf ein Antigen treffen, proliferieren und differenzieren dabei zu antigenspezifischen Effektorzellen. B-Lymphozyten, die auf ein Antigen treffen, proliferieren und differenzieren hingegen zu antikörperproduzierenden Plasmazellen.

Jeder B-Lymphozyt trägt auf seiner Oberfläche Immunglobuline von einer einzigen, bestimmten Spezifität, die als Rezeptoren wirken und nur ihr entsprechendes Antigen binden. Trifft ein B-Lymphozyt auf sein passendes Antigen, kommt es zur Proliferation dieser Zelle und es entsteht ein B-Zell Klon. Durch Differenzierung entstehen daraus Plasmazellen, die Immunglobuline mit genau dieser Spezifität sezernieren. Die Immunglobuline kommen in der Inter-

stitialflüssigkeit von Geweben vor, in denen sich antikörperproduzierende B-Zellen befinden. Als frei zirkulierende Antikörper befinden sie sich hauptsächlich im Blutplasma.

### Funktion

Immunglobuline kommen sowohl auf Zelloberflächen als Transmembranrezeptoren als auch im Plasma gelöst als Antikörper vor. Sie erkennen Antigene mit hoher Spezifität und lösen Effektormechanismen zur Elimination des identifizierten Antigens aus. Zu den Effektormechanismen gehören Komplementaktivierung, Opsonierung, Neutralisierung und Antikörpervermittelte zelluläre Zytotoxizität (ADCC). Die Fc-Rezeptoren auf der Zelloberflächen der Effektorzelle bilden die Schnittstelle zwischen spezifischer adaptiver (humoraler) Immunantwort und unspezifischer angeborener (zellulärer) Immunantwort. Alle fünf Antikörperklassen besitzen spezifische Rezeptoren. Für das IgG lassen sich beim Menschen strukturell die drei Gruppen Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII und Fc $\gamma$ RIII mit den Isoformen Fc $\gamma$ RII a-c und Fc $\gamma$ RIII a-b unterscheiden.

### Metabolismus

Der menschliche Körper enthält ca. 1 g IgG pro kg Körpergewicht. Fast 50% dieser Menge befindet sich intravaskulär (71). Die Serumkonzentration wird bestimmt von Syntheserate, Katabolisierungsrate und Halbwertszeit. Sie ist gekennzeichnet durch eine sehr große interindividuelle Varianz, die durch den großen Referenzbereich von 7 g/L bis 16 g/L widerspiegelt wird (65). Nach postnatalem Abfall des mütterlichen IgG im Serum des Neugeborenen und einsetzender eigener Produktion erreicht die Serumkonzentration ab dem 16. Lebensjahr das Erwachsenenenniveau. Sie verweilt konstant auf individuellem Level, um schließlich im hohen Alter noch einmal anzusteigen (21). Die IgG-Syntheserate beträgt beim Erwachsenen ca. 30 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Mehr als 6% des intravaskulären IgG Bestands werden täglich katabolisiert. Die IgG Subklassen 1, 2 und 4 weisen mit 21 - 23 Tagen die höchste HWZ aller Plasmaproteine auf (25). Die Halbwertszeit des IgG<sub>3</sub>, des IgG-Moleküls mit der längsten Gelenkregion, liegt mit 7-8 Tagen deutlich darunter. Die Syntheserate wird neben dem antigenen Potential eines vorhandenen immunogenen Stimulus auch von Hormonstatus, genetischen Faktoren und aktueller IgG-Serumkonzentration beeinflusst. Bereits Ende der 1950er Jahre konnte gezeigt werden, dass das Gefäßendothel der Ort des IgG Katabolismus ist (41). Die Katabolisierungsrate wird ebenso wie die Halbwertszeit von der Serumkonzentration gesteuert: Je niedriger die Serumkonzentration, desto geringer die Katabolisierungsrate und desto länger die Halbwertszeit (Abbildung 1) (4, 20). Bei sehr hohen Serumkonzentrationen kann sich die Katabolisierungsrate verdreifachen (71). Bei sehr niedrigen Konzentrationen können Halbwertszeiten von bis zu 70 Tagen erreicht werden.

Abbildung 1: Beziehung zwischen IgG-Serumkonzentration und IgG-Halbwertszeit

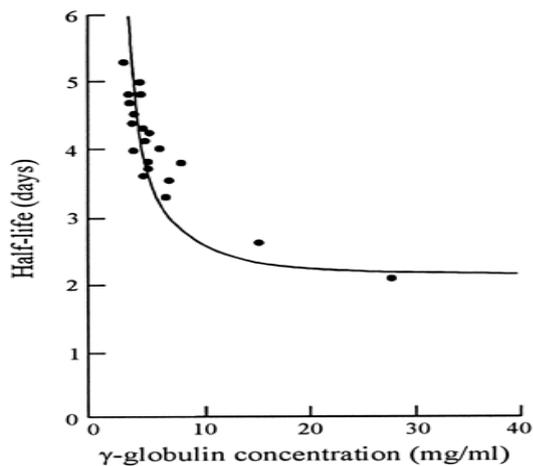


Abbildung entnommen aus (4)

Diese Anpassungsfähigkeit mit dem Ziel eines konstanten Serumspiegels und die längste Halbwertszeit aller Plasmaproteine ermöglicht der zur Familie der MHC-Klasse-1 Moleküle gehörende intrazelluläre neonatale Fc-Rezeptor FcRn (62). Er konnte bisher in Monozyten, Makrophagen, Dendritischen Zellen, Endothel- und Epithelzellen nachgewiesen werden (36). Er vermittelt ein Recycling-Verfahren, das IgG Moleküle vor dem lysosomalen Abbau schützt. Nach Pinozytose wird das IgG Molekül im sauren Milieu der frühen Endosomen streng pH-abhängig an den FcRn-Rezeptor gebunden (50), vom restlichen Endosomeninhalt separiert und über sekretorische Vesikel zur Zellmembran zurückgeleitet. Dort kommt es entweder zu einer kompletten oder partiellen Fusion des Vesikels mit der Zellmembran. Der Inhalt wird frei. Ein neutraler pH-Wert führt zur Dissoziation des IgG-FcRn Komplexes in den Extrazellarraum (38) (Abbildung 2). Diese Möglichkeit des Molekül-Recyclings könnte die Anzahl der antikörperproduzierenden Plasmazellen reduzieren, die für die Aufrechterhaltung einer konstanten, adäquaten Schutz vor Infektionen bietenden IgG-Konzentration erforderlich sind (27). Schon seit den frühen 1950er Jahren besteht anhaltender Verdacht, dass die IgG-Konzentration auch die IgG-Produktion beeinflussen könnte (10). Bis heute fehlen allerdings Nachweise eines von der Plasmakonzentration ausgehenden immunregulierenden Feedbacks (27).

**Abbildung 2: Der Mechanismus des IgG-Recyclings**

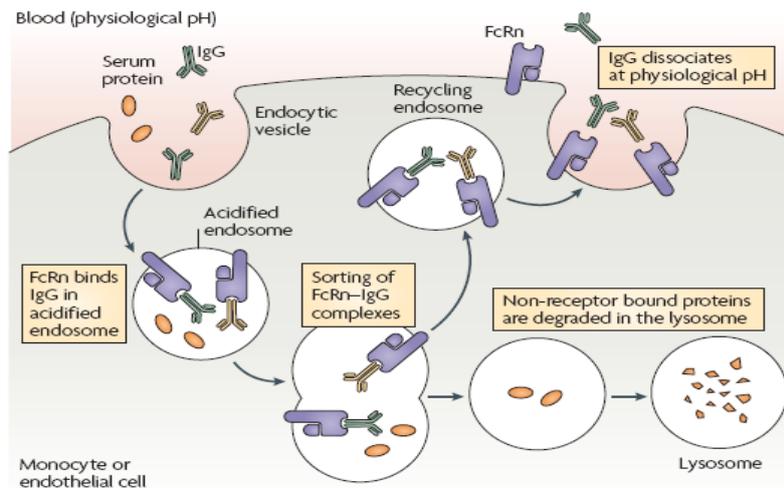


Abbildung entnommen aus (54)

### 2.2.2. Immunglobulin M

IgM ist das Immunglobulin der primären Immunantwort. Seine Aufgabe besteht in der Antigenagglutination und Komplementaktivierung. IgM Antikörper erkennen repetitive Epitope auf Antigenen. Auf der Oberfläche von reifen B-Zellen wird IgM als Teil des B-Zell-Rezeptor-Komplexes exprimiert. Des Weiteren fungiert IgM als Oberflächenrezeptor auf B-Lymphozyten. IgM Molekülen fehlt die Hinge-Region. Sie enthalten dafür eine zusätzliche konstante Domäne in der schweren Kette. IgM hat ein Molekulargewicht von 970 kD und liegt im Serum größtenteils als Pentamer vor. Die sog. J-Kette unterstützt die Polymerisation als zusätzliches Polypeptid. 80-90% des IgM befinden sich intravaskulär (55). Durch seine Größe gelangt IgM nur schlecht aus den Gefäßen in den interstitiellen Raum. IgM kann die Plazentaschranke nicht passieren. Die Katabolisierung von IgM verhält sich unabhängig von der Serumkonzentration.

### 2.2.3. Albumin

Zu den wichtigsten Funktionen des Albumins zählen die Aufrechterhaltung des intravaskulären onkotischen Drucks und der Transport exogener und endogener Substanzen. Albumin ist mit einer Serumkonzentration von 35-53 g/L das quantitativ bedeutsamste Plasmaprotein. Im interstitiellen Raum liegt seine Konzentration bei 14 g/L (40). Es hat ein Molekulargewicht von 66 kD und gehört damit zu den kleineren Plasmaproteinen (Vgl. IgG<sub>1</sub> 146 kD). Die Halbwertszeit beträgt 19 Tage. 10% des Albumin-Gesamtbestands werden täglich metabolisiert (43). 150 - 250 mg Albumin/kg Körpergewicht werden täglich ausschließlich in der Leber synthetisiert (65). Es gelangt über die Lebervene in den Kreislauf, von dort aus über das Interstitium und das Lymphsystem wieder zurück in die Zirkulation. Es gibt kein Speichervor-

kommen. Als regulierende Faktoren für die Albuminsynthese gelten der kolloidosmotische Druck und die extravasale Osmolalität in der Leber. Der Katabolismus erfolgt in der Niere über Pinozytose in den Kapillarendothelien, ohne dass der Mechanismus vollständig aufgeklärt ist. Ein Verlust nach außen (Nephrotisches Syndrom, Verbrennungen, Plasmapherese) führt zu einer gesteigerten Syntheserate. Der bereits für das IgG beschriebene Serumkonzentration-Katabolismus-Effekt mittels FcRn trifft auch für Albumin zu (20). Halbwertszeit und Serumkonzentration verhalten sich entsprechend umgekehrt proportional. Es konnte gezeigt werden, dass die in der Leber synthetisierte Menge der systemisch abgebauten Menge entspricht (32). Albumin liegt zu 60% extravasal, der größte Teil davon in Haut und Muskulatur, und zu 40% intravasal vor (40). Die Gleichgewichtseinstellung zwischen den Kompartimenten erfolgt in Abhängigkeit von der Kapillarpermeabilität.

### **2.3. Flüssigkeitskompartimente und Stoffaustausch**

Ca. 60% des Körpergewichts des erwachsenen Menschen sind Wasser. Die Gesamtkörperflüssigkeit verteilt sich auf zwei Areale, den intrazellulären und den extrazellulären Raum. Bei einem Erwachsenen mit einem Körpergewicht von 70 kg beträgt sie ca. 40 L.

#### Intrazelluläres Kompartiment

Im intrazellulären Kompartiment befinden sich zwei Drittel des Gesamtkörperwassers. Es macht ca. 40% des Gesamtkörpergewichts aus. Ein Erwachsener mit einem Körpergewicht von 70 kg besitzt etwa 25 L intrazelluläre Flüssigkeit. Die intrazelluläre Flüssigkeit weist einen Proteingehalt von ca. 6 mmol/L auf.

#### Extrazelluläres Kompartiment

Ein Drittel des Gesamtkörperwassers befindet sich im extrazellulären Kompartiment, was ca. 20% des Gesamtkörpergewichts ausmacht. Das extrazelluläre Kompartiment wird weiter in den intravasalen, den interstitiellen und den transzellulären Raum differenziert, wobei der transzelluläre Raum nur bei pathologischen Veränderungen von Bedeutung ist. Der überwiegende Anteil der extrazellulären Flüssigkeit befindet sich im Interstitium (16%). Lediglich 4% des extrazellulären Wassers befinden sich im Intravasalraum. Überschüssiges Wasser wird als Überwässerung (OH) bezeichnet und befindet sich nahezu ausschließlich im extrazellulären Volumen. Der Proteingehalt des extrazellulären Wassers liegt mit 1 mmol/L (intravasales Wasser), bzw. < 1 mmol/L (interstitielles Wasser) deutlich unter dem des intrazellulären Wassers (6 mmol/L) (1). Einem Stoffaustausch zwischen den Kompartimenten stehen Zellmembranen und Gefäßwände als Barriere entgegen. Der größte Anteil des Stoffaustauschs zwischen Zirkulation und Interstitium erfolgt mittels Diffusion. Wasserlösliche Stoffe wie Proteine sind bei der transzellulären Passage des Gefäßendothels auf Transporter angewiesen (sog. *erleichterte Diffusion*). Ihre Transportrate wird daher u.a. von Menge und Sättigungs-

grad der verfügbaren Transporter bzw. Rezeptoren bestimmt. Die Eiweißkonzentration der intravasalen Flüssigkeit liegt mit 60 – 80 g/L deutlich über der Eiweißkonzentration der interstitiellen Flüssigkeit.

### **2.3.1. Einfluss der Plasmapherese**

Im Rahmen der präparativen Plasmapherese wird ein vor Beginn des Verfahrens definiertes Plasmavolumen aus dem Intravasalraum des Spenders entnommen. Für die Schätzung des tatsächlichen intravasalen Netto-Volumenverlustes (INV) muss jedoch sowohl das in die Zirkulation des Spenders gelangte Zitratvolumen also auch das substituierte NaCl-Volumen berücksichtigt werden. Des Weiteren löst die provozierte Hypovolämie einen kompensatorischen Flüssigkeitsnachstrom aus dem Extravasalraum in den Intravasalraum aus. Aus der Nephrologie ist dieser Prozess als „Refilling“ nach einer Hämodialyse bekannt. Das in den Intravasalraum einströmende Extravasalvolumen weist eine deutlich niedrigere Plasmaproteinkonzentration als das Intravasalvolumen auf. Hierdurch kommt es zu einer temporären Verdünnung der intravasalen Plasmaproteine. Zu welchem Zeitpunkt dieser Prozess im Rahmen einer Plasmapherese einsetzt, ist nicht bekannt. Ein weiterer physiologisch wirksamer Parameter der Volumenregulierung im Rahmen einer Plasmapherese ist das extrakorporale Volumen. Es nimmt im Verlauf der Spende schrittweise zu, vor der letzten Rückgabe erreicht es seinen höchsten Wert. Dann liegt der größte hypovolämische Reiz vor.

Zusammenfassend kann der INV nach Plasmapherese wie folgt beschrieben werden:

$$\text{INV} = \text{NaCl Volumen} + \text{Zitratvolumen} + \text{nachströmendes Volumen} - \text{Spendenvolumen}$$

## 2.4. Zielstellung der Arbeit

Die der Arzneimittelherstellung zur Verfügung stehende Plasmamenge wird bestimmt von der Anzahl der Spender und der zugelassenen Spendenmenge. Allgemein abnehmende Spenderzahlen und eine demographisch bedingte Reduktion der spendefähigen Bevölkerung in den westlichen Nationen sprechen einer bewussten Spenderführung und einer Individualisierung des Spenderschutzes unter dem Aspekt der Spenderbindung eine besondere Bedeutung zu (22). Gleichzeitig nehmen die Indikationen für eine Therapie mit Plasmaderivaten weiter zu. Zwei wichtige Faktoren, die die Spenderbindung beeinflussen, sind temporäre, durch Plasmaproteindepletion bedingte Rückstellungen und die Verträglichkeit des Verfahrens.

Ein Ziel ist es daher, das vertiefte Verständnis über den IgG- und GEW-Metabolismus unter Plasmapherese in eine individualisierte Festlegung der Dauer von IgG- und GEW- bedingten Rückstellungen einfließen zu lassen. Vermeidbarer Spenderverlust durch Frustration bei zu früher Wiedervorstellung und vermeidbarer Spendenverlust durch zu lange Rückstellung sollen reduziert werden. Wann kann der Spender mit größtmöglicher Wahrscheinlichkeit unter Berücksichtigung seiner individuellen Voraussetzungen wieder spenden? Es resultiert die Forderung nach einer evidenzbasierten und spenderindividuellen Kalkulation der IgG- und GEW-Rückstellungsdauer, die Spenderschutz und Spenderbindung gleichzeitig verbessert. Hierzu wird über eine retrospektive Datenanalyse zunächst die derzeitige Situation bezüglich Rückstellungspraxis und Rückstellungserfolg ausgewertet. Anschließend wird untersucht, welche Parameter einer zuverlässigen, individuellen Schätzung der erforderlichen Sperrdauer dienen können.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist es, durch den Volumenentzug provozierte Volumenverschiebungen zu identifizieren und nähere Erkenntnis darüber zu erlangen, was während einer Plasmapherese im Körper geschieht.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Retrospektiver Teil

Die derzeitige IgG- und GEW-Rückstellungspraxis wurde retrospektiv analysiert und auf statistische Zusammenhänge und mögliche Vorhersagewerte untersucht.

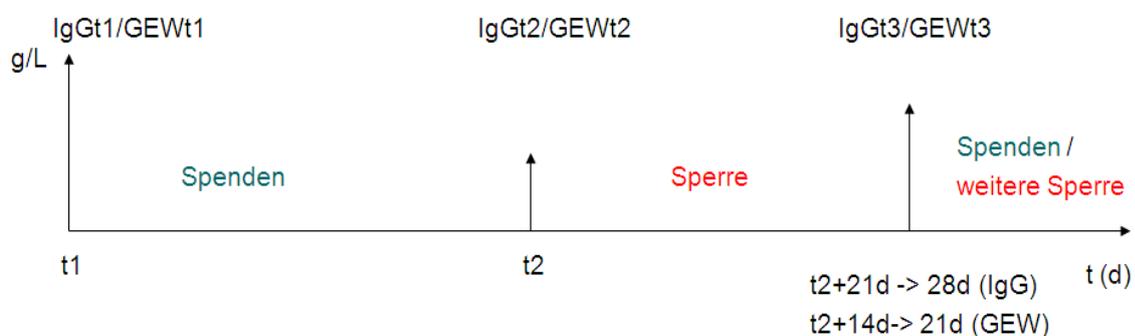
##### 3.1.1. Material

Es wurden Daten der in den Spendezentren verwendeten Blutbanksoftware ebps Logistics GmbH Wien ausgewertet.

Daten von Mehrfachplasmaspendern, die in den Jahren 2001 bis 2009 die Haema-Blutspendezentren in Chemnitz, Erfurt, Freiberg, Gera, Jena, Plauen, Weimar und Zwickau besucht hatten, wurden ausgewählt. Der Datensatz beinhaltete Daten von 6667 (IgG) bzw. 4091 (GEW) Spendern, die mindestens eine Rückstellung auf Grund erniedrigter IgG- oder GEW-Serumkonzentrationen aufwiesen. Die Mindestdauer der Rückstellung von weiteren Plasmaspenden betrug 21 Tage (IgG), bzw. 14 Tage (GEW). In die Auswertung wurden die IgG-/GEW-Konzentrationen zu folgenden Zeitpunkten eingeschlossen (Abbildung 3):

- IgGt1/GEWt1: Serumkonzentration bei der Erstspende (Zeitpunkt t1)
- IgGt2/GEWt2: Serumkonzentration, die zur Sperre führte (Zeitpunkt t2)
- IgGt3/GEWt3: Serumkonzentration bei der ersten Kontrolluntersuchung im Zeitraum vom Ablauf der Mindestsperrfrist plus sieben Tage (Zeitpunkt t3). Für das IgG betrug der Beobachtungszeitraum für die Kontrolluntersuchung somit 21 bis 28 Tage nach Beginn der Sperre. Für GEW ergab sich entsprechend ein Beobachtungszeitraum von 14 bis 21 Tagen nach Beginn der Sperre.

Abbildung 3: Zeitpunkte der IgG-/GEW-Konzentrationsbestimmung



Folgende weitere Daten lagen vor:

- Das Datum der Messpunkte t1, t2 und t3
- Die Anzahl der Plasmaspenden im Spendezeitraum zwischen IgGt1/GEWt1 und IgGt2/GEWt2 (nIP)
- Die Anzahl der Vollblutspenden im Spendezeitraum zwischen IgGt1/GEWt1 und IgGt2/GEWt2 (nVB)

### 3.1.2. Berechnungen

Alle vorgenommenen Berechnungen werden an Hand des IgG dargestellt. Sie wurden analog für das GEW vorgenommen. Auch die einzelnen Parameter wurden gleichartig bezeichnet. Die Konzentrationsunterschiede zwischen den einzelnen Messzeitpunkten t1, t2 und t3 (DiffIgGt12 bzw. DiffIgGt32) wurden über die Differenzen der entsprechenden Konzentrationen bestimmt.

1.  $\text{DiffIgGt12} = \text{IgGt1} - \text{IgGt2}$
2.  $\text{DiffIgGt32} = \text{IgGt3} - \text{IgGt2}$

DiffIgGt12 bezeichnet somit den Konzentrationsabfall während der Spendezeit, DiffIgGt32 bezeichnet den Konzentrationsanstieg während der Spendepause.

Die Dauer der Spendezeit (SpZeit) bis zum Eintreten der ersten Rückstellung wurde berechnet über

3.  $\text{SpZeit} = \text{Datum t2} - \text{Datum t1}$

Die Dauer der spendefreien Zeit (SpPau) wurde wie folgt kalkuliert:

4.  $\text{SpPau} = \text{Datum t3} - \text{Datum t2}$

Wichtig ist die Unterscheidung zwischen den Begriffen *Rückstellungsdauer* und *spendefreie Zeit*. Während die Rückstellungsdauer die vom Spendedienst auferlegte feste Mindestsperrzeit von 14 (GEW) bzw. 21 (IgG) Tagen beschreibt, bezeichnet die spendefreie Zeit den Zeitraum zwischen Beginn der Rückstellungsdauer und tatsächlicher Wiedervorstellung des Spenders nach Ablauf der Rückstellungsdauer. Sie ist länger als die Rückstellungsdauer, wenn betroffene Spender nicht exakt am frühestmöglichen Termin zur Kontrolluntersuchung erscheinen. Wann der Spender nach abgelaufener Rückstellungsdauer wieder kommt, steht ihm frei. Aus der Dauer der Spendepause in Tagen und der entstandenen Konzentrationsdifferenz in diesem Zeitraum wurden die IgG-Regenerationsraten ( $\text{RegR}_{\text{IgG}}$ ) in g/L pro Tag ermittelt:

5.  $\text{RegR}_{\text{IgG}} = (\text{IgGt3} - \text{IgGt2}) / (t3 - t2)$

Die Plasmaspendefrequenz (SpFrequ) pro Zeiteinheit vor Eintreten der Spendepause wurde über die Gleichungen 6 und 7 berechnet:

6.  $\text{SpFrequ pro Tag} = \text{Anzahl der Plasmaspenden} / \text{SpZeit (d)}$
7.  $\text{SpFrequ pro Woche} = [\text{Anzahl der Plasmaspenden} / \text{SpZeit (d)}] * 7$

### **3.1.3. Ausschlusskriterien**

Spender mit bereits bei der ersten Spende erniedrigten Serumkonzentrationen (IgGt1/GEWt1) wurden ebenso von der Studie ausgeschlossen wie Spender, deren Kontrollwerte (IgGt3/GEWt3) die erforderliche Mindesthöhe auch nach Ablauf der Mindestrückstellungsdauer nicht erreichten. In beiden Fällen ist eine generelle Spendetauglichkeit zu hinterfragen. Spender mit einer Spendepause von mehr als einer Woche über der Mindestrückstellungsdauer wurden ebenso ausgeschlossen. In diesen Fällen können die vorliegenden IgGt3-Werte nicht mehr unmittelbar als Kontrolluntersuchungen gesehen werden und dürfen nicht ausschließlich in Zusammenhang mit der Regeneration gebracht werden. Auch Spender mit einer vor Ablauf der Mindestrückstellungsfrist durchgeführten Kontrolluntersuchung wurden nicht in die Auswertung eingeschlossen. Des Weiteren wurden Spender mit negativer Syntheserate ( $\text{IgGt3/GEWt3} < \text{IgGt2/GEWt2}$ ) ausgeschlossen. Trotz Spendepause hat sich die Serumkonzentration hier weiter verringert. Die Daten sind entweder als unplausibel zu werten, beruhen auf Messfehlern oder geben Hinweise auf eine parallele Spendetätigkeit bei einem oder mehreren weiteren Spendediensten. Im Spendezeitraum (t1 bis t2) musste mindestens eine Plasmaspende geleistet worden sein. Ein Datensatz ging wegen unplausibler IgG-Konzentrationen nicht in die Auswertung mit ein. Unter Anwendung aller Ausschlusskriterien wurden schließlich 1293 Datensätze in die IgG-Auswertung und 1167 Datensätze in die GEW-Auswertung eingeschlossen. Eine Übersicht aller Ausschlussgründe und die hierdurch bedingte Reduktion des Datensatzes gibt Tabelle 2.

**Tabelle 2: Der Einfluss der Ausschlusskriterien auf den IgG- und GEW-Datensatz**

<b>Ausschlusskriterium (IgG)</b>	<b>n</b>	<b>Ausschlusskriterium (GEW)</b>	<b>n</b>
	6667		4091
<b>unplausibel</b>	1	<b>unplausibel</b>	-
<b>IgGt1 &lt; 6,0 g/L</b>	309	<b>GEWt1 &lt; 60,0 g/L</b>	30
<b>IgGt3 &lt; 6,0 g/L</b>	973	<b>GEWt3 &lt; 60,0 g/L</b>	405
<b>Spendefreie Zeit &lt; 21 d</b>	573	<b>Spendefreie Zeit &lt; 14 d</b>	1325
<b>Spendefreie Zeit &gt; 28 d</b>	2484	<b>Spendefreie Zeit &gt; 21 d</b>	1160
<b>IgGt3 &lt; IgGt2</b>	1033	<b>GEWt3 &lt; GEWt2</b>	-
<b>Keine Plasmaspende im Spendezeitraum</b>	1	<b>Keine Plasmaspende im Spendezeitraum</b>	4
<b>Alle</b>	<b>1293</b>	<b>Alle</b>	<b>1167</b>

Abkürzungen: IgGt1 = IgG-Serumkonzentration zu Beginn der Spendetätigkeit, IgGt2 = zur Sperre führende IgG-Serumkonzentration, IgGt3 = IgG-Serumkonzentration nach Ablauf der Sperre, GEWt1 = GEW-Serumkonzentration zu Beginn der Spendetätigkeit, GEWt2 = zur Sperre führende GEW-Serumkonzentration, GEWt3 = GEW-Serumkonzentration nach Ablauf der Sperre

### 3.1.4. Statistik

Die deskriptive Statistik wurde mit Microsoft Excel 2007 erstellt. Sie beinhaltete die Bestimmung von Minimum, Maximum, Mittelwert, Spannweite, Median, Standardabweichung und Variationskoeffizient. Analyseergebnisse mit einem p-Wert < 0,05 wurden als statistisch signifikant bewertet. Das Vorliegen einer Normalverteilung wurde mittels Kolmogorov-Smirnov-Test geprüft. Normalverteilte Stichproben wurden über einen t-Test, nicht normalverteilte Stichproben über den Wilcoxon- bzw. Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test auf Unterschiede geprüft. Die Korrelationsanalysen wurden mit Microsoft Excel 2007 und dem Softwareprogramm MedCalc (Version 12.1) durchgeführt.

Die Formel zur Prognose der Mindestrückstelldauer wurde mittels einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) erstellt. Auf der Basis eines 95% bzw. 99% Konfidenzintervalls wurde anhand der Originalspenderdaten eine prognostizierte Rückstelldauer ermittelt. Diese wurde mit der tatsächlich stattgefundenen Rückstellungsdauer und der durch die Standard Operation Procedures (SOP) des Blutspendedienstes vorgegebenen Mindestrückstelldauer verglichen<sup>1</sup>.

Während des Messzeitraums von 2001 bis 2009 erfolgte die Datenerhebung in zwei unterschiedlichen Laboren. Der Übergang erfolgte fließend, ein konkretes Umstellungsdatum war nicht zu eruieren. Der für IgGt2 und IgGt3 daher jahrgangsweise durchgeführte t-Test für unabhängige Probenumfänge ergab statistisch signifikante Unterschiede ( $p < 0,05$ ) für einzelne Jahrgangvergleiche (Tabelle 3 und Tabelle 4). Die Messzeiträume, für die diese signi-

---

<sup>1</sup> Die Berechnungen wurden von Herrn Dr. Steffen Schneider vom Institut für Herzinfarktforschung Ludwigshafen an der Universität Heidelberg durchgeführt.

fikanten Unterschiede erhoben wurden, entsprachen jedoch nicht dem Zeitraum der Laborumstellung. Andere Ursachen wie unterschiedliche Spenderpopulationen, Spendefrequenzen und Adaption der gültigen Richtlinien müssen daher in erster Linie in Betracht gezogen werden. Die Studie konzentriert sich zudem im Wesentlichen auf die Differenzen der zu den einzelnen Zeitpunkten erhobenen Serumkonzentrationen (IgG/GEWt1 – 3). Daher wurden lediglich die Datensätze potentiell beeinflusst, bei denen nicht alle drei Messzeitpunkte in die Zuständigkeit eines Labors fielen.

**Tabelle 3: Der Einfluss des Laborwechsels auf die IgGt2-Konzentrationen**

<b>IgGt2</b>	<b>n</b>	<b>MW</b> [g/L]	<b>Min</b> [g/L]	<b>Max</b> [g/L]	<b>SD</b> [g/L]	<b>Med</b> [g/L]	<b>IgGt2</b>	<b>2001/ 2002</b>	<b>2002/ 2003</b>	<b>2003/ 2004</b>	<b>2004/ 2005</b>	<b>2005/ 2006</b>	<b>2006/ 2007</b>	<b>2007/ 2008</b>	<b>2008/ 2009</b>
<b>2001</b>	5	5,01	3,27	5,98	0,67	5,03	<b>p-Wert</b>	< 0,001	0,0341	0,0732	0,27	0,02	0,78	0,20	0,0190
<b>2002</b>	123	5,31	2,54	5,99	0,55	5,44									
<b>2003</b>	73	5,37	1,94	5,99	0,61	5,54									
<b>2004</b>	5	5,49	1,94	5,98	0,57	5,66									
<b>2005</b>	83	5,56	3,00	5,99	0,41	5,68									
<b>2006</b>	181	5,61	3,60	5,95	0,33	5,70									
<b>2007</b>	215	5,60	3,50	5,90	0,32	5,70									
<b>2008</b>	339	5,58	4,00	5,90	0,32	5,70									
<b>2009</b>	269	5,55	3,20	5,90	0,35	5,60									

Abkürzung: IgGt2-Konzentration = zur Rückstellung führende IgG-Serumkonzentration

**Tabelle 4: Einfluss des Laborwechsels auf die IgGt3-Konzentrationen**

<b>IgGt3</b>	<b>n</b>	<b>MW</b> [g/L]	<b>Min</b> [g/L]	<b>Max</b> [g/L]	<b>SD</b> [g/L]	<b>Med</b> [g/L]	<b>IgGt3</b>	<b>2001/ 2002</b>	<b>2002/ 2003</b>	<b>2003/ 2004</b>	<b>2004/ 2005</b>	<b>2005/ 2006</b>	<b>2006/ 2007</b>	<b>2007/ 2008</b>	<b>2008/ 2009</b>
<b>2001</b>	3	5,01	3,27	5,98	0,67	5,03	<b>p-Wert</b>	0,77	0,0057	0,0023	< 0,001	< 0,001	0,0025	< 0,001	0,81
<b>2002</b>	115	5,31	2,54	5,99	0,55	5,44									
<b>2003</b>	76	5,37	1,94	5,99	0,61	5,54									
<b>2004</b>	12	5,49	1,94	5,98	0,57	5,66									
<b>2005</b>	68	5,56	3,00	5,99	0,41	5,68									
<b>2006</b>	174	5,61	3,60	5,95	0,33	5,70									
<b>2007</b>	222	5,60	3,50	5,90	0,32	5,70									
<b>2008</b>	325	5,58	4,00	5,90	0,32	5,70									
<b>2009</b>	298	5,55	3,20	5,90	0,35	5,60									

Abkürzung: IgGt3-Konzentration = IgG-Serumkonzentration nach abgelaufener Rückstellung

## 3.2. Prospektiver Teil

Das Ziel des prospektiven Teils dieser Studie lag darin, die Volumenverschiebungen zwischen den einzelnen Kompartimenten des Spenders während und nach einer Plasmapherese näher zu beschreiben. Zwei Methoden wurden hierfür angewandt:

- Mittels Bioimpedanz wurden Gesamtkörperwasser, extrazelluläres Wasser und intrazelluläres Wasser vor und nach der Plasmapherese bestimmt.
- Mithilfe der Konzentrationsbestimmung einzelner Plasmaproteine vor und nach der Plasmapherese und deren Verdünnungsfaktoren wurden Ausmaß und Richtung von Volumenverschiebungen zwischen Intra- und Extravasalraum untersucht.

### 3.2.1. Material und Geräte

- Body Composition Monitor (BCM)  
Fresenius Medical Care  
Bad Homburg, Deutschland
- Blutbild Messgerät  
KX-21N  
Sysmex GmbH  
Norderstedt, Deutschland
- Kalibriertes Blutdruck Messgerät  
boso-medicus  
Bosch + Sohn GmbH u. Co. KG  
Jungingen, Deutschland
- Kalibrierte Personenwaage  
seca 704  
seca GmbH & Co. KG  
Hamburg, Deutschland
- Blutentnahme Röhrchen  
BD Vacutainer Art.-Nr. 386501 und BD Vacutainer Art.-Nr. 368500  
Becton Dickinson GmbH  
Heidelberg, Deutschland
- Apheresemaschine  
Autopheresis-C System / A200  
Fenwal Inc.  
Lake Zurich, USA

- Zentrifuge  
Universal 320  
Andreas Hettich GmbH & Co.KG  
Tuttlingen, Deutschland

### **3.2.2. Spender**

Bei den teilnehmenden Plasmaspendern handelte es sich gemäß der Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und IQPP-Standard um qualifizierte Mehrfachspender, die im Zeitraum von Oktober 2010 bis November 2010 das Haema Blutspendezentrum in Hamm für eine Plasmaspende besuchten. Die Prüfärztin arbeitete in diesem Zeitraum dort als Spendeärztin. Spenderaufnahme und Spenderzulassung im Rahmen der Studienteilnahme folgten dabei dem Ablauf gemäß aktuell gültiger Richtlinien und interner Arbeitsanweisungen. Nach Kontrolle und Aufnahme der Spenderstammdaten durch die Anmeldung des Blutspendezentrums erfolgte die Bestimmung eines kleinen Kapillarblutbildes aus der Fingerbeere sowie eine Blutdruck- und Temperaturmessung. Für die korrekte Festlegung der Spendemenge ( $\leq 60$  kg: 650 mL,  $> 60$  kg bis  $\leq 80$  kg: 750 mL,  $> 80$  kg: 850 mL) erfolgte eine Messung des aktuellen Körpergewichts auf einer geeichten Personenwaage. Die Ärztin entschied anschließend anhand vorliegender Befunde über die Zulassung zur Plasmapherese und eine mögliche Studienteilnahme. Die Studienteilnehmer wurden schriftlich und mündlich über den Studieninhalt und die Verwendung personenbezogener Daten aufgeklärt. Unterschriebene Einverständniserklärungen aller teilnehmenden Spender liegen ebenso vor wie ein positives Ethikvotum der Ärztekammer Westfalen-Lippe.

Die Teilnehmer wurden auf zwei Gruppen aufgeteilt, die sich in dem Zeitpunkt der durchgeführten Impedanzanalyse unterschieden. Die Blutprobenentnahmen zur Bestimmung der Proteinverdünnungsfaktoren erfolgten in beiden Gruppen identisch. In Gruppe TVN ( $n = 21$ ) wurden die Impedanzmessungen unmittelbar vor und innerhalb 30 Min. nach der Plasmapherese durchgeführt, in Gruppe T2d ( $n = 20$ ) unmittelbar vor und 2 Tage nach der Plasmapherese. Bei einem Spender wurden die Bioimpedanzmessungen zusätzlich zu den Vorher-Nachher-Messungen während des laufenden Plasmaphereseverfahrens durchgeführt. Die Messungen wurden nach jedem Entnahmezyklus zu Beginn der Zellrückgabe am liegenden Spender vorgenommen.

### **3.2.3. Ausschlusskriterien**

Die Studie startete mit 48 Spendern. Drei dieser Spender nahmen an beiden Gruppen (TVN und T2d) teil, sodass eine Summe von 51 Datensätzen zur Verfügung stand. Im weiteren Verlauf mussten Spender aufgrund von nicht studienplangemäßen Impedanzmessungen und/oder unvollständigen Laborwerten ausgeschlossen werden:

Acht Spender aus Gruppe T2d mussten wegen fehlender zweiter Impedanzmessung bei vollständigen Laborwerten ausgeschlossen werden. Sie waren zur Impedanzmessung 2 Tage nach der Plasmaspende nicht erschienen. Von den 3 Doppelteilnehmern konnte schließlich nur ein Spender mit 2 kompletten Datensätzen in die Auswertungen beider Gruppen eingeschlossen werden. Ein Datensatz eines Doppelteilnehmers musste wegen fehlender 2. Blutentnahme von der Auswertung in Gruppe TVN ausgeschlossen werden. Vom 3. Doppelspender konnte keiner der beiden Datensätze ausgewertet werden. Er erschien in Gruppe T2d erst am 4. Tag zur erneuten BCM-Messung. Da sein Ausschluss aus Gruppe T2d somit feststand und er zu diesem Zeitpunkt bereits wieder spenden durfte, wurde beschlossen, ihn in Gruppe TVN (BCM-Messung unmittelbar vor und nach PPH) aufzunehmen. Die BCM-Messungen wurden entsprechend durchgeführt, die erforderliche erneute Blutentnahme jedoch nicht. Somit lagen für diesen Spender zwei unvollständige Datensätze vor.

Insgesamt gingen somit von 40 Spendern 41 Datensätze, 21 für die Gruppe TVN und 20 für die Gruppe T2d in die Studie ein. Eine Übersicht der ein- und ausgeschlossenen Datensätze und deren Verteilung auf die beiden Gruppen zeigt Tabelle 5.

**Tabelle 5: Ausgeschlossene Datensätze gemäß Ausschlusskriterien prospektiver Teil – BCM**

Ausschlusskriterium	Gruppe	
	TVN	T2d
	23	28
<b>Fehlende 2.BCM Messung</b>	-	8
<b>Fehlende Blutentnahme</b>	2	-
<b>Alle</b>	21	20

Abkürzungen: Gruppe TVN = Impedanzmessung unmittelbar vor und bis 30 Min. nach Plasmapherese, Gruppe T2d = Impedanzmessung unmittelbar vor und zwei Tage nach der Plasmapherese, BCM = Body Composition Monitor

In die Berechnung und Auswertung der Verdünnungsfaktoren wurden alle Datensätze mit vollständigen und plausiblen Proteinkonzentrationen vor und nach Plasmapherese eingeschlossen. Der Einschluss war unabhängig von einer fehlenden zweiten BCM-Messung. Ein Spender ging mit zwei Datensätzen in die Analyse ein. Insgesamt wurden 49 Datensätze von 48 Spendern evaluiert.

### 3.2.4. Bioimpedanzspektroskopie

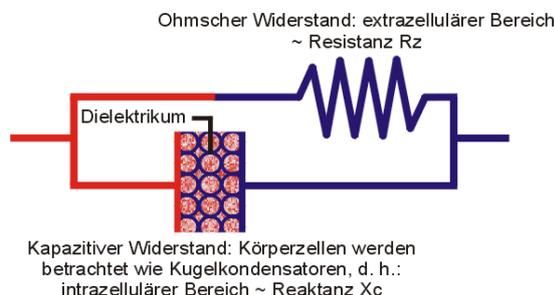
Der Body Composition Monitor (BCM) der Firma Fresenius Medical Care analysiert den Flüssigkeitsstatus und die Gewebeanteile des Körpers in Bezug auf Muskulatur und Fett. Im Rahmen der Bestimmung des Trockengewichtes von Dialysepatienten und der Bestimmung des Ernährungszustandes wird der BCM daher bisher vorwiegend in der Nephrologie und der Behandlung chronisch kranker Patienten verwendet. Über die Technologie der Bioimpedanzspektroskopie liefert der BCM folgende Daten zu der aktuell vorliegenden Flüssigkeitsverteilungssituation des Spenders:

- Gesamtkörperwasser (total body weight, TBW)
- Extrazelluläres Wasser (extracorporeal water, ECW)
- Intrazelluläres Wasser (intracorporeal water, ICW)
- Überwässerung (overhydration, OH)

#### Physikalische Grundlagen

Das Prinzip der Impedanzanalyse wurde erstmals 1963 von Thomasset et al. beschrieben (66). Sie beruht auf der unterschiedlichen Leitfähigkeit einzelner biologischer Gewebe. Elektrisch betrachtet bietet der menschliche Körper das Bild eines inhomogenen Netzwerkes aus Widerständen und Kondensatoren. Körperflüssigkeiten leiten auf Grund ihres hohen Gehaltes an Elektrolyten als Ladungsträger sehr gut. Die nicht zellulär gebundene Körperflüssigkeit verhält sich im Wechselstrom wie ein einfacher elektrischer Leiter, der dem Strom einen ohmschen Widerstand entgegensetzt. Zellmembranen hingegen fungieren durch ihre Phospholipid-Doppelschicht als biologische Minikondensatoren. Sie nehmen die Funktion des schlecht leitenden Isolators zwischen zwei Kondensatorplatten ein (Abbildung 4).

**Abbildung 4: Wechselstromersatzschaltung des Körpers**



(Quelle: MediCal HealthCare GmbH)

Im zu Grunde liegenden elektrischen Schema besteht der menschliche Körper messtechnisch aus fünf Zylindern, die in Serie geschaltet sind: Arme, Beine und Torso. Der elektrische Gesamtwiderstand eines biologischen Leiters gegen Wechselstrom wird durch den Begriff der Impedanz [Z] beschrieben. Sie wird bezogen auf die Form eines Zylinders über die Formel

$$8. \quad \text{Impedanz [Z]} = \text{Länge [L]} / \text{Querschnitt [A]}$$

berechnet.

Das Volumen [V] eines Zylinders wird aus Länge [L] und Querschnitt [A] wie folgt berechnet:

$$9. \quad V = A * L$$

Somit ist es möglich, durch Kenntnis der Länge [L] und der Impedanz [Z] das Volumen eines Zylinders zu bestimmen:

$$10. \quad V = L^2 / Z$$

Übertragen auf die Messung am menschlichen Körper bedeutet diese Formel:

$$11. \quad \text{Total Body Water [TBW]} = \text{Größe}^2 / \text{Impedanz}$$

Sie dient als Berechnungsgrundlage der Impedanzanalyse. Die Impedanz als Gesamtwiderstand setzt sich aus zwei Teilwiderständen zusammen,

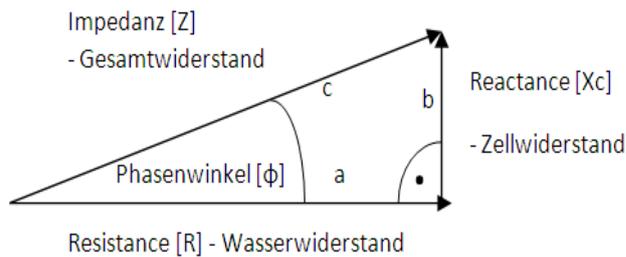
- der Resistance [R], dem rein ohmschen Widerstand des elektrolythaltigen Gesamtkörperwassers, als Maß für das Gesamtkörperwasser [TBW] und
- der Reaktanz [Xc], dem kapazitiven Widerstand. Er entsteht durch die Kondensatoreigenschaften der Körperzellen und gilt als ein Maß für die Gesamtkörperzellmasse.

Eine Unterscheidung und Bestimmung dieser beiden Komponenten der Impedanz wird durch die Messung des Phasenwinkels ermöglicht (Abbildung 5). Dabei gilt entsprechend

$$12. \quad R^2 + Xc^2 = Z^2 \quad (a^2 + b^2 = c^2)$$

Durch die Messung der Reaktanz erhält man die Möglichkeit, Rückschlüsse auf die Zellmasse und das zellulär gebundene Körperwasser zu ziehen.

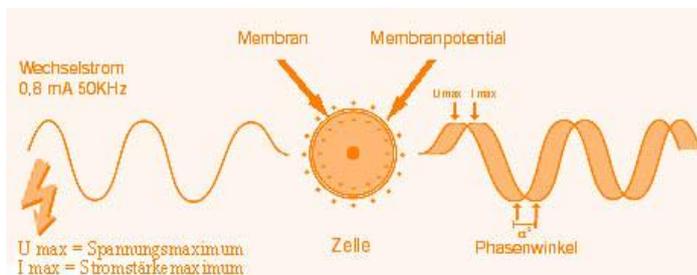
**Abbildung 5: Das Verhältnis von Impedanz, Reaktanz und Resistance**



(modifiziert nach Data Input GmbH, Das BIA-Kompodium, 2005)

Jede stoffwechselaktive Zelle des Körpers besitzt an der Zellmembran eine elektrische Potentialdifferenz von ca. 50 – 100 mV, die die Zelle in einem Wechselstromfeld als Kugelkondensator funktionieren lässt. Bei steigender Spannung laden sich die Kondensatoren dieses Membranpotentials auf, bei abklingender Spannung entladen sie sich. Durch den kapazitiven Widerstand der Kondensatoren kommt es bei diesem Vorgang zu einer Phasenverschiebung zwischen Strom und Spannung. Es entsteht eine Zeitverschiebung  $[\Delta t]$ , wobei das Strommaximum  $[I]$  dem Spannungsmaximum  $[U]$  vorausseilt. Durch die Sinusform des Wechselstroms wird diese Verschiebung in „°“ (Grad) gemessen und als Phasenwinkel phi  $[\phi]$  bezeichnet (Abbildung 6).

**Abbildung 6: Entstehung des Phasenwinkels an der Zellmembran**



(Quelle: Data Input GmbH, Das BIA-Kompodium, 2005)

Die Bestimmung des Phasenwinkels ermöglicht die Differenzierung des Gesamtwiderstandes in dessen Anteile Reaktanz und Resistance. Der Phasenwinkel ist bei einer Frequenz von 50 kHz am größten und aussagekräftigsten. Eine reine Zellmembranmasse hat einen Phasenwinkel von  $90^\circ$ , reines Elektrolytwasser einen Phasenwinkel von  $0^\circ$ .

Der Widerstand biologischer Leiter gestaltet sich zudem frequenzabhängig (Abbildung 6). Niedrige Frequenzen im Bereich von 1 – 5 kHz können Zellmembranen kaum durchdringen, die Ausbreitung bleibt auf den Extrazellarraum beschränkt. Sie besitzen praktisch keinen

Reaktanz-Anteil und repräsentieren selektiv das Extrazellulärwasser (ECW). Bei steigenden Frequenzen nehmen Phasenwinkel und Reaktanz zunächst zu, bevor sie nach Erreichen des Maximums bei 50 kHz erneut abnehmen (11). Der Body Composition Monitor führt Messungen mit 50 unterschiedlichen Frequenzen (5 bis 1000 kHz) durch. Somit ist eine eindeutige Trennung von Extra- und Intrazellulärwasser möglich.

Alle Ausgabeparameter des Body Composition Monitors wurden nach Angaben des Herstellers intensiv gegen anerkannte und etablierte Referenzmethoden validiert (70):

- Extrazellulärwasser – Bromidlösung
- Intrazellulärwasser - Gesamtkörperkalium
- Gesamtkörperwasser – Deuteriumverdünnungsmethode
- Muskelmasse – Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA)
- Körperfettmasse – 4-Kompartimentenmodell, DEXA, Luftverdrängungsplethysmographie und Unterwasserwägung
- Körperzellmasse – Magnetresonanztomographie und Ganzkörperkalium
- Überwässerung – Prä- und Post-Hämodialysemessungen verglichen mit dem Ultrafiltrationsvolumen; fachmännische, klinische Bestimmung durch Experten

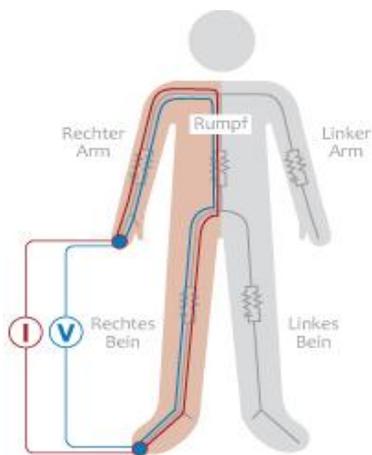
Die Reproduzierbarkeit BCM-basierter erhobener Daten ist mit einem Variationskoeffizienten von ca. 1,2% (ECW und TBW) sehr gut (69).

### Durchführung

Die Bioimpedanzspektroskopie ist eine nicht-invasive, schnelle und leicht anwendbare Messmethode zur Bestimmung des aktuell vorliegenden Flüssigkeits- und Ernährungszustandes. Die BCM-Messungen wurden in Abhängigkeit von der Studiengruppenzugehörigkeit unmittelbar vor und unmittelbar nach der Plasmapherese (Gruppe TVN) oder unmittelbar vor und 2 Tage nach der Plasmapherese (Gruppe T2d) durchgeführt. Dabei wurde darauf geachtet, dass sich der Spender bereits 4 bis 5 Minuten vor jeder Messung in liegender Position befand, um eine adäquate Flüssigkeitsverteilung zu gewährleisten. Der Spender wurde über zwei Elektrodenpaare ipsilateral auf dem dorsalen Hand- und Fußrücken in einem Abstand von jeweils 3 – 4 cm zueinander mit dem portablen Analysesystem verbunden. Dabei funktionieren die jeweils proximal angebrachten Elektroden als Quelle des in den Organismus einzubringenden Wechselstroms. Die distal angebrachten Elektroden messen den Spannungsabfall (Abbildung 7). Die Hautstellen (rechte Körperseite) wurden zuvor mit einem Standard-Desinfektionsmittel entfettet und getrocknet. Während der Messungen waren die Extremitäten leicht abgespreizt, sodass sie den Körper nicht berührten. Der Studienteilnehmer befand sich in vollkommener Ruhe, sprach nicht und hatte keinen Kontakt zu weiteren, ebenfalls leitenden Gegenständen der Umgebung. Er befand sich bei Start der Messung

bereits wenige Minuten in liegender Position. Die Wartezeit wurde dazu genutzt, die erforderlichen individuellen Daten in das Analysesystem einzugeben: Geschlecht, Alter, Gewicht, Größe und aktueller Blutdruck. Nach ca. 1,5 Min. war die Messung abgeschlossen. Das portable System zeigt erste Messergebnisse sofort auf dem Display an und speichert sie automatisch auf einen Datenträger (Patienten-/Spenderkarte). Für die Auswertung müssen die Messdaten anschließend in ein spezielles Programm, die Fluid Management Tool Software, eingespeist werden.

**Abbildung 7: Elektrodenführung und im Stromkreis vorhandene Impedanzen (BCM)**



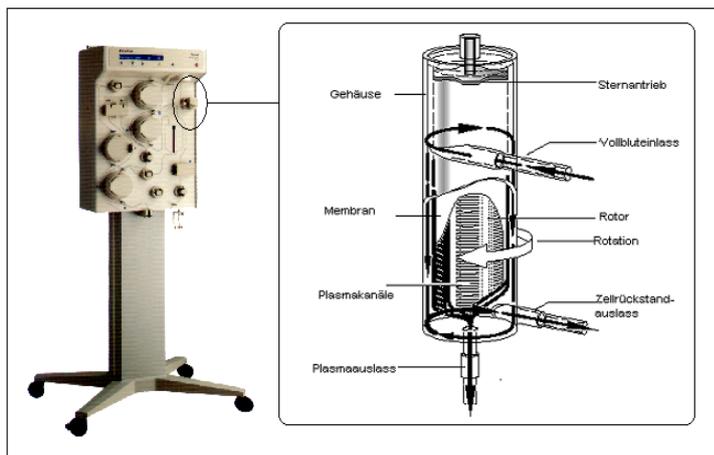
(Quelle: [www.inbody.de](http://www.inbody.de))

### 3.2.5. Plasmapherese

Alle Plasmapheresen im Rahmen dieser Untersuchungen wurden an der Autopheresis-C, Model A-200, der Firma Fenwal Inc. durchgeführt (Abbildung 8). Im Rahmen der Studie wurden keine Veränderungen des regulären Ablaufs einer Plasmaspende an diesem Zellseparator vorgenommen. Nach Punktion einer geeigneten Kubitalvene wird der Spender über ein Einmalschlauchsystem mit der Apheresemaschine verbunden. Das Procedere benötigt mehrere Zyklen. Jeder Zyklus besteht aus zwei Phasen: Die Phase der Entnahme, in der das Vollblut aus der Spendervene in das Apheresesystem gepumpt wird, und die Phase der Rückgabe, in der die separierten zellulären Blutbestandteile aus dem Apheresesystem zurück in die Spendervene gepumpt werden. Jeder Entnahme schließt sich eine Rückgabe an. Zunächst wird Vollblut entnommen und in einem definierten Verhältnis mit steriler 4%iger (w/v) Natriumcitratlösung als Antikoagulans versehen. Anschließend wird das antikoagulierte Blut über Pumpen zur Separationseinheit geleitet. Dort wird es bei  $3600 \text{ min}^{-1}$  zentrifugiert und gefiltert. Die Separation erfolgt durch die Kombination einer rotierenden Membran mit dem Prinzip der Tangentialfiltration, wobei die Flussrichtung des Blutes senkrecht zur Filtrationsrichtung verläuft. Durch die Wirkung der Zentrifugalkräfte werden die Zellen in vertikalen

Schichten abnehmender Dichte von außen nach innen in der Reihenfolge Erythrozyten - Granulozyten - Monozyten - Lymphozyten - Thrombozyten - Plasma in der rotierenden Zentrifugenkammer angeordnet. Vom Inneren der Separationseinheit wird das Plasma solange über die Membran in den Sammelbeutel abgeleitet, bis entweder die vorgegebene Menge an Plasma pro Zyklus erreicht ist oder der Überlaufsensor Zellen (Thrombozyten, Erythrozyten) im Ablaufschlauch erkennt. Die Rückgabe beginnt. Der zelluläre Bestandteil wird bis zur Rückgabe an den Spender in einem Reservoir gesammelt. Nach Abschluss der letzten Rückgabe werden dem Spender 300 mL NaCl-Lösung infundiert.

**Abbildung 8: Darstellung des Zellseparators**



Autopheresis-C der Fa. Fenwal mit Separationseinheit (Quelle: Fenwal Inc.)

Allen teilnehmenden Spendern war die Maschine durch bestehende Vorspenden bereits gut bekannt. Individuelle Spendedaten wie Spendemenge, Dauer und Zitratverbrauch wurden dem Apheresesystem entnommen und entsprechend dokumentiert. Bei einem Spender musste die Plasmapherese wegen Harndrang vorzeitig beendet werden.

### 3.2.6. Blutprobenentnahme

Für die Blutprobenentnahmen wurden Serum-Gel Monovetten® der Firma Sarstedt verwendet. Die Blutentnahmen erfolgten aus der für die Plasmapherese bereits auserwählten und punktierten Spendervene zu den folgenden Zeitpunkten:

- unmittelbar nach Punktion und vor Anschluss der Vene an das Aphereseset
- unmittelbar nach Beendigung der Plasmapherese und nach Aufhebung der venösen Stauung

Um eine Verdünnung der nach der Spende abgenommenen Blutprobe durch noch in der Vene befindliche NaCl Lösung zu vermeiden, wurden zunächst 2 Monovetten á 10 mL vollständig gefüllt und verworfen. Erst das dritte entnommene Serum-Gel Röhrchen wurde für

die Laboruntersuchungen verwendet. Die Proben wurden gut durchgemischt und innerhalb von 3 bis 12 Stunden nach der Entnahme für 15 Min. bei  $3500 \text{ min}^{-1}$  zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde separiert und sofort bei  $\leq$  minus  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  tiefgefroren. In Trockeneis gelagert wurden die Proben zur Analytik in das Institut für Labormedizin und Hygiene des Klinikums der Stadt Ludwigshafen transportiert.

### 3.2.7. Labormethodik

Alle Parameter wurden am Institut für Labormedizin und Hygiene des Klinikums der Stadt Ludwigshafen bestimmt. Die Immunglobuline G, deren Subklassen 1 bis 4, und IgM wurden immun-nephelometrisch bestimmt. Für die quantitative Bestimmung der Immunglobulin G-Subklassen 3 und 4 wurden partikelverstärkte Antikörper verwendet. In beiden Fällen wurden Reagenzien der Firma Siemens Healthcare Diagnostics Inc. verwendet. Die GEW-Bestimmung im Serum erfolgte mit der Biuret-Reaktion nach Weichselbaum et al. (72). Es wurden Reagenzien der Firma Roche Diagnostics GmbH verwendet. Die Bestimmung des Serumalbumins erfolgte nach Standardmethode an der Cobas® modular platform der Firma Roche Diagnostics GmbH. Auch die verwendeten Reagenzien stammten von Roche.

### 3.2.8. Berechnungen

#### Body Composition Monitor

Die Daten zu Gesamtkörperwasser, extrazellulärem und intrazellulärem Anteil und zur Überwässerung der Spender lieferte der BCM direkt. Folgende Berechnungen wurden anschließend für die Erstellung der Gesamtvolumenbilanz nach einer Plasmapherese durchgeführt:

Das Blutvolumen (BV) wurde unter Berücksichtigung von Geschlecht, Körpergröße und Körpergewicht nach der Nadler-Formel berechnet (44). Für das Blutvolumen der weiblichen Studienteilnehmer ( $BV_w$ ) gilt demnach Gleichung 13:

$$13. \quad BV_w [L] = 0,3561 * \text{Größe}^3 [m^3] + 0,03308 * \text{Körpergewicht} [kg] + 0,1833.$$

Für das Blutvolumen der männlichen Studienteilnehmer ( $BV_m$ ) gilt Gleichung 14:

$$14. \quad BV_m [L] = 0,3669 * \text{Größe}^3 [m^3] + 0,03219 * \text{Körpergewicht} [kg] + 0,6041.$$

Das Plasmavolumen (PV) wurde aus Blutvolumen ( $BV_{m/w}$ ) und Hämatokrit (HCT) über Gleichung 15 bestimmt:

$$15. \quad PV [l] = BV_{m/w} [L] - ((BV_{m/w} [L] / 100) * HCT [\%])$$

Das im Spendevolumen (DV) enthaltene Zitratvolumen ( $CV_{PI}$ ) wurde nach Beeck et al. berechnet (3). Den Ergebnissen dieser Studie kann entnommen werden, dass 10,4% des entnommenen Spendevolumens verfahrensbedingt enthaltenes Zitratvolumen ist. Hieraus ergibt sich Formel 16:

$$16. \quad CV_{PI} [L] = DV [L] - (DV [L] / 1,104)$$

Das in den Kreislauf des Spenders gelangte Zitratvolumen ( $CV_{Sp}$ ) wurde aus dem verbrauchten Gesamtzitratvolumen ( $CV_{ges}$ ) abzüglich des Zitratvolumens im gespendeten Plasma ( $CV_{PI}$ ) berechnet:

$$17. \quad CV_{Sp} [L] = CV_{ges} - CV_{PI}$$

### Verdünnungsfaktoren

Im Rahmen der Untersuchung der Volumenveränderungen über die Bestimmung von Verdünnungsfaktoren wurden folgende Berechnungen durchgeführt:

Die Konzentrationsänderungen wurden nach Gleichung 18 und 19 berechnet, wobei  $C_{prä}$  die Konzentration vor der Plasmapherese und  $C_{post}$  die Konzentration nach der Plasmapherese darstellt:

$$18. \quad \text{Konzentrationsänderung}_{Parameter} = C_{post} - C_{prä}$$

$$19. \quad \text{Reduktion}_{Parameter} \% = (C_{prä} - C_{post}) * 100 / C_{prä}$$

Die Verdünnungsfaktoren der einzelnen Parameter ( $VF_{Parameter}$ ) wurden aus den Konzentrationen vor und nach Plasmapherese bestimmt:

$$20. \quad VF_{Parameter} = C_{prä} / C_{post}$$

Die Gesamtmenge eines Parameters im Plasmavolumen ergibt sich aus Konzentration (C) und Plasmavolumen (PV):

$$21. \quad \text{Parameter}_{PV} [g] = C [g/L] * PV [L]$$

Der Volumennachstrom (NS) aus dem Extravasalraum in den Intravasalraum wurde nach Gleichung 22 berechnet:

$$22. \quad NS [L] = (PV [L] / 100) * \text{Reduktion}_{Parameter} [\%]$$

### **3.2.9. Statistik**

Die Durchführung der Deskriptiven Statistik sowie die graphische Darstellung der erhobenen Daten erfolgte mit Microsoft Office Excel 2007 und dem Statistikprogramm MedCalc. Zur Feststellung von Unterschieden zwischen den beiden Spendergruppen wurde der t-Test für zwei unabhängige, normalverteilte Stichproben angewendet. Es wurde zunächst ein F-Test auf gleiche Varianzen durchgeführt. Bei ungleichen Varianzen ( $p < 0,05$ ) wurde eine angepasste Version des t-Tests, der sog. Welch-Test, angeschlossen. Mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test (KS) wurde auf das Vorliegen einer Normalverteilung getestet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Retrospektiver Teil

Im retrospektiven Teil dieser Studie wurden Daten einer internen Datenbank hinsichtlich des Verlaufs von IgG- und GEW-Serumkonzentrationen, daraus resultierenden Spenderrückstellungen und der Regenerationsindividualität bei Mehrfachplasmaspendern untersucht.

#### 4.1.1. Immunglobulin G

1293 Datensätze wurden nach Anwendung der beschriebenen Ausschlusskriterien in die Analyse eingeschlossen. Einen Überblick der ausgewerteten Daten gibt Tabelle 6. Eine Normalverteilung der Ergebnisse lag ausschließlich für die Spendefrequenz vor ( $p = 0,063$ ).

**Tabelle 6: IgG-Datenüberblick des retrospektiven Teils**

	IgGt1 [g/L]	IgGt2 [g/L]	IgGt3 [g/L]	DiffIgGt12 [g/L]	DiffIgGt32 [g/L]	SpFrequ [n/Woche]	SpPau [d]	RegR <sub>IgG</sub> [g/L*d]	SpZeit [d]
<b>n</b>	1293	1293	1293	1293	1293	1293	1293	1293	1293
<b>Min</b>	6,00	2,17	6,00	0,20	0,10	0,01	21,00	0,004	14,00
<b>Max</b>	16,30	5,98	13,13	10,70	8,48	1,67	28,00	0,319	2684,00
<b>MW</b>	9,23	5,55	7,23	3,68	1,68	0,72	23,96	0,070	401,72
<b>Median</b>	9,10	5,61	7,10	3,51	1,52	0,73	23,00	0,064	133,00
<b>SD</b>	1,56	0,35	0,88	1,56	0,91	0,33	2,85	0,038	562,59
<b>SE des MW</b>	0,043	0,009	0,024	0,043	0,025	0,009	0,079	0,001	15,645
<b>VK</b>	16,90	6,38	12,16	42,49	53,95	45,98	11,88	53,70	140,0
<b>Range</b>	10,30	3,81	7,13	10,50	8,38	1,66	7,00	0,315	2670,00
<b>KS<sup>*</sup></b>	0,022	<0,001	<0,001	0,002	<0,001	0,063	<0,001	<0,001	<0,001

**Abkürzungen:** IgGt1 = IgG-Ausgangskonzentration, IgGt2 = zur Sperre führende IgG-Konzentration, IgGt3 = IgG-Konzentration nach Ablauf der Sperre, DiffIgGt12 = IgG-Konzentrationsabfall während der Spendetätigkeit, DiffIgGt32 = IgG-Konzentrationsanstieg während der Sperre, SpFrequ = Spendefrequenz während der Spendetätigkeit, SpPau = Spendeperiode, RegR<sub>IgG</sub> = IgG-Regenerationsrate während der Sperre, SpZeit = Spendezeit bis zur Sperre

<sup>\*</sup>Kolmogorov-Smirnov Test

#### IgG-Serumkonzentrationen

Die Verteilung der IgG-Konzentrationen zu den Messzeitpunkten t1, t2 und t3 wurde durch die Ausschlusskriterien und die Richtlinienanforderung beeinflusst. Die IgG-Ausgangskonzentration vor Beginn der Spendetätigkeit (IgGt1) und die IgG-Konzentration nach Ablauf der Spenderrückstellung (IgGt3) liegen daher bei mindestens 6,0 g/L. Die Richtlinien schreiben für die Spenderzulassung zur Plasmapherese eine IgG-Mindestkonzentration von 6,0 g/L vor. Die zur Spenderrückstellung führende, erniedrigte IgG-Konzentration (IgGt2) beträgt daher weniger als 6,0 g/L ( $\text{IgGt2} < 6,0 \text{ g/L}$ ).

Vor diesem Hintergrund betrug der individuelle IgGt1 Level (vor Beginn der Spendetätigkeit) im Median 9,1 g/L. Fast 30% der IgG Ausgangswerte lagen über 10 g/L. Der mediane, zur Rückstellung führende IgGt2-Wert betrug 5,6 g/L, wobei auch sehr niedrige Werte im Bereich

von bis zu 2,17 g/L erreicht wurden. Ca. 6% aller IgGt2-Werte lagen unter 4,99 g/L. Für das IgGt3 nach Ablauf der Spendepause betrug der Median 7,1 g/L. Nun lagen nur noch etwa 1% der Spender über 10 g/L. Die Regeneration während der Spendepause genügte somit zwar den Ansprüchen einer erneuten Zulassung zur Spende, konnte aber keine vollständige Erholung auf die Ausgangswerte vor Beginn der Spendetätigkeit ermöglichen (Abbildung 9). IgGt1- und IgGt3-Konzentrationen unterschieden sich signifikant ( $p < 0,0001$ ). Die IgG-Konzentration fiel zwischen Aufnahme der Spendetätigkeit und erster Rückstellung um im Median 3,5 g/L (DiffIgGt12). Die Daten zeigten zum Teil jedoch auch sehr große IgG-Verluste während der Spendetätigkeit. Es kam vor, dass die IgG-Konzentration innerhalb weniger Monate um bis zu 10 g/L abfiel. Die IgG-Konzentration stieg während der Spendepause um 1,52 g/L an (DiffIgGt32). Hier kam es trotz Begrenzung des spendefreien Zeitraums auf 21 bis 28 Tage zu Ergebnissen mit sehr großer Varianz. Die Veränderung der IgG-Konzentrationsverteilung innerhalb der Spenderpopulation zeigen Tabelle 7 bis Tabelle 9. In Abbildung 9 ist die Verteilung der IgG-Serumkonzentration zu den unterschiedlichen Zeitpunkten dargestellt.

**Tabelle 7: Verteilung der IgGt1-Serumkonzentrationen**

Klasse	IgGt1 [g/L]	Absolute Häufigkeit [n]	Relative Häufigkeit [%]	Absolute kumulative Häufigkeit [n]	Relative kumulative Häufigkeit [%]
0	6,0 – 7,99	299	23,12	299	23,12
1	8,0 – 9,99	613	47,41	912	70,53
2	10,00 – 11,99	318	24,60	1230	95,13
3	≥ 12,00	63	4,87	1293	100

Abkürzung: IgGt1 = IgG-Serumkonzentration bei erster Spende

**Tabelle 8: Verteilung der IgGt2-Serumkonzentrationen**

Klasse	IgGt2 [g/L]	Absolute Häufigkeit [n]	Relative Häufigkeit [%]	Absolute kumulative Häufigkeit [n]	Relative kumulative Häufigkeit [%]
0	5,50 – 5,99	902	69,76	902	69,76
1	5,00 – 5,49	306	23,67	1208	93,43
2	4,50 – 4,99	72	5,57	1280	99,00
3	≤ 4,49	13	1,00	1293	100,00

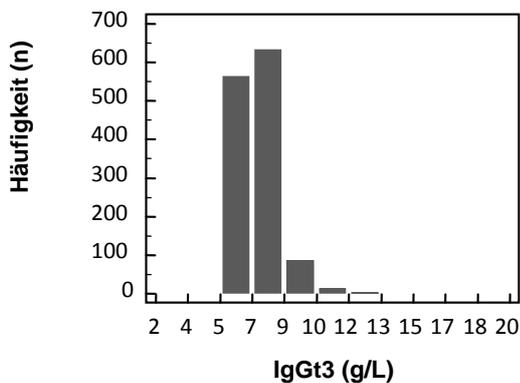
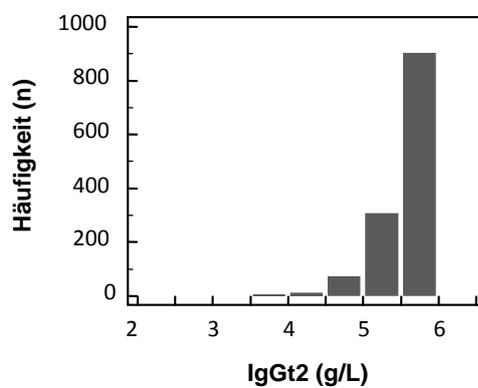
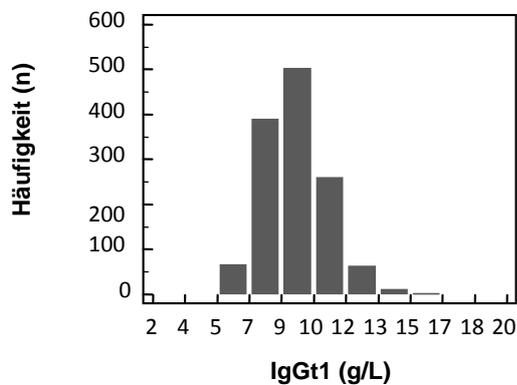
Abkürzung: IgGt2-Serumkonzentration = IgG-Serumkonzentration, die zur Spenderrückstellung führt

**Tabelle 9: Verteilung der IgGt3-Serumkonzentrationen**

Klasse	IgGt3 [g/L]	Absolute Häufigkeit [n]	Relative Häufigkeit [%]	Absolute kumulative Häufigkeit [n]	Relative kumulative Häufigkeit [%]
0	6,00 – 7,99	1035	80,05	1035	80,05
1	8,00 – 9,99	244	18,87	1279	98,92
2	10,00 – 11,99	13	1,01	1292	99,93
3	≥ 12,00	1	0,07	1293	100,00

Abkürzung: IgGt3-Serumkonzentration = IgG-Serumkonzentration nach abgelaufener Spenderrückstellung

**Abbildung 9: Verteilung IgGt1-, IgGt2- und IgGt3-Serumkonzentrationen**



Abkürzungen: IgGt1 = IgG-Serumkonzentration zu Beginn der Spendetätigkeit, IgGt2 = zur Rückstellung führende IgG-Serumkonzentration, IgGt3 = IgG-Serumkonzentration nach Rückstellung

Die Auswirkungen der Richtlinienanpassung im Jahr 2005, die eine Verkürzung der IgG-Kontrollabstände von jeder 15.Spende auf jede fünfte Spende beinhaltete, wurden über einen gruppierten Vergleich der IgGt2-Werte untersucht:

Der Median der IgGt2-Serumkonzentrationen stieg von 5,4 g/L für den Zeitraum 2001 bis 2005 auf 5,7 g/L für den Zeitraum 2006 bis 2009. Die IgG-Konzentrationen nach Ablauf der Spendepause (IgGt3) verbesserten sich von 6,88 g/L (2001 – 2005) auf 7,10 g/L (2006 – 2009). Die Konzentrationsdifferenz zwischen Ausgangswert vor Spendetätigkeit und erster Rückstellung (DiffIgGt12) betrug bis 2005 durchschnittlich 3,25 g/L, für den Zeitraum ab 2006 3,60 g/L. Während der Spendepause (DiffIgGt32) erholten sich die IgG-Werte um 1,57 g/L (2001-2005), bzw. 1,50 g/L (2006 - 2009) (Tabelle 10).

**Tabelle 10: Höhere IgGt2- und IgGt3-Konzentrationen durch Richtliniennovellierung**

	2001-2005		2006-2009		p-Wert
	Anzahl [n]	Median [g/L]	Anzahl [n]	Median [g/L]	
<b>IgGt2</b>	289	5,43	1004	5,70	<0,001
<b>IgGt3</b>	274	6,88	1019	7,10	<0,001
<b>DiffIgGt12</b>	289	3,25	1004	3,60	0,0126
<b>DiffIgGt32</b>	274	1,57	1019	1,50	0,52

Abkürzungen: IgGt2 = IgG-Serumkonzentration, die zur Rückstellung führt, IgGt3 = IgG-Serumkonzentration nach abgelaufener Spendepause, DiffIgGt12 = Konzentrationsabfall während Spendetätigkeit, DiffIgGt32 = Konzentrationsanstieg während Spendepause

### Spendezeit und Spendefrequenz

Die Spendezeit beschrieb den Zeitraum von der ersten Spende (IgGt1) bis zur ersten IgG-bedingten Rückstellung (IgGt2) und unterlag keinem Ausschlusskriterium. Die Spendefrequenz beschrieb die Zahl der geleisteten Spenden im Spendenzeitraum. Sie unterlag der Bedingung, dass mindestens eine Plasmaspende vor erster Rückstellung geleistet werden musste. Spendezeit und Spendefrequenz wiesen große Varianzen auf ( $VK_{SpZeit} = 140,0\%$ ,  $VK_{SpFrequ} = 45,98\%$ ). Die Spendezeit lag im Median bei 133 Tagen. Der Überblick in Tabelle 6 zeigt eine sehr große Spannweite der Daten und einflussreiche Ausreißer im oberen Bereich (Median = 133 Tage vs. Mittelwert = 402 Tage). Die mediane Plasmaspendefrequenz lag bei ca. drei Plasmaspenden pro Monat (0,73 Spenden pro Woche). Mit einer höchsten Spendefrequenz von 6,7 Spenden pro Monat (1,67 Spenden pro Woche) und einer niedrigsten Spendefrequenz von einer Spende in etwas mehr als zwei Jahren war auch hier eine sehr große Spannweite der Daten gegeben.

### Spendepause

Die Spendepause unterlag mehreren Einflussfaktoren. Zum einen wurde ihre Mindestdauer durch den Spendedienstes auf 21 Tage festgesetzt, zum anderen begrenzten die Ausschlusskriterien ihre Maximaldauer auf 28 Tage. Es resultierte ein Median von 23 Tagen.

### IgG-Regenerationsrate

Die Berechnung der Regenerationsrate basierte ausschließlich auf der Dauer der Spendepause und der gemessenen Konzentrationsdifferenz (siehe Kapitel 3.1.2. *Berechnungen*). Der Begriff der Regenerationsrate beschreibt daher in diesem Zusammenhang die reine Konzentrationsänderung pro Zeiteinheit, unabhängig von den ihr zugrunde liegenden Mechanismen. Es kann an dieser Stelle daher keine Aussage über Synthese-, Recycling- und/oder Katabolismusrate gemacht werden.

Die Regenerationsrate betrug im Median 0,06 g/L pro Tag, wobei jedoch große interindividuelle Unterschiede auftraten (VK = 53,70%). Die Ergebnisse verteilten sich auf eine Spannweite von 0,004 bis 0,319 g/L\*d.

### Korrelationen

Es wurden keine unerwarteten Korrelationen zweier voneinander unabhängiger Faktoren gefunden (Tabelle 11). Die höchste Korrelation, bei der der eine Parameter nicht auch Bestandteil der Berechnung des anderen Parameters war, bestand zwischen dem Abfall der IgG-Serumkonzentration während des Spendezeitraums (DiffIgGt12) und der Regenerationsrate während der Spendepause (RegR<sub>IgG</sub>): Je größer der Konzentrationsabfall, desto höher die Regenerationsrate ( $r = 0,539$ ,  $p < 0,001$ ). Ein weiterer leichter Zusammenhang ( $r = 0,521$ ,  $p < 0,0001$ ) ergab sich für IgGt1 und IgGt3 mit einem möglichen Hinweis darauf, dass Spender mit einem höheren individuellen IgG-Level (IgGt1) nach der Spendepause auf entsprechend höhere Werte zurückkehrten. Die Konzentrationsdifferenzen über Spendezeit (DiffIgGt12) und Spendepause (DiffIgGt32) ließen ebenfalls einen leichten Zusammenhang ( $r = 0,525$ ,  $p < 0,0001$ ) erkennen. IgGt1 und Regenerationsrate bildeten einen Korrelationskoeffizienten von 0,487 ( $p < 0,0001$ ) und können somit als tendenziell zusammenhängend beschrieben werden. Weder Spendezeit noch Spendefrequenz waren assoziiert mit einer der drei IgG-Konzentrationen oder der Regenerationsrate ( $p < 0,001$ ). Ein Einfluss der Spendepause auf die Höhe des IgG Wertes nach Regeneration (IgGt3) konnte nicht festgestellt werden ( $r = 0,08$ ,  $p < 0,01$ ). Eine graphische Darstellung der beschriebenen möglichen Zusammenhänge fasst Abbildung 10 zusammen.

Tabelle 11: Zusammenhang zwischen IgG-Konzentrationen und Spendedaten

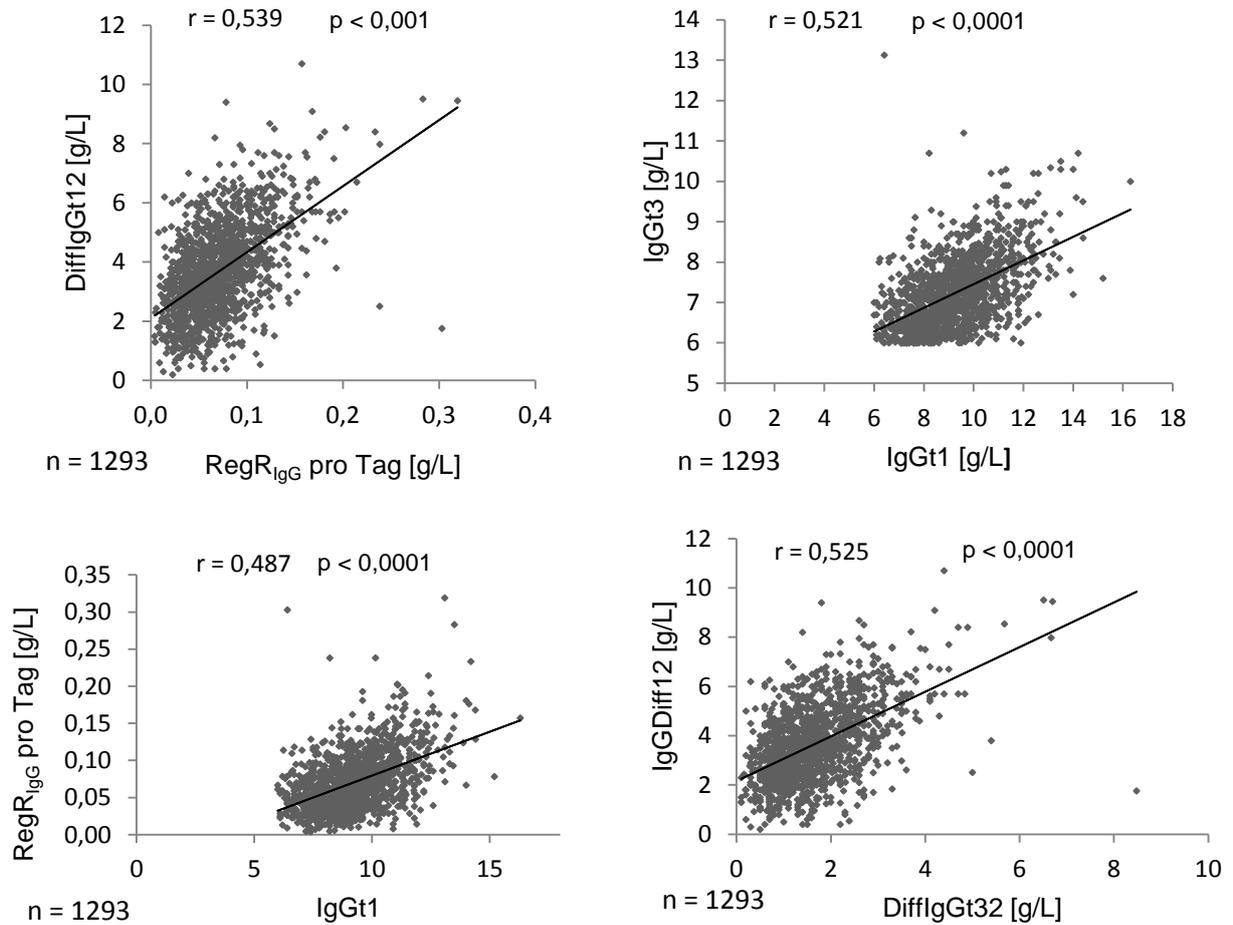
	IgGt1	IgGt2	IgGt3	RegR <sub>IgG</sub>	SpFrequ	SpPau	DiffIlgGt12	DiffIlgGt32	nIP	nVB	SpZeit
<b>IgGt1</b>	1,000	0,103	0,521	0,487	0,154	0,074	0,974	0,464	0,259	0,083	0,126
<b>IgGt2</b>		1,000	0,123	-0,237	0,136	0,121	0,127	0,269	0,175	0,157	0,153
<b>IgGt3</b>			1,000	0,904	0,088	0,082	0,489	0,922	0,219	0,135	0,140
<b>RegR<sub>IgG</sub></b>				1,000	0,133	-0,080	0,539	0,967	0,162	0,093	0,102
<b>SpFrequ</b>					1,000	0,006	0,174	0,135	-0,289	-0,289	-0,604
<b>SpPau</b>						1,000	0,051	0,121	-0,053	-0,093	-0,093
<b>DiffIlgGt12</b>							1,000	0,525	0,218	0,048	0,091
<b>DiffIlgGt32</b>								1,000	0,144	0,070	0,076
<b>nIP</b>									1,000	0,473	0,711
<b>nVB</b>										1,000	0,447
<b>SpZeit</b>											1,000

Angaben als Korrelationskoeffizient r

Abkürzungen: IgGt1 = IgG-Konzentration vor Beginn der Spendetätigkeit, IgGt2 = IgG-Konzentration bei Rückstellung, IgGt3 = IgG-Konzentration nach Ablauf der Sperre, RegR<sub>IgG</sub> = IgG-Regenerationsrate, SpFrequ = Spendefrequenz, SpPau = Spendepause, DiffIlgGt12 = IgG-Konzentrationsabfall während Spendetätigkeit, DiffIlgGt32 = IgG-Konzentrationsanstieg während Rückstellung, nIP = Anzahl der Plasmaspenden, nVB = Anzahl der Vollblutspenden, SpZeit = Spendezeitraum bis Rückstellung

Farblegende: dunkelgrau: r > 0,900; hellgrau: r > 0,500

Abbildung 10: Ausgewählte IgG-Korrelationen des retrospektiven Teils



Abkürzungen: IgGt1 = IgG-Konzentration vor Beginn der Spendetätigkeit, IgGt3 = IgG-Konzentration nach Ablauf der Rückstellung, DiffIgGt12 = IgG-Konzentrationsabfall während Spendezeit, DiffIgGt32 = IgG-Konzentrationsanstieg während Spendepause, RegR<sub>IgG</sub> = IgG-Regenerationsrate während Spendepause

### Prognose der erforderlichen Mindestsperrdauer

Die erforderliche Spendepause bis zum erneuten Erreichen des Grenzwertes von 6,0 g/L ist abhängig von der individuellen Regenerationsfähigkeit des Spenders. Die Regenerationsraten aller eingeschlossenen Spender wurden in sieben Klassen unterteilt (Tabelle 12). Die Verteilungshäufigkeiten innerhalb der einzelnen Klassen werden in Tabelle 13 dargestellt. Über 70% der Regenerationsraten lagen im Bereich von 0,025 bis 0,10 g/L\*d. 7,19% der Regenerationsraten betragen weniger als 0,025 g/L\*d. Die Regenerationsraten betragen zu 18,26% mehr als 0,10 g/L\*d. Es wird deutlich, dass sich die Regenerationsraten auf einen sehr großen Bereich verteilen und sehr große interindividuelle Unterschiede vorliegen.

**Tabelle 12: Klasseneinteilung der IgG-Regenerationsraten**

<b>Klasse</b>	<b>RegR<sub>IgG</sub> [g/L*d]</b>
<b>0</b>	RegR <sub>IgG</sub> ≤ 0,025
<b>1</b>	0,025 < RegR <sub>IgG</sub> ≤ 0,050
<b>2</b>	0,050 < RegR <sub>IgG</sub> ≤ 0,075
<b>3</b>	0,075 < RegR <sub>IgG</sub> ≤ 0,100
<b>4</b>	0,100 < RegR <sub>IgG</sub> ≤ 0,125
<b>5</b>	0,125 < RegR <sub>IgG</sub> ≤ 0,150
<b>6</b>	RegR <sub>IgG</sub> > 0,150

Abkürzung: RegR<sub>IgG</sub> = IgG-Regenerationsrate während Spendepause

**Tabelle 13: Verteilung der IgG-Regenerationsraten**

<b>Klasse</b>	<b>Absolute Häufigkeit</b>	<b>Relative Häufigkeit [%]</b>	<b>Absolute kumulative Häufigkeit</b>	<b>Relative kumulative Häufigkeit [%]</b>
<b>0</b>	93	7,19	93	7,19
<b>1</b>	336	25,99	429	33,18
<b>2</b>	359	27,76	788	60,94
<b>3</b>	269	20,80	1057	81,75
<b>4</b>	137	10,60	1194	92,34
<b>5</b>	58	4,49	1252	96,83
<b>6</b>	41	3,17	1293	100,00

Für die Prognose der IgG-Regenerationsrate wurde eine Kovarianzanalyse durchgeführt. Sie ergab ergänzend zu den bereits dargestellten Parametern auch die vorliegende Anzahl der im Spendezeitraum geleisteten Vollblutspenden (nVB). Es zeigte sich, dass sowohl IgGt1 und IgGt2 als auch die Anzahl der Vollblutspenden statistischen Einfluss auf die prognostizierte Regenerationsrate (RegRprog<sub>IgG</sub>) hatten. Der Einfluss dieser Faktoren auf die prognostizierte Regenerationsrate beschreibt folgende Formel:

$$23. \quad \text{RegRprog}_{\text{IgG}} = 0,13462 + 0,01238 * \text{IgGt1} - 0,03266 * \text{IgGt2} + 0,00219 * \text{nVB}$$

Die erforderliche prognostizierte Mindestspendepause (SpPauprog<sub>IgG</sub>) lässt sich für einen Zulassungsgrenzwert von 6,0 g/L wie folgt kalkulieren:

$$24. \quad \text{SpPauprog}_{\text{IgG}} = (6 - \text{IgGt2}) / \text{RegRprog}_{\text{IgG}}$$

Nach Einsetzen von Formel 23 in Formel 24 erhält man:

$$25. \quad \text{SpPauprog}_{\text{IgG}} = (6 - \text{IgGt2}) / 0,13462 + 0,01238 * \text{IgGt1} - 0,03266 * \text{IgGt2} + 0,00219 * \text{nVB}$$

Die erforderliche Mindestsperrdauer (SpPauprog<sub>IgG</sub>) kann somit bei Vorliegen aller erforderlichen Daten (IgGt1, IgGt2 und nVB) nach Formel 25 prognostiziert werden. Sie wurde mit der tatsächlich stattgehabten Spendepause (SpPau) verglichen (Tabelle 14):

- Bei einem Konfidenzintervall von 95% fiel die prognostizierte Spendepause für 46,5% (n = 601) der Spender kürzer aus als die tatsächlich stattgefundene Spendepause (SpPauprog<sub>IgG</sub> < SpPau). Diese Spender hätten bereits früher wieder spenden können. Die tatsächliche Spendepause war länger als erforderlich. Bei einem Konfidenzintervall von 99% betraf dies noch 16,2% der Spender (n = 209).

Der Vergleich von prognostizierter erforderlicher Mindestsperrdauer (SpPauprog<sub>IgG</sub>) und laut aktueller Richtlinien vorgeschriebener Mindestsperrdauer von 21 Tagen ergab:

- Bei einem Konfidenzintervall von 95% hätten 43,7% der Spender (n = 565) bereits vor Ablauf der vorgeschriebenen Mindestspendepause von 21 Tagen bereits wieder spenden können. Bei einem Konfidenzintervall von 99% betraf dies noch 15% Spender (n = 194).

**Tabelle 14: Prognostizierte, tatsächliche und vorgeschriebene Mindestspendepause (IgG)**

Konfidenzintervall (%)	SpPauprog <sub>IgG</sub> > SpPau		SpPauprog <sub>IgG</sub> < SpPau		SpPauprog <sub>IgG</sub> > 21 Tage		SpPauprog <sub>IgG</sub> < 21 Tage	
	Absolut [n]	Relativ [%]	Absolut [n]	Relativ [%]	Absolut [n]	Relativ [%]	Absolut [n]	Relativ [%]
<b>95</b>	692	53,5	601	46,5	728	56,3	565	43,7
<b>99</b>	1084	83,8	209	16,2	1099	85,0	194	15,0

Abkürzungen: SpPauprog<sub>IgG</sub> = prognostizierte Spendepause, SpPau = tatsächlich stattgehabte Spendepause.

Erläuterung: vorgeschriebene Mindestspendepause nach Richtlinien -> 21 Tage

#### 4.1.2. Gesamteiweiß

Die Auswertung der GEW-Daten beinhaltete 1167 Datensätze. Einen Überblick gibt Tabelle 15. Für keinen Parameter lag eine Normalverteilung der Ergebnisse vor.

##### Serumkonzentrationen

Die GEW-Konzentration bei Erstzulassung zur Spende (GEWt1) lag im Median bei 72 g/L. Sie fiel im Rahmen der Spendetätigkeit auf 58 g/L (GEWt2) ab und regenerierte während der Spendepause auf 67 g/L. Entsprechend den IgG-Konzentrationen erreichten auch die GEW-Konzentrationen im Serum nach der Spendepause das Ausgangsniveau vor Beginn der Spendetätigkeit nicht. Einer Reduktion von 13 g/L während der Spendezeit (DiffGEWt12) stand eine Erhöhung um 9 g/L während der Spendepause (DiffGEWt32) entgegen. GEWt1- und GEWt3-Konzentrationen unterschieden sich signifikant ( $p < 0,0001$ ).

Vor Beginn der Spendetätigkeit lag die GEW-Konzentration von fast 70% der Spender über 70 g/L. Für 7% der Spender wurden Konzentrationen von  $\geq 80$  g/L bestimmt. Nach der GEW-bedingten Rückstellung konnten diese Konzentrationen nur noch von 1,3% der Spender erreicht werden. Der Anteil der Spender, deren GEW-Konzentrationen im Bereich des für die Spenderzulassung geltenden Grenzwertes von 60,0 g/L lagen (60,00 bis 64,99 g/L), erhöhte sich durch die Spendetätigkeit deutlich von 4,6% vs. 26,4% (Tabelle 16, Tabelle 18). Die erniedrigten, zur Rückstellung führenden GEWt2-Konzentrationen befanden sich zu 96% im Konzentrationsbereich nahe dem Grenzwert (55,00 bis 59,99 g/L). Sehr niedrige Konzentrationen von  $\leq 49,99$  g/L traten mit einer Häufigkeit von weniger als 1% auf (Tabelle 17). Abbildung 11 stellt die Verteilung der GEW-Konzentrationen zu Beginn der Spendetätigkeit (GEWt1), zum Zeitpunkt der Rückstellung (GEWt2) und bei Wiederaufnahme der Spendetätigkeit (GEWt3) dar.

**Tabelle 15: GEW Datenüberblick-Retrospektiver Teil**

	<b>GEWt1</b> [g/L]	<b>GEWt2</b> [g/L]	<b>GEWt3</b> [g/L]	<b>SpFrequ</b> [n/Woche]	<b>SpPau</b> [d]	<b>RegR<sub>GEW</sub></b> [g/L*d <sup>-1</sup> ]	<b>DiffGEWt12</b> [g/L]	<b>DiffGEWt32</b> [g/L]	<b>SpZeit</b> [d]
<b>n</b>	1167	1167	1167	1167	1167	1167	1167	1167	1167
<b>Min</b>	60,00	33,00	60,00	0,01	14,00	0,05	1,00	1,00	11,00
<b>Max</b>	91,00	59,00	88,00	1,71	21,00	3,07	36,00	46,00	2632,00
<b>MW</b>	71,96	57,94	67,94	0,74	16,65	0,61	14,01	10,00	438,50
<b>Med</b>	72,00	58,00	67,00	0,73	16,00	0,57	13,00	9,00	143,00
<b>SD</b>	4,92	1,87	4,69	0,33	2,74	0,32	5,32	5,15	603,64
<b>SE MW</b>	0,144	0,055	0,137	0,009	0,080	0,009	0,156	0,151	17,670
<b>VK</b>	6,83	3,22	6,90	45,08	16,47	52,26	37,49	51,46	137,66
<b>Range</b>	31,00	26,00	28,00	1,70	7,00	3,02	35,00	45,00	2621,00
<b>KS*</b>	<0,001	<0,001	<0,001	0,034	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Abkürzungen: GEWt1 = GEW-Ausgangskonzentration, GEWt2 = zur Sperre führende GEW-Konzentration, GEWt3 = GEW-Konzentration nach Ablauf der Sperre, DiffGEWt12 = GEW-Konzentrationsabfall während der Spendetätigkeit, DiffGEWt32 = GEW-Konzentrationsanstieg während der Sperre, SpFrequ = Spendefrequenz während der Spendetätigkeit, SpPau = Spendepause, RegR<sub>GEW</sub> = GEW-Regenerationsrate während der Sperre, SpZeit = Spendezeit bis zur Sperre

\*Kolmogorov-Smirnov Test

**Tabelle 16: Verteilung der GEW-Konzentrationen zu Beginn der Spendetätigkeit (GEWt1)**

<b>Klasse</b>	<b>GEWt1</b> [g/L]	<b>Absolute Häufigkeit</b> [n]	<b>Relative Häufigkeit</b> [%]	<b>Absolute kumulative Häufigkeit</b> [n]	<b>Relative kumulative Häufigkeit</b> [%]
<b>0</b>	60,00-64,99	54	4,62	54	4,62
<b>1</b>	65,00-69,99	322	27,59	376	32,21
<b>2</b>	70,00-74,99	469	40,19	845	72,40
<b>3</b>	75,00-79,99	235	20,14	1080	92,54
<b>4</b>	≥ 80,00	87	7,46	1167	100,00

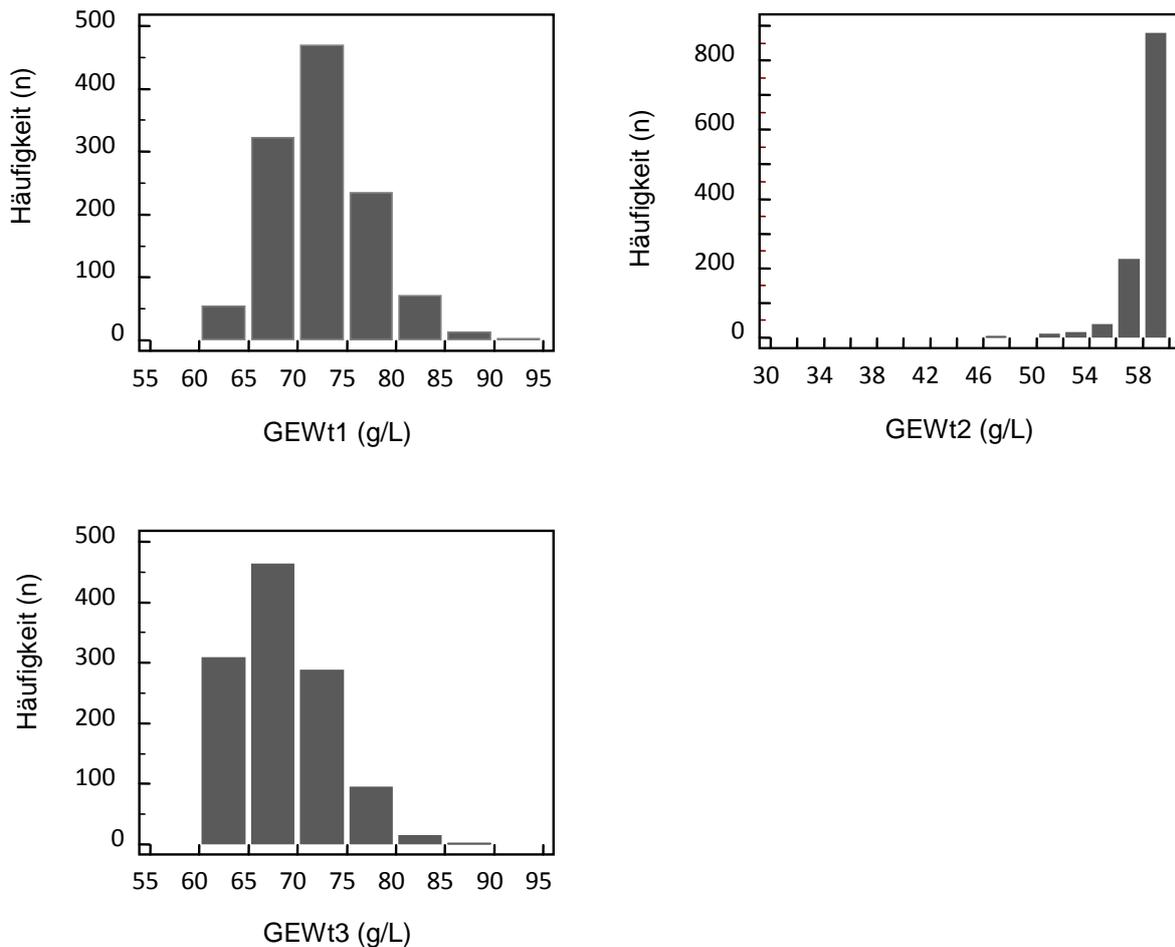
**Tabelle 17: Verteilung der zur Rückstellung führenden GEW-Konzentrationen (GEWt2)**

<b>Klasse</b>	<b>GEWt2</b> [g/L]	<b>Absolute Häufigkeit</b> [n]	<b>Relative Häufigkeit</b> [%]	<b>Absolute kumulative Häufigkeit</b> [n]	<b>Relative kumulative Häufigkeit</b> [%]
<b>0</b>	≤ 49,99	8	0,69	8	0,69
<b>1</b>	50,00-54,99	34	2,91	42	3,60
<b>2</b>	55,00-59,99	1125	96,40	1167	100,00

**Tabelle 18: Verteilung der GEW-Konzentrationen nach Ablauf der Rückstellung (GEWt3)**

<b>Klasse</b>	<b>GEWt3</b> [g/L]	<b>Absolute Häufigkeit</b> [n]	<b>Relative Häufigkeit</b> [%]	<b>Absolute kumulative Häufigkeit</b> [n]	<b>Relative kumulative Häufigkeit</b> [%]
<b>0</b>	60,00-64,99	308	26,40	54	26,40
<b>1</b>	65,00-69,99	463	39,67	376	66,07
<b>2</b>	70,00-74,99	287	24,59	845	90,66
<b>3</b>	75,00-79,99	94	8,05	1080	98,8
<b>4</b>	≥ 80,00	15	1,29	1167	100,00

**Abbildung 11: Häufigkeitsverteilung von GEWt1, GEWt2 und GEWt3**



Abkürzungen: GEWt1 = GEW-Konzentration vor Beginn der Spendetätigkeit, GEWt2 = GEW-Konzentration zu Beginn der Rückstellung, GEWt3 = GEW-Konzentration nach Ablauf der Rückstellung

### Spendezeit und Spendefrequenz

Es vergingen im Median 143 Tage bis zur ersten GEW-bedingten Rückstellung, die Datenvarianz war sehr groß (VK = 137,66%). Die Spendefrequenzen verteilten sich auf eine große Spannweite von 0,01 bis 1,71 Spenden pro Woche. Der Median lag bei 0,73 Spenden pro Woche.

### Spendepause

Die Spendepause wurde durch die aktuell gültigen Richtlinien und die Anwendung der im Vorfeld definierten Ausschlusskriterien bereits auf einen Zeitraum von 14 bis 21 Tagen eingeschränkt. Innerhalb dieses Zeitraums betrug die Spendepause im Median 16 Tage.

## GEW-Regenerationsrate

Die Regenerationsrate während der Spende pause betrug im Median 0,57 g/L pro Tag. Sie schwankte bei großer Varianz von 0,05 - 3,07 g/L pro Tag. Ihre Verteilung ist in Tabelle 19 aufgeführt. Über 85% der Regenerationsraten lagen im Bereich bis 0,99 g/L pro Tag. Lediglich 0,5% der Spender wiesen Regenerationsraten von 1,5 g/L pro Tag oder mehr auf.

**Tabelle 19: Verteilung der GEW-Regenerationsraten (RegR<sub>GEW</sub>)**

<b>Klasse</b>	<b>RegR<sub>GEW</sub></b> [g/L*d]	<b>Absolute Häufigkeit</b> [n]	<b>Relative Häufigkeit</b> [%]	<b>Absolute kumulative Häufigkeit</b> [n]	<b>Relative kumulative Häufigkeit</b> [%]
<b>0</b>	< 0,5	476	40,80	476	40,80
<b>1</b>	0,5-0,99	533	45,67	1009	86,47
<b>2</b>	1,00-1,49	152	13,02	1161	99,49
<b>3</b>	≥ 1,50	6	0,51	1167	100,00

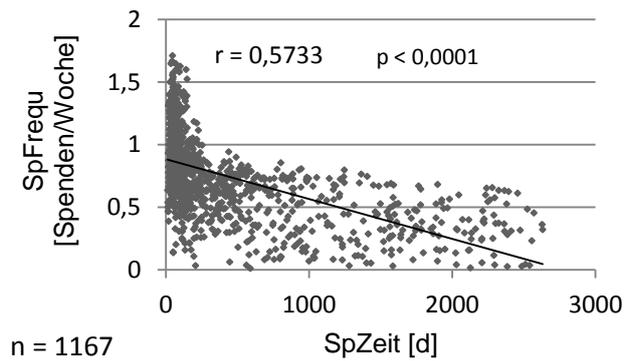
## Korrelationen

Eine Übersicht der Kreuzkorrelationen gibt Tabelle 20. Starke Korrelationen ergaben sich lediglich für Zusammenhänge, bei denen der eine Parameter gleichzeitiger Bestandteil der Berechnung des anderen Parameters war:

- Konzentrationsdifferenz während der Spende pause und Regenerationsrate ( $r = 0,943$ ,  $p < 0,001$ )
- GEW Ausgangskonzentration und Konzentrationsverlust während der Spendezeit ( $r = 0,936$ ,  $p < 0,01$ )
- Konzentrationsdifferenz während der Spende pause und Serumkonzentration nach der Spende pause ( $r = 0,932$ ,  $p < 0,01$ )
- Regenerationsrate und Serumkonzentration nach der Spende pause ( $r = 0,885$ ,  $p < 0,001$ )
- Spendefrequenz und der Spendezeit bis zur ersten GEW-bedingten Rückstellung ( $r = -0,573$ ,  $p < 0,0001$ )

Dabei ging eine hohe Spendefrequenz mit einem verkürzten Zeitfenster bis zur Rückstellung einher (Abbildung 12). Im Bereich hoher Spendefrequenzen liegt eine große Abhängigkeit zwischen Spendefrequenz und Dauer bis zur ersten GEW-bedingten Rückstellung vor: Je höher hier die Spendefrequenz, desto weniger Zeit vergeht bis zur ersten GEW-bedingten Rückstellung. Geringe Spendefrequenzen hingegen zeigen einen geringeren Einfluss auf die Spendezeit bis zur ersten Rückstellung.

**Abbildung 12: Kurze Spendezeit bei hoher Spendefrequenz**



Abkürzungen: SpFrequ = Spendefrequenz, SpZeit = Spendezeit

Die Dauer der Spendepause hatte keinen Einfluss auf die Höhe des nach der Spendepause erreichten GEWt3-Wertes ( $r = 0,105$ ,  $p = 0,0003$ ). Für die GEW-Konzentrationen der einzelnen Bestimmungszeitpunkte t1 bis t3 konnte ebenfalls kein Zusammenhang untereinander festgestellt werden ( $p < 0,05$ ). Die Spendefrequenz beeinflusste die Regeneration während der Spendepause nicht ( $r = -0,02$ ,  $p < 0,05$ ).

Tabelle 20: Zusammenhang von GEW-Konzentrationen und Spendedaten

	GEWt1	GEWt2	GEWt3	nIP	nVB	DiffGEWt32	SpPau	RegR <sub>GEW</sub>	DiffGEWt12	SpZeit	SpFrequ
<b>GEWt1</b>	1,000	-0,032	0,232	0,129	0,029	0,223	-0,005	0,219	0,936	0,076	0,045
<b>GEWt2</b>		1,000	-0,057	0,085	0,072	-0,415	-0,086	-0,375	-0,381	0,064	-0,021
<b>GEWt3</b>			1,000	0,168	0,185	0,932	0,105	0,885	0,235	0,160	-0,038
<b>nIP</b>				1,000	0,611	0,122	-0,058	0,141	0,089	0,811	-0,281
<b>nVB</b>					1,000	0,143	-0,004	0,144	0,002	0,580	-0,285
<b>DiffGEWt32</b>						1,000	0,127	0,943	0,352	0,123	-0,027
<b>SpPau</b>							1,000	-0,172	0,025	-0,020	-0,022
<b>RegR<sub>GEW</sub></b>								1,000	0,334	0,129	-0,020
<b>DiffGEWt12</b>									1,000	0,048	0,049
<b>SpZeit</b>										1,000	-0,573
<b>SpFrequ</b>											1,000

Angaben als Korrelationskoeffizient r

Abkürzungen:

GEWt1 = GEW-Konzentration vor Beginn der Spendetätigkeit, GEWt2 = GEW-Konzentration bei Rückstellung, GEWt3 = GEW-Konzentration nach Ablauf der Sperre, RegR<sub>GEW</sub> = GEW-Regenerationsrate, SpFrequ = Spendefrequenz, SpPau = Spendepause, DiffGEWt12 = GEW-Konzentrationsabfall während Spendetätigkeit, DiffGEWt32 = GEW-Konzentrationsanstieg während Rückstellung, nIP = Anzahl der Plasmaspenden, nVB = Anzahl der Vollblutspenden, SpZeit = Spendezeitraum bis Rückstellung

Farblegende: dunkelgrau: r > 0,900; hellgrau: r > 0,500

### Prognose der erforderlichen Mindestsperrdauer

Die Kovarianzanalyse ergab für das GEW einen statistischen Einfluss von GEWt1, GEWt2, Anzahl der geleisteten Vollblutspenden (nVB) und Anzahl der geleisteten Plasmaspenden (nIP) auf die Regenerationsrate. Er lässt sich wie folgt beschreiben:

$$26. \quad \text{RegRprog}_{\text{GEW}} = 3.46217 + 0.01252 * \text{GEWt1} - 0.06551 * \text{GEWt2} + 0.00065 * \text{nIP} \\ + 0.02136 * \text{nVB}$$

Unter Berücksichtigung des für die Spenderzulassung gültigen Grenzwertes von 60,0 g/L ergibt sich für die Prognose der erforderlichen Mindestspendepause ( $\text{SpPauprog}_{\text{GEW}}$ ):

$$27. \quad \text{SpPauprog}_{\text{GEW}} = (60 - \text{GEWt2}) / \text{RegRprog}_{\text{GEW}}$$

Durch Einsetzen folgt daraus:

$$28. \quad \text{SpPauprog}_{\text{GEW}} = (60 - \text{GEWt2}) / 3.46217 + 0.01252 * \text{GEWt1} - 0.06551 * \text{GEWt2} \\ + 0.00065 * \text{nIP} + 0.02136 * \text{nVB}$$

Analog zum IgG wurde auch für das GEW die prognostizierte Mindestspendepause mit der tatsächlich stattgefundenen Spendepause und der vorgeschriebenen Mindestspendepause von 14 Tagen verglichen (

Tabelle 21). Dabei stellte sich heraus, dass 48,8% der Spender (n = 570) bereits vor ihrer tatsächlichen Wiedervorstellung hätten spenden können (Konfidenzintervall 95%). 42,5% der Spender (n = 496) hätten vor Ablauf der vorgeschriebenen 14tägigen Mindestspendepause wieder zugelassen werden dürfen (Konfidenzintervall 95%).

**Tabelle 21: Prognostizierte, tatsächliche und vorgeschriebene Mindestspendepause (GEW)**

Konfidenz- intervall (%)	SpPauprog <sub>GEW</sub> > SpPau		SpPauprog <sub>GEW</sub> < SpPau		SpPauprog <sub>GEW</sub> > 14 Tage		SpPauprog <sub>GEW</sub> < 14 Tage	
	Absolut	Relativ	Absolut	Relativ	Absolut	Relativ	Absolut	Relativ
	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]	[n]	[%]
<b>95</b>	597	51,2	570	48,8	671	57,5	496	42,5
<b>99</b>	1125	96,4	42	3,6	1136	97,3	31	2,7

Abkürzungen: SpPauprog<sub>GEW</sub> = prognostizierte Spendepause, SpPau = tatsächlich stattgehabte Spendepause.

Erläuterung: vorgeschriebene Mindestspendepause nach Richtlinien 14 Tage

### 4.1.3. Vergleich der IgG- und GEW-Ergebnisse

#### Plasmaproteinkonzentrationen

In beiden Spenderpopulationen waren Spendezeit, Spendefrequenz, Regenerationsrate, IgG- und GEW-Konzentrationsverläufe von sehr großen Varianzen und Spannweiten geprägt. Die Spendezeit bis zur ersten Rückstellung dauerte für das GEW 10 Tage länger als für das IgG (Median: 143 Tage versus 133 Tage). Sowohl in der IgG- als auch in der GEW-Gruppe konnten die Serumkonzentrationen nach der Spendepause den jeweiligen Ausgangslevel vor Beginn der Spendetätigkeit nicht wieder erreichen. Die IgG-Konzentrationen, die zu einer Rückstellung führten, unterschritten ihre Zulassungsgrenze prozentual stärker als die GEW-Serumkonzentrationen ihre Zulassungsgrenze. Mit einer Konzentration von im Median 5,6 g/L lag der zur Rückstellung führende IgGt2-Wert 6,7% unter dem Grenzwert von 6,0 g/L. Im Vergleich hierzu unterschritt die GEWt2-Konzentration ihren Grenzwert von 60,0 g/L um 3,3%. Im Rahmen der Spendetätigkeit reduzierte sich das GEW um 18%, das IgG um 38%. Die IgG-Regenerationsrate lag erwartungsgemäß deutlich unter der GEW-Regenerationsrate.

#### Korrelationen

Die im Rahmen der IgG-Untersuchungen gefundenen Korrelationen konnten für die GEW-Datengruppe nicht beschrieben werden (Tabelle 22). Die GEW-Konzentration vor Beginn der Spendetätigkeit stand in keinem Zusammenhang zur GEW-Konzentration nach Ablauf der Rückstellungszeit oder zur Regenerationsrate ( $r = 0,232$  bzw.  $r = 0,219$ ,  $p < 0,0001$ ). Insgesamt konnten für GEW-Parameter, die nicht auch Bestandteil ihrer gegenseitigen Berechnung waren, keine guten Korrelationen gefunden werden. Ein leicht negativer Einfluss der Spendefrequenz auf die Dauer der Spendezeit bis zur ersten Rückstellung ließ sich für beide Proteinparameter finden (Tabelle 22). Spendepause und Spendefrequenz hatten keinen Einfluss auf den Verlauf der IgG-/GEW-Plasmaproteinkonzentrationen.

**Tabelle 22: Vergleich der IgG-/GEW-Relevanz ausgewählter Korrelationskoeffizienten**

Relevanz	Parameterzusammenhang	Korrelationskoeffizient nach Plasmaprotein (r)	
		IgG	GEW
<b>IgG</b>	IgGt1/GEWt1 vs. IgGt3/GEWt3	0,52 (p<0,0001)	0,23 (p<0,0001)
	IgGt1/GEWt1 vs. RegR <sub>IgG/GEW</sub>	0,48 (p<0,0001)	0,22 (p<0,0001)
	DiffIlgGt12/DiffGEWt12 vs. RegR <sub>IgG/GEW</sub>	0,53 (p<0,001)	0,33 (p<0,0001)
	DiffIlgGt12/DiffGEWt12 vs. DiffIlgGt32/DiffGEWt32	0,53 (p<0,0001)	0,35 (p<0,0001)
<b>GEW und IgG</b>	SpZeit vs. SpFrequ	-0,60 (p<0,01)	-0,57 (p<0,001)
	SpZeit vs. nIP	0,71 (p<0,0001)	0,81 (p<0,0001)

Abkürzungen: IgG/GEWt1 = IgG/GEW-Konzentration vor Beginn der Spendetätigkeit, IgG/GEWt3 = IgG/GEW-Konzentration nach Ablauf der Sperre, RegR<sub>IgG/GEW</sub> = IgG/GEW-Regenerationsrate, SpFrequ = Spendefrequenz, SpPau = Spendepause, DiffIlgG/GEWt12 = IgG/GEW-Konzentrationsabfall während Spendetätigkeit, DiffIlgG/GEWt32 = IgG/GEW-Konzentrationsanstieg während Rückstellung, nIP = Anzahl der Plasmaspenden, SpZeit = Spendezeitraum bis Rückstellung

### Prognostizierte Mindestsperrdauer

Sowohl für die IgG- als auch für die GEW-Regenerationsrate ließen sich folgende statistisch einflussnehmende Faktoren identifizieren: Die jeweilige Serumkonzentration bei Aufnahme der Spendetätigkeit (IgGt1/GEWt1), die jeweilige zur Rückstellung führende Serumkonzentration (IgGt2/GEWt2) und die Anzahl der Vollblutspenden im Spendezeitraum (nVB). Zusätzlich wurde für das GEW die Anzahl der im Spendezeitraum geleisteten Plasmaspenden (nIP) ermittelt.

Der Anteil der Spender, die bereits vor Ablauf der jeweils vorgeschriebenen Mindestspendepause wieder hätten spenden dürfen und somit länger als nötig zurückgestellt wurden, lag mit 42,5% (GEW) bzw. 43,7% (IgG) auf einem vergleichbaren Niveau ( $p = 0,78$ ). Auch der Anteil an Spendern, die bereits vor ihrem tatsächlichen Wiedervorstellungszeitpunkt hätten spenden dürfen, zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Parametern (48,8% bzw. 46,5%;  $p = 0,56$ ).

#### 4.1.4. Zusammenfassung der Ergebnisse des retrospektiven Teils

Der Einfluss der Plasmapherese auf die IgG-Serumkonzentration unterliegt sehr großen individuellen Unterschieden.

Die vor Beginn der Spendetätigkeit, zu Beginn der Rückstellung und nach Ablauf der Rückstellung bestimmten GEW-Konzentrationen (GEWt1, GEWt2, GEWt3) verhielten sich unabhängig voneinander. Sie stehen vermutlich unter dem Einfluss nicht berücksichtigter Faktoren wie Ernährung, individuelle Lebensweise und Physiologie. Der für das IgG gezeigte Zusammenhang zwischen dem Abfall der Serumkonzentration während des Spendezeitraums (DiffIgGt12) und der Regenerationsrate während der Spendepause (RegR<sub>IgG</sub>) kam in den Ergebnissen der Gesamteiweißbestimmungen nicht zum Ausdruck. Auch der Zusammenhang zwischen Serumkonzentration vor Beginn der Spendetätigkeit (IgGt1) und Serumkonzentration nach Ablauf der Spendepause (IgGt3) konnte für das GEW nicht gezeigt werden. Für IgG und GEW geltende Zusammenhänge beinhalteten ausschließlich proteinunabhängige Faktoren wie Spendezeit, Spendefrequenz oder Spendenanzahl.

In beiden Gruppen wird die Belastung des Plasmaproteinhaushaltes durch die Plasmapherese deutlich. Die Spender erreichten die vor Beginn der Spendetätigkeit bestimmten GEW- und IgG-Konzentrationen nicht wieder.

Die Prognose der Mindestrückstellungsdauer ergab, dass für fast 50% aller zurückgestellten Spender die IgG- bzw. GEW-bedingte Spendepause länger als notwendig war. Sie hätten ihre Spendetätigkeit früher wieder aufnehmen können.

## 4.2. Prospektiver Teil

### 4.2.1. Charakterisierung von Spendern und Spenden

#### BCM - beide Gruppen gesamt

Es wurden 41 Datensätze von 40 Plasmaspendern im Alter von 19 – 62 Jahren, 32 Männer und 8 Frauen, ausgewertet. Das durchschnittliche Alter lag bei 37 Jahren. Der Body Mass Index lag im Mittel bei  $26 \text{ kg/m}^2$ . Das kalkulierte Blutvolumen betrug 5,3 L. Für einen Hämatokrit von 44,2% ergab sich ein mittleres Plasmavolumen von 2,95 L. Es wurden durchschnittlich 798 mL Plasma gespendet (DV). Der Zitratverbrauch (CV) lag bei 159 mL pro Apherese, von denen ca. 84 mL in die Zirkulation des Spenders ( $CV_{SP}$ ) und 75 mL in das Plasmavolumen ( $CV_{PI}$ ) gelangten. Der reine Plasmagehalt einer Spende betrug im Mittel 723 mL im Mittel. Eine Übersicht der erhobenen Spender- und Spendedaten beider Gruppen ist in Tabelle 23, eine Übersicht nach Gruppen getrennt in Tabelle 24 und Tabelle 25 dargestellt. Tabelle 26 zeigt die Daten der in die Auswertung der Verdünnungsfaktoren eingegangenen Datensätze.

**Tabelle 23: Spender- und Spendedaten BCM Gruppe TVN und Gruppe T2d**

	<b>Alter</b> [J]	<b>Größe</b> [cm]	<b>Gewicht</b> [kg]	<b>BMI</b> [kg/m <sup>2</sup> ]	<b>Hb</b> [mmol/L]	<b>HCT</b> [%]	<b>BV</b> [L]	<b>PV</b> [L]	<b>DV</b> [L]	<b>CV</b> [L]	<b>CV<sub>Sp</sub></b> [L]	<b>CV<sub>Pl</sub></b> [L]
<b>n</b>	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41	41
<b>Min</b>	19,00	161,00	56,00	19,40	8,40	39,7	3,71	2,17	0,637	0,128	0,056	0,060
<b>Max</b>	62,00	198,00	152,50	40,10	10,80	53,5	8,23	4,21	0,861	0,199	0,118	0,081
<b>Med</b>	36,00	178,00	80,00	24,70	9,10	43,70	5,33	2,85	0,760	0,156	0,082	0,072
<b>MW</b>	37,34	178,61	83,43	26,01	9,18	44,24	5,32	2,95	0,798	0,159	0,084	0,075
<b>SD</b>	13,73	8,74	18,32	4,45	0,59	2,93	0,90	0,44	0,06	0,016	0,014	0,005
<b>VK</b>	36,76	4,89	21,96	17,12	6,43	6,62	16,97	14,97	7,01	10,05	16,72	7,01
<b>Range</b>	43,00	37,0	96,50	20,70	2,40	13,80	4,52	2,04	0,22	0,074	0,0062	0,021
<b>KS*</b>	0,344	0,644	0,726	0,185	0,666	0,402	0,875	0,498	< 0,001	0,446	0,543	0,027

Abkürzungen: BCM = Body-Composition Monitor, BMI = Body-Mass-Index, Hb = Hämoglobin, BV = Blutvolumen, PV = Plasmavolumen, DV = Spendevolumen, CV = insgesamt verbrauchtes Zitratvolumen, CV<sub>Sp</sub> = Zitratvolumen, das in den Kreislauf des Spenders gelangt, CV<sub>Pl</sub> = Zitratvolumen, das in die Spende gelangt, Gruppe TVN = Impedanzmessung unmittelbar vor und bis 30 Min. nach der Plasmapherese, Gruppe T2d = Impedanzmessung unmittelbar vor und zwei Tage nach der Plasmapherese

\*KS = Kolmogorov-Smirnov-Index

**Tabelle 24: Spender- und Spendedaten BCM Gruppe TVN**

	<b>Alter</b> [J]	<b>Größe</b> [cm]	<b>Gewicht</b> [kg]	<b>BMI</b> [kg/m <sup>2</sup> ]	<b>Hb</b> [mmol/L]	<b>HCT</b> [%]	<b>BV</b> [L]	<b>PV</b> [L]	<b>DV</b> [L]	<b>CV</b> [L]	<b>CVSp</b> [L]	<b>CVPI</b> [L]
<b>n</b>	21	21	21	21	21	21	21	21	21	21	21	21
<b>Min</b>	23,00	165,00	56,00	19,40	8,40	40,70	3,79	2,24	0,757	0,135	0,063	0,071
<b>Max</b>	58,00	198,00	125,00	34,40	10,00	53,50	7,48	4,01	0,861	0,199	0,118	0,081
<b>MW</b>	39,67	177,38	84,71	26,75	9,16	44,77	5,31	2,92	0,803	0,160	0,085	0,076
<b>Med</b>	42,00	177,00	82,00	25,10	9,20	45,20	5,18	2,83	0,760	0,156	0,083	0,072
<b>SD</b>	11,74	8,22	17,94	4,37	0,51	2,95	0,89	0,44	0,051	0,017	0,015	0,005
<b>VK</b>	29,60	4,63	21,18	16,33	5,55	6,58	16,82	14,94	6,37	10,77	17,57	6,37
<b>Range</b>	35,00	33,00	69,00	15,00	1,60	12,80	3,69	1,76	0,104	0,064	0,055	0,010
<b>KS*</b>	0,742	0,798	0,952	0,533	0,497	0,562	0,999	0,806	0,005	0,900	0,4593	0,0049

Abkürzungen: BCM = Body-Composition Monitor, BMI = Body-Mass-Index, Hb = Hämoglobin, HCT = Hämatokrit, BV = Blutvolumen, PV = Plasmavolumen, DV = Spendevolumen, CV = insgesamt verbrauchtes Zitratvolumen, CV<sub>Sp</sub> = Zitratvolumen, das in den Kreislauf des Spenders gelangt, CV<sub>PL</sub> = Zitratvolumen, das in die Spende gelangt, Gruppe TVN = Impedanzmessung unmittelbar vor und bis 30 Min. nach der Plasmapherese

\*KS = Kolmogorov-Smirnov-Index

**Tabelle 25: Spender- und Spendedaten BCM Gruppe T2d**

	<b>Alter</b> [J]	<b>Größe</b> [cm]	<b>Gewicht</b> [kg]	<b>BMI</b> [kg/m <sup>2</sup> ]	<b>Hb</b> [mmol/L]	<b>HCT</b> [%]	<b>BV</b> [L]	<b>PV</b> [L]	<b>DV</b> [L]	<b>CV</b> [L]	<b>CV<sub>Sp</sub></b> [L]	<b>CV<sub>Pl</sub></b> [L]
<b>n</b>	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
<b>Min</b>	19,00	161,00	61,70	19,60	8,40	39,70	3,71	2,17	0,637	0,128	0,056	0,060
<b>Max</b>	62,00	195,00	152,50	40,10	10,80	49,50	8,23	4,21	0,861	0,186	0,110	0,081
<b>MW</b>	34,90	179,90	82,08	25,25	9,21	43,69	5,32	2,98	0,794	0,157	0,083	0,075
<b>Med</b>	27,00	178,50	79,00	24,30	9,00	42,80	5,35	2,89	0,760	0,153	0,080	0,072
<b>SD</b>	15,47	9,28	19,07	4,52	0,68	2,88	0,93	0,46	0,062	0,016	0,013	0,006
<b>VK</b>	44,32	5,16	23,24	17,91	7,37	6,59	17,56	15,30	7,78	10,54	16,09	7,78
<b>Range</b>	43,00	34	90,80	20,50	2,40	9,80	4,52	2,04	0,224	0,061	0,054	0,021
<b>KS**</b>	0,243	0,817	0,273	0,492	0,379	0,715	0,395	0,937	0,035	0,592	0,759	0,042

Abkürzungen: BCM = Body-Composition Monitor, BMI = Body-Mass-Index, Hb = Hämoglobin, HCT = Hämatokrit, BV = Blutvolumen, PV = Plasmavolumen, DV = Spendeolumen, CV = insgesamt verbrauchtes Zitrattvolumen, CV<sub>Sp</sub> = Zitrattvolumen, das in den Kreislauf des Spenders gelangt, CV<sub>Pl</sub> = Zitrattvolumen, das in die Spende gelangt, Gruppe T2d = Impedanzmessung unmittelbar vor und zwei Tage nach der Plasmapherese

\*KS = Kolmogorov-Smirnov-Index

**Tabelle 26: Spender- und Spendedaten Gruppe Plasmaprotein-Verdünnungsfaktoren**

	<b>Alter</b> [J]	<b>Größe</b> [cm]	<b>Gewicht</b> [kg]	<b>BMI</b> [kg/m <sup>2</sup> ]	<b>Hb</b> [mmol/L]	<b>HCT</b> [%]	<b>BV</b> [L]	<b>PV</b> [L]	<b>DV</b> [L]	<b>CV</b> [L]	<b>CV<sub>Sp</sub></b> [L]	<b>CV<sub>Pl</sub></b> [L]
<b>n</b>	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49	49
<b>Min</b>	19,00	161,00	56,00	17,30	8,10	38,20	3,71	2,17	0,637	0,128	0,056	0,060
<b>Max</b>	62,00	198,00	152,50	40,10	10,80	53,50	8,23	4,21	0,861	0,199	0,118	0,081
<b>MW</b>	35,29	178,00	83,17	26,17	9,19	44,26	5,28	2,93	0,795	0,160	0,085	0,075
<b>Med</b>	31,50	178,00	80,50	24,70	9,05	43,75	5,27	2,83	0,760	0,156	0,083	0,072
<b>SD</b>	13,55	8,55	18,08	4,79	0,63	2,96	0,87	0,43	0,054	0,016	0,014	0,005
<b>VK</b>	38,39	4,80	21,74	18,31	6,85	6,69	16,41	14,53	6,80	10,17	16,78	6,80
<b>Range</b>	43,00	37,00	96,50	22,80	2,70	15,30	4,52	2,04	0,224	0,071	0,062	0,021
<b>KS*</b>	0,160	0,805	0,506	0,118	0,588	0,513	0,922	0,340	<0,001	0,473	0,533	0,024

Abkürzungen: BMI = Body-Mass-Index, Hb = Hämoglobin, HCT = Hämatokrit, BV = Blutvolumen, PV = Plasmavolumen, DV = Spendevolumen, CV = insgesamt verbrauchtes Zitratvolumen, CV<sub>Sp</sub> = Zitratvolumen, das in den Kreislauf des Spenders gelangt, CV<sub>Pl</sub> = Zitratvolumen, das in die Spende gelangt

\* KS = Kolmogorov-Smirnov-Index

## **4.2.2. Bioimpedanzspektroskopie**

Die Bioimpedanzspektroskopie ermittelte Volumenangaben zu Gesamtkörperwasser, dessen Verteilung auf den Extra- und Intrazellularraum, sowie Informationen über den Hydratationsstatus des Spenders (Überwässerung). Bekanntes extrazelluläres Flüssigkeitsvolumen (ECW) und Plasmavolumen ermöglichten die Kalkulation des interstitiellen Volumens. Insgesamt konnten somit Volumenbestimmungen aller Körperkompartimente vor und nach Plasmapherese erfolgen. Die Ergebnisse der beiden Messregime (Gruppe TVN vs. Gruppe T2d) wurden anschließend miteinander verglichen.

### **4.2.2.1. Gruppe TVN**

Die Bioimpedanzmessung in Gruppe TVN erfolgte unmittelbar vor und bis 30 Min. nach der Plasmapherese. Dieses Messregime verfolgte das Ziel, kurzfristige Volumenveränderungen im Rahmen der Apherese zu identifizieren.

Das durchschnittliche Spendenvolumen betrug in dieser Gruppe 0,803 L (Tabelle 24). Das Gesamtkörperwasser reduzierte sich während der Spende leicht um durchschnittlich 0,13 L von 44,48 L auf 44,35 L. Dies entsprach einem Anteil von 0,3%. Das extrazelluläre Wasser verringerte sich um 0,23 L von 19,53 L auf 19,30 L. Dies entspricht einem Anteil von 1,18%. Das intrazelluläre Wasservolumen stieg um 90 mL von 24,95 L auf 25,04 L (Tabelle 27).

Vor der Spende betrug das durchschnittliche überschüssige Flüssigkeitsvolumen als Marker einer positiven Hydratationsbilanz 0,62 L (Überwässerung, OH). Nach der Spende reduzierte es sich auf 0,30 L. Bei großer Variabilität der Messdaten wurde für fast 30% der Spender vor Beginn der Plasmapherese eine negative Hydratationsbilanz aufgezeigt. Das größte Volumendefizit vor der Spende betrug 0,60 L. Nach der Spende lag es mit 1,20 L deutlich darüber (Tabelle 28).

Tabelle 27: Flüssigkeitskompartimente vor und nach Plasmapherese Gruppe TVN

	Gesamtkörperwasser (TBW)			Extrazellulärwasser (ECW)			Intrazellulärwasser (ICW)		
	TBW Prä	TBW Post	TBW Diff	ECW Prä	ECW Post	ECW Diff	ICW Prä	ICW Post	ICW Diff
	[L]	[L]	[L]	[L]	[L]	[L]	[L]	[L]	[L]
<b>n</b>	21	21	21	21	21	21	21	21	21
<b>Min</b>	31,50	31,50	-3,10	13,60	13,60	-1,30	17,30	17,40	-1,80
<b>Max</b>	64,10	63,20	2,60	28,50	27,80	0,60	35,70	35,40	1,90
<b>MW</b>	44,48	44,35	-0,13	19,53	19,30	-0,23	24,95	25,04	0,09
<b>Med</b>	44,40	44,90	-0,10	18,80	18,90	-0,20	25,60	25,80	0,10
<b>SD</b>	8,58	8,30	1,34	3,99	3,88	0,46	4,77	4,61	0,90
<b>VK</b>	19,29	18,73	-1040,3	20,44	20,12	-201,98	19,13	18,40	1047,6
<b>Range</b>	32,60	31,70	5,70	14,90	14,20	1,90	18,40	18,00	3,70
<b>KS*</b>	0,886	0,968	0,882	0,990	0,969	0,910	0,559	0,635	0,734

Abkürzungen: Prä = vor der Plasmapherese, Post = nach der Plasmapherese, Diff = Differenz zwischen vor und nach der Plasmapherese, Gruppe TVN = Impedanzmessungen unmittelbar vor und bis 30 Minuten nach Plasmapherese

\*KS = Kolmogorov-Smirnov-Index

Tabelle 28: Überwässerung vor und nach Plasmapherese Gruppe TVN

	Überwässerung (OH)			Relative Überwässerung ECW (Rel. OH ECW)		
	OH Prä	OH Post	OH Diff	Rel. OH ECW Prä	Rel. OH ECW Post	Rel. OH ECW Diff
	[L]	[L]	[L]	[%]	[%]	[%]
<b>n</b>	21	21	21	21	21	21
<b>Min</b>	-0,60	-1,20	-0,70	-3,20	-6,60	-4,10
<b>Max</b>	2,70	2,40	0,10	10,40	10,20	0,70
<b>MW</b>	0,62	0,30	-0,32	2,80	1,20	-1,59
<b>Med</b>	0,40	0,00	-0,30	1,90	0,20	-1,40
<b>SD</b>	0,98	1,03	0,19	4,35	4,88	1,10
<b>VK</b>	156,73	339,33	-59,15	155,72	405,31	-69,22
<b>Range</b>	3,30	3,60	0,80	13,60	16,80	4,80
<b>KS*</b>	0,744	0,697	0,034	0,859	0,858	0,267

Abkürzungen: ECW = Extrazelluläres Wasser, prä = vor der Plasmapherese, post = nach der Plasmapherese, Diff = Differenz zwischen vor und nach der Plasmapherese, Gruppe TVN = Impedanzmessungen unmittelbar vor und bis 30 Minuten nach Plasmapherese

\*KS = Kolmogorov-Smirnov-Index

Insgesamt konnte in dieser Gruppe gezeigt werden, dass der extrazelluläre Raum der Ort der Volumenkompensation während und innerhalb der ersten 30 Min. nach der Plasmapherese ist. Der extrazelluläre Raum bietet ausreichend und schnell verfügbares Volumen für die Kompensation einer durch die Plasmapherese induzierten passageren Hypovolämie. Er unterliegt der größten Volumenschwankung. Der intrazelluläre Raum unterlag geringeren Volumenschwankungen und lässt somit eine geringere Beteiligung an den Kompensationsmechanismen erkennen.

#### **4.2.2.2. Gruppe T2d**

Die Bioimpedanzmessung in Gruppe T2d erfolgte unmittelbar vor und am 2. Tag nach Plasmapherese. Dieses Messregime sollte längerfristige Volumenflüsse untersuchen. Da eine erneute Spende am zweiten Tag nach bereits geleisteter Spende nicht zugelassen ist, kamen die Spender entsprechend unvorbereitet zur BCM-Messung.

Das durchschnittliche Spendenvolumen in dieser Gruppe betrug 0,794 L. Das Gesamtkörperwasser reduzierte sich zwischen beiden Messungen um 260 mL (0,6%). Das extrazelluläre Volumen zeigte ebenfalls nur geringe Veränderungen von 90 mL (0,5%). Die größte Volumendynamik wurde im intrazellulären Raum festgestellt. Hier verminderte sich das Flüssigkeitsvolumen um 340 mL (1,3%). Vor der Spende betrug das intrazelluläre Volumen 25,21 L, zwei Tage nach der Spende 24,88 L. Das überschüssige Flüssigkeitsvolumen (Überwässerung, OH) als Marker für eine positive Hydratationsbilanz nahm in den beiden Tagen nach der Plasmapherese deutlich um 0,27 L von 0,28 L auf 0,55 L zu. Das größte Hydratationsdefizit vor der Spende lag bei 1,7 L, zwei Tage nach der Spende bei 1,4 L. Für die berechneten Vorher-Nachher-Differenzen der einzelnen Volumenparameter ergaben sich sehr hohe Variationskoeffizienten. Auch die Variabilität der Überwässerung innerhalb der Spenderpopulation war hoch (Tabellen 29 und 30).

Insgesamt konnten zwei Tage nach der Plasmapherese keine verfahrensbedingten Volumenveränderungen im durch die Plasmapherese am stärksten beeinflussten Extrazellulärraum mehr identifiziert werden. Der Intrazellulärraum stellte in dieser Gruppe das Kompartiment mit der größten Volumenveränderung dar.

Tabelle 29: Flüssigkeitskompartimente vor und nach Plasmapherese Gruppe T2d

	Gesamtkörperwasser (TBW)			Extrazelluläres Wasser (ECW)			Intrazelluläres Wasser (ICW)		
	TBW Prä	TBW Post	TBW Diff	ECW Prä	ECW Post	ECW Diff	ICW Prä	ICW Post	ICW Diff
	[L]	[L]	[L]	[L]	[L]	[L]	[L]	[L]	[L]
<b>n</b>	20	20	20	20	20	20	20	20	20
<b>Min</b>	28,10	29,20	-2,80	12,30	12,80	-1,00	15,60	16,40	-1,90
<b>Max</b>	61,80	62,20	4,90	29,50	29,80	1,60	34,10	34,00	3,30
<b>MW</b>	44,22	43,96	-0,26	19,00	19,09	0,09	25,21	24,88	-0,34
<b>Med</b>	44,25	43,30	-0,35	18,95	18,50	0,15	25,65	24,45	-0,40
<b>SD</b>	8,16	8,05	1,79	3,74	3,67	0,66	4,74	4,70	1,27
<b>VK</b>	18,46	18,32	-700,53	19,67	19,24	732,52	18,79	18,90	-379,85
<b>Range</b>	33,70	33,00	7,70	17,20	17,00	2,60	18,50	17,60	5,20
<b>KS*</b>	0,939	0,401	0,898	0,883	0,794	0,756	0,884	0,550	0,912

Abkürzungen: Prä = vor der Plasmapherese, Post = nach der Plasmapherese, Diff = Differenz zwischen vor und nach der Plasmapherese, Gruppe T2d = Impedanzmessungen unmittelbar vor und zwei Tage nach der Plasmapherese

\*KS = Kolmogorov-Smirnov-Index

Tabelle 30: Überwässerung vor und nach Plasmapherese Gruppe T2d

	Überwässerung (OH)			Relative Überwässerung ECW (Rel. OH ECW)		
	OH Prä	OH Post	OH Diff	Rel. OH ECW Prä	Rel. OH ECW Post	Rel. OH ECW Diff
	[L]	[L]	[L]	[%]	[%]	[%]
<b>n</b>	20	20	20	20	20	20
<b>Min</b>	-1,70	-1,40	-1,50	-14,20	-10,90	-7,80
<b>Max</b>	1,70	2,00	0,90	7,40	11,10	5,10
<b>MW</b>	0,28	0,55	0,27	0,96	2,51	1,56
<b>Med</b>	0,40	0,35	0,45	2,05	2,00	2,40
<b>SD</b>	0,96	1,02	0,57	5,58	5,59	3,11
<b>VK</b>	349,96	187,07	211,26	584,81	222,75	200,22
<b>Range</b>	3,40	3,40	2,40	21,60	22,00	12,90
<b>KS*</b>	0,896	0,800	0,354	0,808	0,913	0,480

Abkürzungen: ECW = extrazelluläres Wasser, Prä = vor der Plasmapherese, Post = nach der Plasmapherese, Diff = Differenz zwischen vor und nach der Plasmapherese, Gruppe T2d = Impedanzmessungen unmittelbar vor und zwei Tage nach der Plasmapherese

\*KS = Kolmogorov-Smirnov-Index

#### 4.2.2.3. Vergleich Gruppe TVN vs. Gruppe T2d

Beide Gruppen unterschieden sich hinsichtlich Spenderpopulation (Alter, Größe, Körpergewicht, etc.) und Plasmapheresedaten (Spendevolumen, Spendezeit, Zitratsvolumina) nicht. Die Ergebnisse der BCM-Messungen vor und nach der Plasmapherese unterschieden sich ebenfalls nicht. Für die Vorher-Nachher-Differenz der Überwässerung und des relativen Anteils des extrazellulären Wassers an der Überwässerung hingegen wurden signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen gefunden ( $p < 0,05$ ). Die Vorher-Nachher-Differenzen des extrazellulären Wassers zeigten einen deutlichen Trend, waren aber mit einem p-Wert von 0,055 nicht statistisch signifikant (Tabelle 31).

Tabelle 31: Vergleich Spender-, Spende- und BCM-Daten Gruppe TVN und T2d

Gruppe TVN vs. T2d	<b>Alter</b>	<b>Größe</b>	<b>Gewicht</b>	<b>BMI</b>	<b>HB</b>	<b>HCT</b>
p-Wert	0,26	0,36	0,65	0,28	0,79	0,23
Gruppe TVN vs. T2d	<b>BV</b>	<b>PV</b>	<b>DV</b>	<b>CV</b>	<b>CV<sub>Sp</sub></b>	<b>CV<sub>Pl</sub></b>
p-Wert	0,65	0,65	0,61	0,57	0,74	0,59
Gruppe TVN vs. T2d	<b>TBW prä</b>	<b>ECW prä</b>	<b>ICW prä</b>	<b>OH prä</b>	<b>Rel. OH ECW prä</b>	
p-Wert	0,89	0,62	0,87	0,20	0,19	
Gruppe TVN vs. T2d	<b>TBW post</b>	<b>ECW Post</b>	<b>ICW Post</b>	<b>OH Post</b>	<b>Rel. OH ECW post</b>	
p-Wert	0,88	0,83	0,93	0,55	0,52	
Gruppe TVN vs. T2d	<b>TBW Diff</b>	<b>ECW Diff</b>	<b>ICW Diff</b>	<b>OH Diff</b>	<b>Rel. OH ECW Diff</b>	
p-Wert	0,95	0,0559	0,31	0,0002	0,0003	

Abkürzungen: BV = Blutvolumen, PV = Plasmavolumen, DV = Spendevolumen, CV = Zitratsvolumen, CV<sub>Sp</sub> = Zitratsvolumen Spende, CV<sub>Pl</sub> = Zitratsvolumen Spender, TBW = Gesamtkörperwasser, ECW = extrazelluläres Wasser, ICW = Intrazelluläres Wasser, Rel. OH ECW = Relative Überwässerung im ECW, Prä = vor der Plasmapherese, Post = nach der Plasmapherese, Diff = Differenz zwischen vor und nach der Plasmapherese, Gruppe T2d = Impedanzmessungen unmittelbar vor und zwei Tage nach der Plasmapherese, Gruppe TVN = Impedanzmessungen unmittelbar vor und nach der Plasmapherese

#### Gesamtkörperwasser

Ein Vergleich der Volumenverschiebungen von Gruppe TVN und Gruppe T2d ließ erkennen, dass das Gesamtkörperwasser in beiden Gruppen von der ersten zur zweiten BCM-Messung abnahm. Die Reduktion fiel in Gruppe T2d jedoch doppelt so stark aus wie in Gruppe TVN (260 mL in Gruppe T2d versus 130 mL in Gruppe TVN).

### Extrazelluläres Wasser

Das extrazelluläre Wasser reduzierte sich in Gruppe TVN um 230 mL, zwei Tage später zeigte sich in Gruppe T2d eine Reduktion um 90 mL. Der extrazelluläre Raum ist das Kompartiment, in das die Plasmapherese durch ihren Volumenentzug direkt eingreift. War das Defizit kurz nach der Spende noch gut zu erkennen (Gruppe TVN), hat es sich bis zum zweiten Tag nach der Spende bereits reguliert (Gruppe T2d).

### Intrazelluläres Wasser

Das intrazelluläre Volumen änderte sich im unmittelbaren zeitlichen Zusammenhang mit der Plasmapherese nicht (Gruppe TVN). Der Intrazellulärraum präsentierte sich hier als das beständigste Kompartiment. In Gruppe T2d hingegen verringerte es sich deutlich.

### Überwässerung

Die Überwässerung nahm in Gruppe TVN parallel zum Gesamtkörperwasser ab. In Gruppe T2d dagegen verhielt sie sich gegenläufig zum Gesamtkörperwasser und nahm zu. Die relative extrazelluläre Überwässerung nahm in Gruppe TVN ab, in Gruppe T2d zu.

Eine vergleichende Übersicht der einzelnen Volumenveränderungen in beiden Gruppen gibt Tabelle 32.

**Tabelle 32: Zusammenfassende Tabelle der Volumenveränderungen**

<b>Kompartiment</b>	<b>Gruppe TVN</b>		<b>Gruppe T2d</b>	
<b>Gesamtkörperwasser</b>	↓	- 130 mL	↓↓	- 260 mL
<b>Extrazelluläres Wasser</b>	↓	- 230 mL	↔ / ↑	+ 90 mL
<b>Intrazelluläres Wasser</b>	↔ / ↑	+ 90 mL	↓	- 340 mL
<b>Überwässerung</b>	↓	- 320 mL	↑	+ 270 mL
<b>Rel. extrazelluläre Überwässerung</b>	↓	- 1,59%	↑	+ 1,56%

Abkürzungen: TVN = Impedanzmessungen unmittelbar vor und 30 Min. nach der Plasmapherese, T2d = Impedanzmessungen unmittelbar vor und 2 Tage nach der Plasmapherese

#### 4.2.2.4. Bioimpedanzmessung während der Plasmapherese

Der Verlauf entsprach den Ergebnissen in Gruppe TVN. Gesamtkörperwasser, extrazelluläres Wasser und Überwässerung nahmen zwischen erster Messung vor Beginn der Plasmapherese und letzter Messung nach Abschluss der Plasmapherese ab. Das intrazelluläre Wasser reduzierte sich gering, war aber auch hier das Kompartiment mit der geringsten Volumenänderung unmittelbar vor und nach Plasmapherese (Tabelle 33).

Tabelle 33: Körperkompartimente während der Plasmapherese

Kompartiment	Vor PPh	Nach Entnahmezyklus									Nach NaCl	Nach PPh
		1	2	3	4	5	6	7	8	9		
<b>TBW [L]</b>	47,1	47,3	46,8	46,9	47,0	47,1	47,2	46,9	46,7	46,7	46,6	46,5
<b>ECW [L]</b>	21,8	21,6	21,5	21,6	21,4	21,4	21,3	21,2	21,1	21,1	21,1	21,4
<b>ICW [L]</b>	25,4	25,7	25,3	25,4	25,6	25,7	26,0	25,7	25,6	25,5	25,5	25,2
<b>OH [L]</b>	1,5	1,2	1,3	1,3	1,0	0,9	0,7	0,7	0,6	0,7	0,8	1,2
<b>Rel. OH ECW [%]</b>	6,9	5,4	6,0	6,0	4,6	4,1	3,2	3,5	3,1	3,4	3,6	5,4

n = 1

Abkürzungen: PPh = Plasmapherese, TBW = Gesamtkörperwasser, ECW = Extrazelluläres Wasser, ICW = Intrazelluläres Wasser, OH = Überwässerung, Rel. OH ECW = Rel. Überwässerung ECW

#### Extrazelluläres Wasser

Bis zur 3. Entnahme verhielt sich das ECW nahezu konstant. Anschließend reduzierte es sich schrittweise bis zum Ende des letzten Zyklus. Die Infusion von 300 mL NaCl-Lösung am Ende des Verfahrens konnte durch die Messungen exakt abgebildet werden, das extrazelluläre Wasser erhöhte sich von 21,1 Liter auf 21,4 Liter.

#### Gesamtkörperwasser

Die Veränderung des Gesamtkörperwasservolumens im Verlauf verlief eher wellenförmig. Zunächst nahm es zwischen 1. und 2. Zyklus deutlich ab. Dann stieg es bis zum 6. Zyklus erneut auf Ausgangsniveau an. Zum Ende des Verfahrens sank es schließlich deutlich unter den Ausgangswert. Das infundierte NaCl-Volumen ließ sich hier in den Messungen nicht darstellen.

#### Intrazelluläres Wasser

Nach leichtem Anstieg während der ersten 6 Zyklen fiel das ICW ab dem 7. Zyklus wieder auf Ausgangsniveau ab.

## Überwässerung

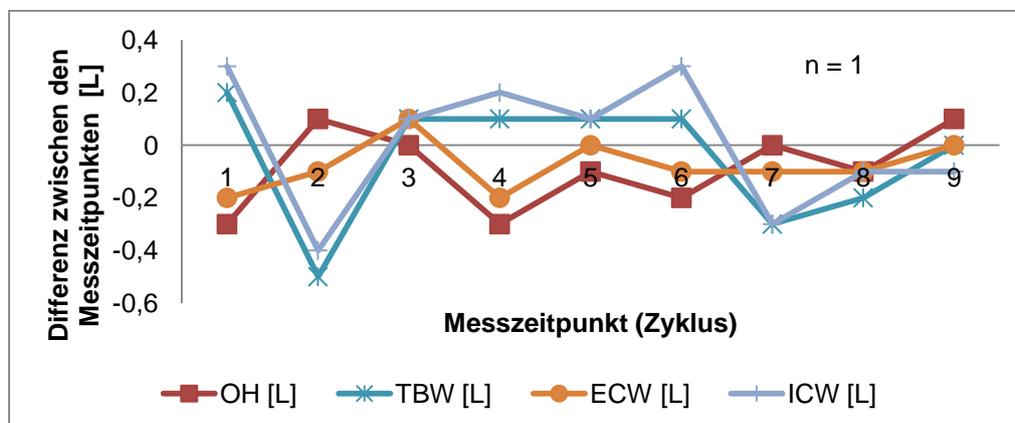
Die Überwässerung blieb zunächst relativ konstant, ab dem 4. Zyklus sank sie dann auf fast 50% ihres Ausgangswertes. In der letzten Messung nach abgeschlossener Apherese stieg sie um ein der NaCl-Substitution entsprechendes Volumen. Zu keinem Zeitpunkt des Verfahrens lag eine Dehydrierung im Sinne negativer Überwässerungswerte vor.

## Relative extrazelluläre Überwässerung

Sie zeigte eine deutliche Abnahme nach dem 1. Zyklus. Zwischen 3. und 4. Zyklus nahm sie erneut stark ab. Mit einem Anteil von 3,1% lag sie nach dem 8. Zyklus mehr als 50% unter dem Ausgangswert. Bis zur Messung nach Abschluss des Verfahrens erholte sie sich wieder auf Ausgangsniveau.

Zusammenfassend begann die Reduzierung des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens ab dem 4. Zyklus. Zu diesem Zeitpunkt kann mit dem Einsetzen von Kompensationsmechanismen gerechnet werden. Zu keinem Zeitpunkt des Verfahrens wurden Volumenschwankungen im Ausmaß des Spendevolumens von 850mL beobachtet (Abbildung 13).

**Abbildung 13: Volumenverschiebungen während der Plasmapherese**



Abkürzungen: OH = Überwässerung, TBW = Gesamtkörperwasser, ECW = Extrazelluläres Wasser, ICW = Intra-zelluläres Wasser

### 4.2.3. Verdünnungsfaktoren

Es wurden 49 Datensätze von 48 Spendern mit Proteinkonzentrationsbestimmungen unmittelbar vor und nach der Plasmapherese analysiert. Die Laborergebnisse lagen erst nach abgeschlossener Plasmapherese vor. Zum Zeitpunkt der Spenderzulassung waren unterhalb der für die Zulassung zur Spende vorgeschriebenen Grenzwerte liegende Proteinkonzentrationen nicht bekannt. Die Tabelle 34 und Tabelle 35 stellen die Konzentrationsverteilungen vor und nach der Plasmapherese dar. Für keinen Parameter konnte eine Normalverteilung nachgewiesen werden (Kolmogorov-Smirnov Test).

#### Vor der Spende

Außer für das Albumin wurden für alle Proteine Konzentrationen unterhalb der für die Zulassung zur Plasmaspende geltenden Grenzwerte bzw. allgemein gültiger Referenzbereiche identifiziert.

Die niedrigste vor der Spende gemessene Gesamt-IgG-Konzentration betrug 4,18 g/L. Ein Anteil von 16% (8/49) der teilnehmenden Dauerspender lag mit dem Gesamt-IgG unter der für die Zulassung zur Spende erforderlichen Mindestkonzentration von 6,0 g/L. Der Mittelwert betrug 7,6 g/L.

Innerhalb der IgG-Subklassen ergaben sich folgende Häufigkeiten in der Referenzwertunterschreitung:

- IgG<sub>1</sub>: 35% (17/49)
- IgG<sub>2</sub>: 6% (3/49)
- IgG<sub>3</sub>: 4% (2/49)
- IgG<sub>4</sub>: 2% (1/49)

Bezüglich des GEW und des IgM unterschritten jeweils 14% (7/49) der Studienteilnehmer die Untergrenze der erforderlichen Mindestkonzentration von 60 g/L (GEW) bzw. des Referenzbereiches von 0,4 – 2,3 g/L (IgM). Die Mittelwerte lagen bei 67 g/L (GEW) bzw. 0,87 g/L (IgM) (Tabelle 34).

Für das Albumin wurden Konzentrationen mit einem Mittelwert im oberen Referenzbereich von 35 – 53 g/L gefunden (Mittelwert: 48,60 g/L). Keine Konzentration lag unter dem Referenzbereich.

**Tabelle 34: Plasmaproteinkonzentrationen vor der Plasmapherese**

	<b>IgG<sub>prä</sub></b> [g/L]	<b>IgM<sub>prä</sub></b> [g/L]	<b>TP<sub>prä</sub></b> [g/L]	<b>IgG<sub>1prä</sub></b> [g/L]	<b>IgG<sub>2prä</sub></b> [g/L]	<b>IgG<sub>3prä</sub></b> [g/L]	<b>IgG<sub>4prä</sub></b> [g/L]	<b>Alb<sub>prä</sub></b> [g/L]
<b>n</b>	49	49	49	49	49	49	49	49
<b>Min</b>	4,18	0,18	50,00	2,84	0,66	0,12	0,02	35,50
<b>Max</b>	11,47	2,77	76,00	8,78	4,01	0,76	1,89	55,00
<b>MW</b>	7,64	0,874	67,18	5,52	2,40	0,40	0,55	48,60
<b>Med</b>	7,30	0,69	68,00	5,39	2,34	0,39	0,47	49,30
<b>SD</b>	1,76	0,57	5,26	1,36	0,77	0,15	0,39	4,06
<b>VK</b>	23,11	65,07	7,83	24,54	32,06	37,1	70,3	8,3
<b>Range</b>	7,29	2,59	26,00	5,94	3,35	0,64	1,87	19,50
<b>KS*</b>	0,2486	0,1002	0,2778	0,9425	0,4467	0,9055	0,2391	0,6237

\*KS = Kolmogorov-Smirnov-Test

### Nach der Spende

Auch nach der Spende wurden für alle Proteine außer für das Albumin Konzentrationen unterhalb der Referenzbereiche bzw. der für die Zulassung zur Plasmaspende geltenden Grenzwerte identifiziert.

Die niedrigste nach der Spende gemessene IgG-Gesamtkonzentration lag bei 3,38 g/L. Der Anteil der unter der für die Zulassung zur Spende erforderlichen Mindestkonzentration liegenden Werte betrug 9,8% (20/49). Der Mittelwert fiel auf 6,56 g/L.

Innerhalb der IgG-Subklassen ergaben sich nach der Spende folgende Häufigkeiten in der Referenzwertunterschreitung:

- IgG<sub>1</sub>: 55% (27/49)
- IgG<sub>2</sub>: 20% (10/49)
- IgG<sub>3</sub>: 16% (8/49)
- IgG<sub>4</sub>: 2% (1/49)

Für das Gesamteiweiß unterschritten 69% (34/49) nach der Spende den Grenzwert von 60 g/L. Auch der Mittelwert lag mit 58 g/L darunter. Die IgM-Bestimmungen unterschritten zu 22% (11/49) den Referenzbereich.

**Tabelle 35: Plasmaproteinkonzentrationen nach der Plasmapherese**

	IgG <sub>post</sub> [g/L]	IgM <sub>post</sub> [g/L]	TP <sub>post</sub> [g/L]	IgG <sub>1post</sub> [g/L]	IgG <sub>2post</sub> [g/L]	IgG <sub>3post</sub> [g/L]	IgG <sub>4post</sub> [g/L]	Alb <sub>post</sub> [g/L]
<b>n</b>	49	49	49	49	49	49	49	49
<b>Min</b>	3,38	0,18	50,00	2,49	0,60	0,12	0,02	35,80
<b>Max</b>	12,28	2,53	68,00	10,10	3,67	0,60	1,63	54,00
<b>MW</b>	6,56	0,77	57,59	4,77	2,07	0,34	0,48	42,46
<b>Med</b>	6,55	0,65	57,00	4,70	2,02	0,33	0,38	41,70
<b>SD</b>	1,78	0,51	4,15	1,39	0,69	0,12	0,35	3,69
<b>VK</b>	26,2	66,0	7,20	29,24	33,1	34,8	73,73	8,59%
<b>Range</b>	8,90	2,35	18,00	7,61	3,07	0,48	1,61	18,20
<b>KS*</b>	0,7856	0,0511	0,6728	0,9725	0,9704	0,9019	0,3085	0,5351

\*KS = Kolmogorov-Smirnov-Test

### Vorher-Nachher-Vergleich

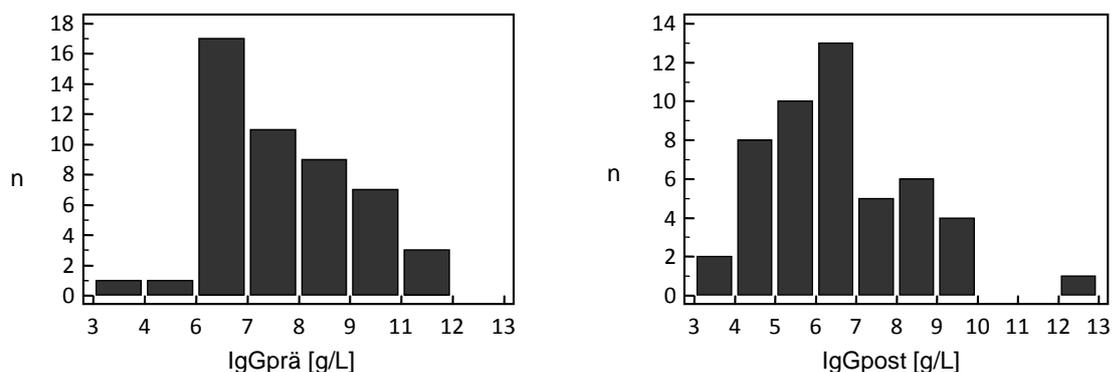
Außer für das IgG<sub>4</sub> wurden für alle Proteine signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen vor und nach der Plasmapherese bestimmt (Tabelle 36). Die Mittelwerte sanken um ca. 12,0% für Albumin und IgM. Das Gesamt-IgG und dessen Subklassen 1 und 2 reduzierten sich um ca. 13%. IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub> zeigten mit ca. 14% die größten Konzentrationsverluste.

**Tabelle 36: Vergleich Proteinkonzentrationen vor und nach der Plasmapherese (t-Test)**

	IgG	IgG <sub>1</sub>	IgG <sub>2</sub>	IgG <sub>3</sub>	IgG <sub>4</sub>	GEW	Albumin
<b>p –Wert</b>	0,0032	0,0079	0,0269	0,0195	0,35	< 0,0001	< 0,0001

Die Häufigkeitsverteilung der einzelnen IgG-Konzentrationen veränderte sich durch die Plasmapherese deutlich auf Kosten hoher Konzentrationen von 10 bis 12 g/L (Abbildung 14). Der Anteil sehr niedriger Konzentrationen von 3 bis 4 g/L nahm deutlich zu.

**Abbildung 14: Häufigkeitsverteilung IgG-Konzentration vor und nach Plasmapherese**



Aus den Vorher-Nachher-Konzentrationsdifferenzen wurden die Verdünnungsfaktoren berechnet (Tabelle 37). Alle Proteine wurden verdünnt. Die Verdünnungsfaktoren betragen je nach Protein 1,15 (Albumin) bis 1,19 (IgG<sub>3</sub>). Sie unterschieden sich nicht signifikant (Tabelle 38).

Es ergab sich folgende Verdünnungshierarchie: IgG<sub>3</sub> > IgG = IgG<sub>1</sub> = IgG<sub>4</sub> > IgG<sub>2</sub> = TP > IgM > Albumin. Diese Zahlen spiegeln eine Verdünnung um 15 - 19% des Plasmavolumens wider. Die IgM-Verdünnungsfaktoren wiesen mit einem Variationskoeffizienten von 13,5% die höchste interindividuelle Varianz auf. IgM als nahezu ausschließlich intravasal vorkommendes Protein zeigte hinsichtlich seines Verdünnungsfaktors keine signifikanten Unterschiede zu den Proteinen, die sowohl im Plasma als auch in der interstitiellen Flüssigkeit vorkommen. Die Ergebnisse fasst Tabelle 37 zusammen.

**Tabelle 37: Verdünnungsfaktoren der einzelnen Plasmaproteine**

	VFlgG	VFlgG <sub>1</sub>	VFlgG <sub>2</sub>	VFlgG <sub>3</sub>	VFlgG <sub>4</sub>	VFlgM	VFGew	VFAIb
<b>Min</b>	0,80	0,77	0,75	0,79	0,80	0,74	0,81	0,82
<b>Max</b>	1,35	1,34	1,30	1,35	1,46	1,50	1,31	1,32
<b>MW</b>	1,18	1,18	1,17	1,19	1,18	1,16	1,17	1,15
<b>Med</b>	1,20	1,21	1,20	1,21	1,19	1,19	1,20	1,18
<b>SD</b>	0,13	0,12	0,13	0,13	0,13	0,16	0,12	0,12
<b>VK</b>	10,7	10,5	11,1	10,7	10,8	13,5	10,0	10,3
<b>Range</b>	0,56	0,57	0,55	0,56	0,66	0,76	0,51	0,50
<b>KS*</b>	0,0023	0,0146	0,0194	0,0213	0,0407	0,0136	0,0466	0,0088

\*KS= Kolmogorov-Smirnov-Test

**Tabelle 38: Vergleich der Verdünnungsfaktoren (p-Werte)**

	VFlgG	VFlgG <sub>1</sub>	VFlgG <sub>2</sub>	VFlgG <sub>3</sub>	VFlgG <sub>4</sub>	VFlgM	VFGew	VFAIb
<b>VFlgG</b>	1,00	0,82	0,68	0,96	0,85	0,47	0,79	0,23
<b>VFlgG<sub>1</sub></b>		1,00	0,85	0,78	0,97	0,60	0,97	0,33
<b>VFlgG<sub>2</sub></b>			1,00	0,65	0,82	0,73	0,88	0,45
<b>VFlgG<sub>3</sub></b>				1,00	0,82	0,44	0,75	0,22
<b>VFlgG<sub>4</sub></b>					1,00	0,58	0,94	0,32
<b>VFlgM</b>						1,00	0,61	0,75
<b>VFGew</b>							1,00	0,34
<b>VFAIb</b>								1,00

Für jedes Protein wurden auch Verdünnungsfaktoren mit Werten  $< 1$  identifiziert. In diesen Fällen kam es im Rahmen der Plasmapherese anstelle einer Verdünnung zu einer Konzentrierung der Plasmaproteine. Die nach der Spende erhobenen Serumwerte überschritten in diesen Fällen die vor der Spende erhobenen Serumkonzentrationen. Der kleinste Verdünnungsfaktor wurde mit 0,74 für das IgM gefunden. Ein Konzentrierungsprozess ließ sich in vier Datensätzen für alle acht Einzelproteine beobachten. In zwei Datensätzen wurde ausschließlich IgM, in einem Datensatz ausschließlich Albumin konzentriert. Ein Datensatz zeigte eine gleichzeitige Konzentration von IgM und Albumin.

Die höchsten Korrelationen unter den Verdünnungsfaktoren gab es innerhalb der IgG-Subklassen und jeweils mit dem GEW. Außerhalb derer lagen die höchsten Korrelationen für Albumin und IgG, insbesondere für Albumin und die Subklasse 1 ( $r = 0,87$ ), vor. Gesamt-IgG und IgM korrelierten nicht signifikant ( $r = 0,61$ ,  $p < 0,0001$ ). Einen Überblick der einzelnen Korrelationen gibt (Tabelle 39).

**Tabelle 39: Korrelationsübersicht der Verdünnungsfaktoren**

	IgG	IgG <sub>1</sub>	IgG <sub>2</sub>	IgG <sub>3</sub>	IgG <sub>4</sub>	IgM	GEW	Albumin
IgG	1,00	0,96	0,95	0,95	0,90	0,61	0,96	0,82
IgG <sub>1</sub>		1,00	0,96	0,96	0,89	0,68	0,95	0,87
IgG <sub>2</sub>			1,00	0,93	0,86	0,62	0,92	0,81
IgG <sub>3</sub>				1,00	0,91	0,67	0,95	0,86
IgG <sub>4</sub>					1,00	0,65	0,89	0,79
IgM						1,00	0,66	0,73
GEW							1,00	0,83
Albumin								1,00

**Abbildung 15: Korrelation der IgG- und IgM-Verdünnungsfaktoren**

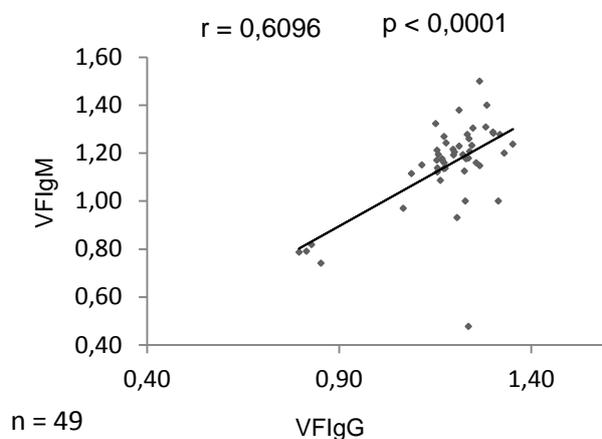
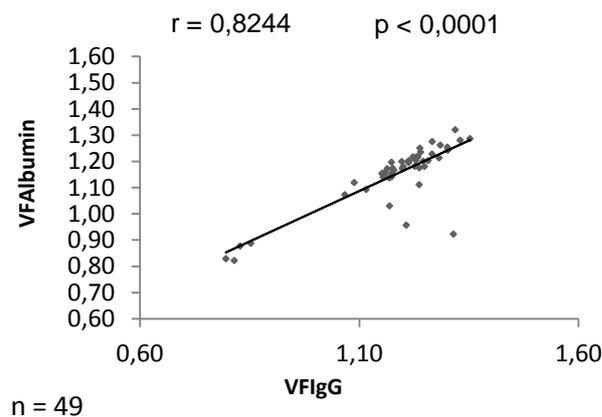


Abbildung 16: Korrelation der IgG- und Albumin-Verdünnungsfaktoren



### Kalkulation des interstitiellen Volumennachstroms und Volumenbilanz auf der Basis von Verdünnungsfaktoren und BCM

Auf der Basis des IgM-Verdünnungsfaktors von 1,16, der eine Verdünnung bzw. intravasale Volumenzunahme um 16% beschreibt, und einem durchschnittlichen Plasmavolumen von 2,9 L kann die zur Verdünnung führende Volumenzunahme auf 464 mL geschätzt werden. Davon muss das bereits infundierte NaCl-Volumen von 300 mL und das im Rahmen der Zellrückgabe erhaltene Zitratvolumen von 84 mL abgezogen werden. Es resultiert ein möglicher Volumeneinstrom aus dem Interstitium in den Intravasalraum von 80 mL. Dieses Kompensationsvolumen steht dem intravasalen Raum bereits unmittelbar nach Abschluss der Plasmapherese zur Verfügung. Es war zum Zeitpunkt der Blutprobenentnahme nach Abschluss des Verfahrens bereits in den intravasalen Raum eingeströmt. Über längerfristige Volumenverschiebungen im Zeitraum der ersten Stunden nach einer Plasmapherese kann daher im Rahmen dieser Studie keine Aussage getroffen werden. Anhand der vorliegenden Daten können nun Volumenbilanzen erstellt werden. Sie beziehen sich unmittelbar auf den Zeitpunkt der Beendigung der Plasmapherese. Unter Berücksichtigung der im Rahmen der Plasmapherese infundierten NaCl- und Zitratvolumina und der durchschnittlichen Spendemenge ergibt sich zunächst ein intravasales Volumendefizit von 414 mL (Formel 29):

29. 
$$-798 \text{ mL Spendenvolumen} + 300 \text{ mL NaCl} + 84 \text{ mL Zitratvolumen} = \mathbf{-414 \text{ mL}}$$

Das aus dem Interstitium in den Intravasalraum einströmende Volumen von 80 mL reduziert den intravasalen Volumenverlust wie folgt (Formel 30):

30. 
$$-798 \text{ mL Spendenvolumen} + 300 \text{ mL} + 84 \text{ mL Zitratvolumen} + 80 \text{ mL Nachstrom} = \mathbf{-334 \text{ mL}}$$

#### **4.2.4. Zusammenfassung der Ergebnisse des prospektiven Teils**

Der während der Plasmapherese stattfindende Flüssigkeitsstrom aus dem Interstitium in den Intravasalraum wurde über zwei sich ergänzende Methoden bestimmt: Der Bioimpedanzspektroskopie zur Identifizierung von Volumenströmen zwischen den einzelnen Flüssigkeitskompartimenten und der Bestimmung von Verdünnungsfaktoren einzelner Plasmaproteine zur Untersuchung des Volumenstroms zwischen Intra- und Extravasalraum. Beide Methoden beziehen sich auf den unmittelbaren Zeitraum der Plasmapherese und ermöglichen die Schätzung einer Volumenbilanz unmittelbar nach Beendigung des Verfahrens.

Der Vergleich zweier sich im Zeitpunkt der Nachher-Messung unterscheidender BCM-Messregime zeigte, dass es sich bei dem Volumennachstrom aus dem Interstitium um eine sehr schnelle, bereits während des Verfahrens einsetzende Antwort auf den hypovolämischen Reiz einer Plasmaspende handelt. Das interstitielle Volumen stellte sich als schnell verfügbar und ausreichend effizient dar, um der hypovolämischen Belastung entgegen wirken zu können.

Innerhalb der Verdünnungsfaktoren der einzelnen Plasmaproteine konnten weder signifikante Unterschiede noch signifikante Korrelationen untereinander festgestellt werden. Das vorwiegend intravasal vorkommende IgM zeigte vergleichbare Verdünnungsfaktoren wie das nahezu gleichmäßig verteilte IgG.

## 5. Diskussion

### 5.1. Retrospektiver Teil

Die ausgewerteten Daten beinhalteten keine persönlichen Angaben wie Alter, Geschlecht oder Körpergewicht. Es kann somit nicht gesagt werden, ob es sich bei dem Spenderkollektiv um einen repräsentativen Querschnitt der Plasmaspenderpopulation handelt. Spender, deren IgG-/GEW-Serumkonzentrationen den erforderlichen Grenzwert bereits vor der ersten Spende unterschritten, wurden von der Studie ausgeschlossen. Ebenso wurden diejenigen Spender ausgeschlossen, die nach Ablauf der Spendepause die geforderte Mindestkonzentration nicht wieder erreichen konnten und erneut zurückgestellt werden mussten. Die Studie bezieht sich somit ausschließlich auf Spender, deren IgG-/GEW-Serumkonzentrationen bei Erstvorstellung über der vorgeschriebenen Grenzkonzentration lagen. Diese Ausschlusskriterien wurden definiert, um die Studie auf die Spender zu fokussieren, die den derzeitigen Anforderungen zur Spenderzulassung entsprechen und den Spendezentren effektiv zur Verfügung stehen. Es lagen große individuelle Unterschiede in der Regenerationsfähigkeit der Plasmaproteine vor. Die über Spendepause und Konzentrationsdifferenz berechnete IgG-Regenerationsrate schwankte von 0,04 bis 0,319 g/L pro Tag (VK = 53,70%). Das auf Basis dieser Spenderpopulation entwickelte Prognosemodell zur Schätzung des Zeitpunktes für eine erfolgreiche Wiedervorstellung nach der Spendepause kann daher nicht ohne Weiteres für die ausgeschlossenen Spender mit sehr geringem Regenerationspotential angewendet werden. Gleiches gilt für die Anwendbarkeit des GEW-Prognosemodells (Regenerationsraten von 0,05 bis 3,07 g/L pro Tag).

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass der untersuchte Datensatz Spender beinhaltet, die während des Beobachtungszeitraums bei mehr als einem Spendedienst gleichzeitig gespendet haben. Bei sehr starken Konzentrationsabfällen bzw. sehr langsamen Erholungsverläufen muss daher auch an eine mögliche Doppelbelastung gedacht werden. Zwar wurden die IgG- und GEW-Kontrollabstände im Rahmen der Richtlinienanpassung 2005 aufgrund der Daten der SIPLA-Studie (59) von jeder 15. Plasmaspende auf jede 5. Plasmaspende verringert, doch kann eine Missachtung der Mindestspendeabstände und eine Mehrbelastung des IgG- und GEW-Haushaltes nicht verhindert werden, solange der Spender die Mindestanforderungen erfüllt. Eine Beeinflussung der Ergebnisse durch Spenden bei mehreren Einrichtungen ist daher nicht auszuschließen.

Um den Einfluss der Plasmapherese auf den IgG- und GEW-Haushalt des Plasmaspenders beschreiben zu können, wurden mehrere Parameter berechnet [siehe Formel 3 bis 6]:

- Die Spendezeit beschreibt den Zeitraum von der ersten Spende bis zur ersten eiweißbedingten Rückstellung. Aus ihr und der Anzahl der im Zeitraum geleisteten Spenden resultiert die Spendefrequenz ( $n/W_o$ ). Für sehr geringe Spendefrequenzen stellt sich die Frage des zulässigen Zusammenhangs von Konzentrationsverlauf und Spendetätigkeit. Es kann nicht festgelegt werden, ab welcher Frequenz die Spendetätigkeit in einem direkten Zusammenhang mit der Konzentrationsänderung über diesem Zeitraum steht. Besonders bei sehr geringen Spendefrequenzen bestehen vielfältige Möglichkeiten weiterer Einflüsse.
- Die Regenerationsrate wurde aus Spendepause und dem zwischenzeitlich erfolgten Konzentrationsanstieg berechnet. Physiologisch wird sie bestimmt durch Syntheserate, Recyclingrate, Katabolisierungsrate und Halbwertszeit (siehe Kapitel *Metabolismus*). Die Anteile der einzelnen Prozesse am Anstieg der Konzentration können auf Grund der rein rechnerischen Kalkulationsmethode nicht differenziert werden. Die aktuelle Serumkonzentration ist jedoch als ein Ergebnis des Zusammenspiels all dieser Prozesse zu sehen. Die Einschlusskriterien beschränkten die Spendepause auf maximal eine Woche über ihre Mindestdauer hinaus. Die Regenerationsrate bezog sich somit lediglich auf ein Zeitfenster von 21 (GEW) bzw. 28 Tagen (IgG) nach der zur Rückstellung führenden Labortestung. Dies wurde festgelegt, um eine Normalisierung und Vergleichbarkeit der Daten herzustellen. Der Verlauf der IgG- und GEW-Konzentrationen innerhalb dieser Zeit bleibt unklar, da während der Spendepause keine Messungen durchgeführt wurden. Recycling- und Syntheserate als Parameter der Regenerationsrate wurden in der Literatur als konzentrationsabhängig beschrieben (20, 71). Sie könnten demnach bei noch niedrigen Konzentrationen zu Beginn der Spendepause höher sein als am Ende der Spendepause.

Im Verlauf einer regelmäßigen Spendetätigkeit stellt sich beim Spender nach initial steilem Abfall eine konstante IgG-Plasmakonzentration ein (59). Ob und wann ein Spender seinen *steady state* erreicht, konnte den Daten nicht entnommen werden. Es lagen keine Konzentrationsbestimmungen während der Spendetätigkeit vor. Lediglich die Konzentrationen bei erster Spende (IgGt1) und zu Beginn der Rückstellung (IgGt2) waren bekannt. Es ist daher möglich, dass bei großer Varianz der Spendezeit bis Eintreten der ersten Rückstellung unterschiedliche Adaptionsstadien des Körpers an die Plasmapherese vorlagen.

## Der Einfluss der Plasmapherese auf die IgG- bzw. GEW-Serumkonzentration

Der Einfluss der Plasmapherese auf die IgG- und GEW-Serumkonzentrationen des Spenders wird seit mehr als 30 Jahren untersucht. Bereits 1975 erforschten Friedman et al. die Konzentrationsverläufe bei einem Spendevolumen von wöchentlich 500 bis 1000 mL Plasma über einen Spendezeitraum von drei Jahren. Die größten Veränderungen stellten sie innerhalb der ersten sechs Monate nach Beginn der Spendetätigkeit fest. Die IgG- und IgM-Serumkonzentrationen reduzierten sich während dieser Zeit signifikant. Bis zum Ende der ersten 10 Monate blieb ausschließlich das IgM auf weiterhin niedrigem Niveau – jedoch noch innerhalb des Referenzbereiches. Das IgG hingegen erholte sich schneller und erreichte im weiteren Beobachtungszeitraum ein konstantes Niveau (18). Auch die hier vorliegenden Ergebnisse bestätigen eine Reduktion der Eiweißkonzentrationen im Rahmen der Spendetätigkeit. Auch nach der Spendepause erreichten sie ihr Ausgangsniveau nicht wieder ( $IgGt3$  bzw.  $GEWt3 < IgGt1$  bzw.  $GEWt1$ ). Der Beobachtungszeitraum endete jedoch 28 (IgG) bzw. 21 (GEW) Tage nach dem Beginn der Rückstellung. Es kann also keine Aussage darüber getroffen werden, wie sich die Serumkonzentrationen im weiteren Verlauf der Spendetätigkeit entwickelt haben – ob sie ihren Ausgangslevel möglicherweise später wieder erreichen oder entsprechend Friedman et al. einen niedrigeren *steady state* annehmen (18). Niedrige IgG-/GEW-Konzentrationen traten zu Beginn der Spendetätigkeit seltener auf als nach abgelaufener Spendepause (Abbildung 9 und Abbildung 11). Langfristige Veränderungen können auch hier auf Grund des kurzen Beobachtungszeitraums nicht erfasst werden. Der Datensatz beinhaltet ausschließlich die erste Rückstellung und die daraufhin einsetzende erste Regenerationsphase. Es kann nicht gesagt werden, ob die kalkulierten Regenerationsraten auch für spätere Rückstellungen im weiteren Verlauf der Spendetätigkeit zutreffen.

1992 zeigten Burgin et al. (9), dass die Eiweißkonzentrationen zwar signifikant abfielen, jedoch kein Unterschied zwischen mehr oder weniger erfahrenen Plasmaspendern im Sinne eines möglicherweise eingetretenen *steady state* vorlag. Die Spender, deren Eiweißkonzentrationen während des Beobachtungszeitraums auf Werte unterhalb des Referenzbereichs sanken, begannen die Studie bereits mit signifikant niedrigeren Konzentrationen als jene Spender, deren Konzentrationen im Referenzbereich blieben (9). In der vorliegenden Studie konnte kein Zusammenhang zwischen der IgG-Ausgangskonzentration zu Beginn der Spendetätigkeit ( $IgGt1$ ) und der zur Rückstellung führenden IgG-Konzentration ( $IgGt2$ ) gezeigt werden ( $p = 0,103$ ).

Im Jahr 2006 zeigte die SIPLA-Studie, dass junges Alter und weibliches Geschlecht Risikofaktoren für erniedrigte Eiweißkonzentrationen darstellen (59). Weder Körpergewicht noch Spendevolumen waren mit einem eiweißbedingten Ausscheiden aus der Studie assoziiert. Der Einfluss spenderbezogener Daten wie Alter, Körpergewicht, Geschlecht und individuelle

Lebensführung (z.B. Sport, Ernährung, Nikotin- bzw. Alkoholkonsum) konnte im Rahmen der hier vorliegenden Studie wegen fehlender Daten nicht untersucht werden.

Es wurden teilweise sehr drastische IgG-Konzentrationsverläufe identifiziert:

- 85 Spender (6%) wiesen eine IgGt2-Konzentration von  $\leq 4,99$  g/L auf,
- fünf Spender eine IgGt2-Konzentration von  $\leq 4,0$  g/L,
- zwei Spender eine IgGt2-Konzentration von  $\leq 3,0$  g/L (2,17 bzw. 2,53 g/L).

Die große Anzahl sehr niedriger IgG-Konzentrationen von weniger als 5,0 g/L lässt die Möglichkeit einer tatsächlichen Spendergefährdung vermuten. Die Leitlinien der Bundesärztekammer zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten schreiben im Rahmen einer Substitution mit intravenösen Immunglobulinen Zieltalspiegel von 6,0 bis 9,0 g/L vor (7). Für die Gewährleistung einer suffizienten Infektabwehr kann kein allgemeingültiger Schwellenwert angegeben werden. Eine intravenöse Substitutionstherapie mit Immunglobulinen muss individuell an die Klinik des Patienten angepasst werden. Erst für Serumkonzentrationen von unter 5 g/L konnte ein fünffach erhöhtes Risiko für Pneumonien, stellvertretend für das Auftreten schwerer bakterieller Infektionen, festgestellt werden. Pro zusätzlichem Gramm pro Liter des IgG-Talspiegels erhöhte sich der Schutz vor Pneumonien um 27% (46). Eine weitere Studie aus dem Jahr 2011 beschrieb, dass dauerhafte IgG-Serumspiegel von unter 4 g/L mit einem signifikant erhöhten Pneumonierisiko einhergehen (49). Im Rahmen einer Plasmapherese sind daher IgG-Serumspiegel von unter 5 g/L zu vermeiden. Sie könnten mit einer Spendergefährdung verbunden sein, ohne dass für Plasmaspender bzw. gesunde Probanden dafür Daten vorlägen. Zur Vermeidung sehr niedriger IgG-Konzentrationen nach Plasmaspenden sollte die Spendefrequenz daher in Abhängigkeit vom Ausgangslevel festgelegt werden: Je höher der Ausgangsspiegel, desto höher auch die zugelassene Spendefrequenz. Respektive sollte in Ländern, in denen höhere Spendefrequenzen zulässig sind, eine IgG-Bestimmung zum Schutz der Spender zwingend vorgeschrieben werden.

Mit Richtlinienovellierung 2005 wurde das IgG-Kontrollintervall von jeder 15. auf jede 5. Plasmaspende verkürzt (6). Ziel war es, erniedrigte IgG-Konzentrationen durch engmaschige Kontrolluntersuchungen frühzeitiger zu identifizieren und Spender durch rechtzeitige Rückstellung von weiteren Spenden effektiver zu schützen. Drastische IgG-Verluste wie die oben beschriebenen sollten verhindert werden. Auch Spender, die bei mehr als einem Spendedienst gleichzeitig spenden, deren Spendeabstände und Eiweißserumkonzentrationen somit nicht lückenlos zu überwachen sind, sollten auf diese Art und Weise erfasst und geschützt werden. Hier greift insbesondere die IgG-Konzentrationsbestimmung vor Aufnahme der Spendetätigkeit. Die Auswirkungen der Richtlinienanpassung kommen in einem Gruppenvergleich der vorliegenden Daten zum Ausdruck: Die zur Rückstellung führenden IgGt2-Konzentrationen nach Richtlinienovellierung 2005 lagen signifikant über den IgGt2-

Konzentrationen der Jahre vor der Verkürzung des Kontrollintervalls ( $p < 0,001$ , siehe Tabelle 10). Durch frühzeitige Erkennung grenzwertiger oder bereits zu niedriger Werte und entsprechend generierter Maßnahmen wie Spenderrückstellung oder Aufklärung der Spender über die Vermeidung zu kurzer Spendeabstände konnte eine Verbesserung erreicht werden. Sehr niedrige IgGt2-Konzentrationen von unter 4,0 g/L wurden ausschließlich im Zeitraum vor der Richtlinienumstellung gemessen. IgG-Konzentrationen von unter 5,0 g/L traten nach der Richtlinienumstellung häufiger auf als vorher (59% vs. 41%). Die engmaschigeren Kontrollen verhinderten demnach ausschließlich das extreme Absinken der IgG-Konzentrationen auf unter 4,0 g/L. Die gleichzeitig eingeführte Erhöhung des Spendevolumens bewirkte gegenläufig jedoch auch eine Mehrbelastung des Eiweißhaushaltes und führte somit zu einem vermehrten Absinken der IgG-Konzentrationen auf Werte unter 5 g/L. Zusammenfassend wirken mit der Richtlinienovellierung zwei Gegenspieler auf den IgG-Haushalt ein: Ein erhöhtes maximal zulässiges Spendevolumen und verkürzte Eiweißkontrollintervalle.

Erstmals konnte gezeigt werden, dass sich die IgG-Konzentrationen nach der Spendepause (IgGt3) durch die Richtlinienovellierung 2005 verbesserten ( $p < 0,001$ ). Dagegen wurden die Konzentrationsverläufe während der Spendetätigkeit (DiffIgGt12) nicht positiv beeinflusst. Es kam zu einem stärkeren Abfall der IgG-Konzentration während der Spendetätigkeit ( $p < 0,05$ ). Eine Ursache hierfür kann die ebenfalls im Rahmen der Richtlinienanpassung 2005 vorgenommene Intensivierung der Plasmapherese durch Erhöhung der zugelassenen Spendemenge bei unverändertem Mindestspendeabstand von 48 Stunden sein. Die Spendemenge wurde 2005 von maximal 650 mL ohne Antikoagulans und einem maximalen extrakorporalen Volumen von 15% auf körperrgewicht- und geschlechtsabhängige Spendevolumina von bis zu 850 mL inklusive Antikoagulans erhöht. Die Richtlinienovellierung 2010 verlängerte schließlich den Mindestabstand zwischen zwei Plasmapheresen auf 2 spendenfreie Kalendertage. Die möglichen Auswirkungen können anhand dieser Daten nicht beurteilt werden, da Daten aus einem Zeitraum von 2001 bis 2009 ausgewertet wurden.

Der IgG-Konzentrationsanstieg während der Spendepause blieb nach der Richtlinienanpassung nahezu unverändert ( $p > 0,05$ ). Die durchschnittliche Regenerationsrate der Gesamtspenderpopulation von  $0,07 \text{ g/L} \cdot \text{d}^{-1}$  konnte auch in den zwei Gruppen vor und nach Richtlinienovellierung wiedergefunden werden. Die in der Literatur beschriebene Abhängigkeit der Synthese-/Recyclingrate von der aktuellen Serumkonzentration konnte nicht bestätigt werden (20, 71). Möglicherweise waren die Konzentrationsunterschiede zu gering, um eine Adaption der Synthese-/Recyclingrate hervorzurufen. Insgesamt sollten Spender mit niedrigen Ausgangskonzentrationen niedrige Spendefrequenzen einhalten. Spender mit hohen Ausgangskonzentrationen können entsprechend häufiger spenden. Die maximale Spendefrequenz sollte in Abhängigkeit vom individuellen IgG-Ausgangslevel festgelegt werden.

Anhand der zur Verfügung stehenden Daten konnte nicht gesagt werden, in welchem Ausmaß Spender bis zum Jahr 2005 bei nicht identifizierten IgG-Konzentrationen von unter 6,0 g/L eventuell noch bis zur nächsten Kontrolluntersuchung weiter spendeten. Von 1293 ausgewerteten IgG-Konzentrationsverläufen aus dem Zeitraum von 2001 bis 2009 wurden 289 vor dem Jahr 2005 erhoben und unterlagen somit dem weitmaschigeren Kontrollregime. Es ist nicht auszuschließen, dass die niedrigeren IgGt2-Werte aus dieser Zeit die weiteren Auswertungen hinsichtlich der Prognose einer zu langen Rückstellungsdauer beeinflusst haben. Es ist nicht bekannt, seit wann die Spender zu diesem Zeitpunkt schon unterhalb des zugelassenen Grenzwertes spendeten.

#### Prognose der zu erwartenden Mindestrückstelldauer

Das erstellte Prognosemodell zur Abschätzung der individuellen Mindestrückstelldauer [Formeln 23 bis 28] basiert auf dem zu erreichenden IgG-/GEW-Grenzwert, der zur Rückstellung führenden GEW-/IgG-Konzentration und der individuellen Regenerationsrate. Die Multifaktorenanalyse ergab die folgenden Parameter als Bestandteil des Prognosemodells für die IgG- bzw. GEW-Regenerationsraten:

- GEWt1/IgGt1
- GEWt2/IgGt2
- Anzahl der Vollblutspenden (GEW und IgG)
- Anzahl der Plasmaspenden (GEW)

Die Multifaktorenanalyse ist jedoch nicht in der Lage, Zusammenhänge zu beschreiben, ihre Ergebnisse sind rein statistisch zu werten. Zu einem möglichen Einfluss einer Vollblutspende auf die IgG- bzw. GEW-Regenerationsrate liegen in der Literatur keine Daten vor. Hinweise darauf, dass im Rahmen der Erythropoetinausschüttung nach einer Vollblutspende möglicherweise auch die B-Zell-Proliferation und die IgG-Produktion (33, 34) gesteigert werden könnten, wurden bisher nicht bestätigt (39). Inwiefern eine Vollblutspende demnach tatsächlich in das Immunsystem eingreift und ob sie über die Ausschüttung von Erythropoetin möglicherweise zu einer unspezifischen Aktivierung des Immunsystems führen könnte, bleibt unklar.

Die Auswertung der aktuellen Rückstellungspraxis ergab, dass sowohl die IgG- als auch die GEW-bedingten Spendeaussetzungen für nahezu 50% der Spender länger als notwendig waren (Tabelle 14 und

Tabelle 21). Die prognostizierte Mindestrückstelldauer wurde dabei mit der tatsächlich eingelegten Spendeaussetzung und der vorgeschriebenen Mindestspendeaussetzung verglichen. Es muss

berücksichtigt werden, dass die tatsächlich eingelegte Spendepause zu einem großen Anteil der individuellen Entscheidung des Spenders unterliegt. Sie ist u.a. abhängig von Zeit, Motivation und allgemeinem Gesundheitsbefinden des Spenders. Diese Faktoren kann die entwickelte Prognoseformel nicht berücksichtigen. Der Spender wird auch in Zukunft nur dann das Spendezentrum besuchen, wenn er dies möchte. Trotzdem kann das Prognosemodell einen Beitrag dazu leisten, dass diejenigen Spender, die so früh wie möglich wieder spenden möchten, dies auch können und entsprechend individuell geführt werden. Eine zuverlässige Prognose der notwendigen Spendepause wirkt sich positiv auf Spenderbindung und Deckung des Plasmabedarfs aus. Eine zu frühe Wiedervorstellung bei noch nicht abgeschlossener Regeneration demotiviert den Spender durch nicht mögliche Zulassung zur Spende. Eine zu späte Wiedervorstellung bei bereits abgeschlossener Regeneration und bestehender Spendebereitschaft bedeutet einen vermeidbaren Verlust an Plasma. Die entwickelten Prognosemodelle sind zudem schnell und einfach anwendbar. Alle erforderlichen Parameter liegen den Spendediensten grundsätzlich vor.

#### Assoziationen zwischen einzelnen Parametern

Für die IgG-Parameter konnten nur schwache Zusammenhänge identifiziert werden (Tabelle 11). Der Abfall der IgG-Konzentration während des Spendezeitraums und die Regenerationsrate während der Spendepause zeigten einen geringen statistischen Zusammenhang: Je stärker der Konzentrationsabfall, desto höher auch die Regenerationsrate. Der bereits vorgestellte IgG-Recycling-Mechanismus (siehe Kapitel *Metabolismus*) könnte hier möglicherweise im Rahmen der Erhaltung des individuellen Levels erkennbar werden. Entscheidend für die Regenerationsrate könnte die Abweichung der aktuellen Serumkonzentration vom individuellen Level sein. Oberstes Ziel wäre hierbei dann das Wiedererreichen des individuellen Levels. Dies könnte durch einen weiterhin gefundenen geringen Zusammenhang zwischen der IgG Konzentrationen bei erster Spende und bei Wiedervorstellung nach der Spendepause unterstrichen werden. Spender mit einem höheren individuellen IgG-Level kehrten demnach nach der Spendepause auf entsprechend höhere Konzentrationen zurück. Auch die Konzentrationsdifferenzen über Spendezeit und Spendepause ließen diesen möglichen geringen Zusammenhang erkennen. Bei allen Aussagen, die sich auf den Konzentrationsabfall während der Spendetätigkeit beziehen, muss allerdings beachtet werden, dass sehr unterschiedliche Spendefrequenzen zugrunde liegen. Hohe Spendefrequenzen gingen nicht mit niedrigen IgGt2-Konzentrationen einher. Ein negativer Einfluss der Plasmaspendetätigkeit auf den IgG-Konzentrationsverlauf ließ sich somit nicht zeigen. Dem gegenüber steht jedoch das Ergebnis, dass die Spender trotz erfolgreicher Regeneration ihre Ausgangskonzentration nicht wieder erreicht haben. Ein Grund hierfür könnte der kurze Beobachtungszeitraum sein, der nicht ausschließt, dass die Spender möglicherweise langfristig auf ihre Ausgangskon-

zentration zurückkehren. Ergebnisse früherer Studien bestätigen, dass es sich hierbei um einen langfristigen Prozess in der Größenordnung von mehreren Monaten handelt (18).

Die Länge der Spendepause hatte keinen Einfluss auf die Höhe des IgG-Wertes nach Regeneration. Die Spendepause wurde im Rahmen der Ausschlusskriterien auf 21 Tage (GEW) bzw. 28 Tage (IgG) beschränkt. Dies bedeutet einen Spielraum von einer Woche über der vorgeschriebenen Mindestrückstellungsdauer von 14 Tagen (GEW) bzw. 21 Tagen (IgG). Hierdurch ist die Aussagekraft eingeschränkt. Zur Bestimmung der Bedeutung des individuellen Levels müssten Konzentrationsbestimmungen über einen längeren Spendepausenzeitraum hinweg erhoben werden. Insgesamt unterstreichen die, wenn überhaupt vorhandenen, dann lediglich schwachen Zusammenhänge die große Individualität der Abläufe und somit auch die Notwendigkeit einer individuellen Spenderführung. Pauschale Spenderrückstellungen, wie sie zurzeit angewendet werden, können dem nicht gerecht werden.

Im Rahmen der Auswertung der GEW-Daten war festzustellen, dass im Bereich hoher Spendefrequenzen von mehr als einer Plasmapherese pro Woche eine große Abhängigkeit zwischen Spendefrequenz und Spendezeitraum bis zur ersten Rückstellung besteht. Bei niedrigen Spendefrequenzen konnte das nicht bestätigt werden (Abbildung 12). Das kann zum einen daran liegen, dass ab bestimmten Spendefrequenzen die Regenerationsfähigkeit an ihre Grenzen gelangt bzw. bereits ausgeschöpft ist und den Proteinverlust nicht mehr entsprechend ausgleichen kann. Die Rückstellung wird dann immer früher notwendig. Zum anderen muss bei niedrigen Spendefrequenzen der generelle Einfluss der Spendetätigkeit auf den Proteinhaushalt hinterfragt werden. Im Gegensatz zum IgG kann die GEW-Serumkonzentration erfahrungsgemäß effektiv über den Konsum proteinreicher Nahrungsmittel beeinflusst werden. Die Spender müssen daher eingehend über die Bedeutung einer eiweißreichen Ernährung bei regelmäßiger Plasmaspendetätigkeit aufgeklärt werden. In der SIPLA-Studie zeigte ein Vergleich von initialen (vor Beginn der Studie) und finalen (nach Abschluss der Studie) GEW-Konzentrationen auch bei intensiver Spendetätigkeit keine signifikanten Unterschiede (59). Das Gesamteiweiß stellt aufgrund seiner effektiven Beeinflussbarkeit über die Ernährung für gut aufgeklärte Plasmaspender wohl nicht den limitierenden Faktor der Plasmapherese dar. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurden keine Ernährungsdaten erhoben. Es kann daher keine Aussage über die Anwendung der ermittelten Prognoseformel in Abhängigkeit von den Ernährungsgewohnheiten des einzelnen Spenders getroffen werden. Dies bleibt zu prüfen.

Zusammenfassend verhalten sich IgG und GEW nahezu unabhängig voneinander. Beide werden jedoch von der Plasmapherese beeinflusst. GEW regeneriert schneller als IgG. Im Einklang mit den Ergebnissen der SIPLA-Studie stellt somit das IgG den limitierenden Faktor für die Spendersicherheit dar.

## 5.2. Prospektiver Teil

### 5.2.1. Nachweis von Volumenflüssen bei Plasmaspendern

#### Spenderpopulation

80% der Spender waren Männer. Der Body-Mass-Index war im Mittel leicht erhöht. Die kalkulierten Volumenverschiebungen und –bilanzen beziehen sich demzufolge auf Spender mit eher hohem Blutvolumen. Die Risikogruppe für hypovolämisch bedingte unerwünschte Ereignisse bilden jedoch junge Frauen mit niedrigem Blutvolumen. Sie wurden durch diese Untersuchungen nur unterdurchschnittlich erfasst. Weitere Untersuchungen sind daher erforderlich, um die Anwendung der erstellten Volumenmodelle auch auf diese Spendergruppe zu prüfen.

Innerhalb der hier untersuchten Spenderpopulation zeigte sich kein Zusammenhang zwischen interstitiellem Nachstrom in den Intravasalraum und Body-Mass-Index oder Blutvolumen. Größe und Gewicht der Spender beeinflussten die Volumendifferenzen der einzelnen Volumenkompartimente nicht. Es konnte nicht gezeigt werden, dass ein hohes Körpergewicht und große Ausgangsvolumina (BV, TBW, ECW) entsprechend größere Volumenverschiebungen bedingen.

Bei allen Spendern handelte es sich um Dauerspender. Es ist bekannt, dass in dieser Spendergruppe deutlich seltener als bei Erstspendern unerwünschte systemische Ereignisse auftreten. Auch im Rahmen dieser Studie kam es zu keinem unerwünschten Ereignis. Es ist allerdings nicht bekannt, auf welche Art und Weise und in welchem Ausmaß der Körper sich an hypovolämische Reize einer regelmäßigen Plasmapherese adaptieren kann.

Die Spenderpopulationen in Gruppe TVN (BCM-Messung unmittelbar vor und bis 30 Minuten nach der Plasmapherese) und T2d (BCM-Messung unmittelbar vor und 2 Tage nach der Plasmapherese) unterschieden sich wesentlich in ihrem Verhalten vor der zweiten Messung. Im Vorfeld der Spende und somit der ersten BCM-Messung hatten sich die Spender beider Gruppen bewusst auf das Verfahren vorbereitet, entsprechend gegessen und getrunken. In Gruppe TVN galten diese Voraussetzungen auch für die zweite BCM-Messung nach der Plasmapherese. In Gruppe T2d hingegen erschienen die Spender zur zweiten Messung entsprechend unvorbereitet. Eine erneute Plasmaspende wäre zu diesem Zeitpunkt noch nicht möglich gewesen.

## Datenerhebung und Datenqualität

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass die Bioimpedanzspektroskopie eine zuverlässige Methode zur Bestimmung von TBW, ECW und ICW darstellt. Sie liefert gut reproduzierbare Ergebnisse in Bezug auf die Bestimmung von Volumenverschiebungen zwischen den einzelnen Flüssigkeitskompartimenten. Insbesondere die während einer Apherese durchgeführten Impedanzmessungen überzeugten durch ihre Präzision. Die verfahrensbedingten Volumenschwankungen zwischen Vollblutentnahme, Zellrückgabe und abschließender NaCl-Substitution wurden plausibel abgebildet (Tabelle 33 und Abbildung 13).

Der BCM, der im Rahmen dieser Untersuchungen erstmals bei der präparativen Plasmapherese angewendet wurde, ist eine nicht invasive, einfach anzuwendende und schnelle Möglichkeit zur Darstellung des Hydratationsstatus. Ohne großen Aufwand können Volumenverschiebungen zwischen den einzelnen Kompartimenten vor, während und nach einer Plasmapherese bestimmt werden. Alternative Verfahren der Volumenbestimmung einzelner Kompartimente (Kalium-, Deuterium- oder Bromidverdünnungsmethoden), die auch als Referenzmethoden bei der Validierung des BCM verwendet wurden, wären im Rahmen einer Plasmapherese weder umsetzbar noch ethisch vertretbar (16).

Alle Voraussetzungen für eine gute Qualität der Messungen (liegende Position des Spenders, Ruhe, sorgfältige Anbringung der Elektroden auf fettfreier Haut, etc.) könnten ohne großen Aufwand im Rahmen einer Plasmapherese erfüllt werden. Es gibt wenige Kontraindikationen für die Anwendung des BCM. Dazu zählen Prothesen, Amputationen, Stents, Herzschrittmacher oder auch Schwangerschaft. Hiervon betroffene Spender sind jedoch bereits auf Grund der Richtlinien zur Spenderzulassung von der Plasmaspende ausgeschlossen.

Kurz vor Beginn der Apherese aufgenommene, noch nicht resorbierte Trinkmengen, werden von der Impedanzmessung nicht erfasst. Sie befinden sich zum Zeitpunkt der Messung im gastroenteralen System und verändern die Leitfähigkeit nicht. Die fehlende Erfassung dieses Flüssigkeitsvolumens hat keinen Einfluss auf die Ergebnisse der Gruppe TVN, da sie an den untersuchten Volumenverschiebungen während und bis 30 Min. nach der Plasmapherese nicht beteiligt sein können. Auch die Ergebnisse der Gruppe T2d werden nicht beeinflusst, da davon auszugehen ist, dass dieses Volumen im Zeitraum bis zwei Tage nach der Plasmapherese bereits wieder ausgeschieden ist. Ando et al. hatten zwar gezeigt, dass das Trinken von 300 mL Wasser kurz vor einer Blutspende das Risiko vasovagaler Synkopen signifikant verringert (2). Spätere Untersuchungen konnten dies nicht bestätigen. Ob dies jedoch teilweise auf eine Volumenkompensation zurückzuführen ist, bleibt unklar. Mögliche zugrunde liegende psychologische Ursachen müssen berücksichtigt werden. Die Ergebnisse der Autoren bezogen sich zudem ausschließlich auf Vollblutspenden.

Die Ergebnisse in Gruppe TVN zeigen, dass es sich bei den durch die Plasmapherese ausgelösten Volumenverschiebungen im Sinne einer Volumenkompensation um einen sehr schnell einsetzenden Prozess handelt. Das Gesamtkörperwasser reduzierte sich um 130 mL, wohingegen sich das extrazelluläre Wasser um 230 mL verringerte. Es zeigt sich der Eingriff der Plasmapherese insbesondere in den extrazellulären Raum. Ob der Nachstrom aus dem interstitiellen Raum nach Ablauf der Beobachtungszeit von 30 Min. (Gruppe TVN) bereits abgeschlossen war, kann nicht gesagt werden. Über diesen Zeitraum hinausgehende Messungen zur Identifizierung von Volumenverschiebungen innerhalb der ersten Stunden nach einer Plasmapherese wären daher sinnvoll. Die Ergebnisse in Gruppe TVN wurden durch die Impedanzmessungen während einer Plasmapherese bestätigt.

Die doppelt so hohe Reduktion des Gesamtkörperwassers am zweiten Tag nach der Plasmapherese (Gruppe T2d, 260 mL) im Vergleich zum Zeitpunkt unmittelbar nach der Plasmapherese (Gruppe TVN, 130 mL) könnte auf einen späten Flüssigkeitsverlust hindeuten. Inwieweit dieser als direkte Spätauswirkung der Plasmapherese gesehen werden kann, ist unklar. Auch Ernährungs- und Lebensgewohnheiten bestimmen den Hydratationsstatus zu diesem Zeitpunkt unabhängig vom Einfluss der vor zwei Tagen geleisteten Plasmaspende. Zum Zeitpunkt der zweiten Messung war keine Plasmapherese möglich, sodass die Spender im Vorfeld nicht auf eine bestimmte, ihnen empfohlene Trinkmenge geachtet haben.

## **5.2.2. Verdünnungsfaktoren**

### Einfluss der Plasmapherese auf Proteinkonzentrationen

Die vor und nach Plasmapherese bestimmten Proteinkonzentrationen fielen durch einen großen Anteil sehr niedriger Werte auf. Insgesamt hätten 20% (10/49) der Spender auf Grund zu niedriger IgG- und/oder GEW-Konzentrationen vor der Spende nicht zur Spende zugelassen werden dürfen. Der retrospektive Teil dieser Studie hatte bereits gezeigt, dass im Rahmen der Spendetätigkeit durchaus sehr niedrige Proteinkonzentrationen von unter 5 g/L erreicht werden. Diese waren im Rahmen der Routine-Kontrolluntersuchung aufgefallen. Der Spender wurde anschließend temporär von weiteren Spenden zurückgestellt und konnte so vor einer weiteren Abnahme des Proteingehalts geschützt werden. Die Laborkontrollen im Rahmen der Analyse der Verdünnungsfaktoren jedoch wurden innerhalb des vorgegebenen Kontrollintervalls zusätzlich durchgeführt und können daher als Zwischenkontrolle während aktiver Spendetätigkeit angesehen werden. Es wurden wieder Konzentrationen von unter 5 g/L identifiziert. Sie zeigen das „Risiko“ des Kontrollintervalls von jeder 5. Spende. Insgesamt zeigt sich auch hier, wie wichtig eine individuelle Betreuung des Spenders ist. Es wird deutlich, dass die Ergebnisse der IgG- und GEW-Kontrolluntersuchungen vor der nächsten

Spende vorliegen sollten, es sei denn, die Länge der Spendepause (z.B. > 8 Wochen) lässt plausibel eine vollständige Regeneration erwarten. Nur dann können Spendeintervalle sinnvoll eingesetzt und die Spendersicherheit gewährleistet werden. Spender mit niedrigen IgG-Ausgangskonzentrationen sollten geringe Spendefrequenzen einhalten, Spender mit hohen IgG-Ausgangskonzentrationen sollten in Abhängigkeit von aktuellen Laborbefunden und persönlicher Motivation individuell geführt werden. Erst wenn Laborkontrollen zeigen, dass der Spender eine bestimmte Spendefrequenz verträgt, könnte die Spendefrequenz schrittweise erhöht werden. Andernfalls schützen die geltenden pauschalen Grenzwerte den Spender nicht in allen Fällen. Es empfiehlt sich, nicht nur pauschale Grenzwerte in die Richtlinien zu integrieren, sondern Ärzten Regeln für eine individuelle Festlegung von Spendefrequenzen zur Verfügung zu stellen. Spender mit niedrigen Ausgangskonzentrationen dürfen nicht mit zu hohen Spendefrequenzen gefährdet werden. Spender mit hohen Ausgangskonzentrationen an IgG und GEW sollten ggf. auch bis zu 60 Spenden und mehr gefahrlos spenden dürfen, wie es bereits in den USA und im Rahmen der SIPLA-Studie erfolgreich praktiziert wird und wurde. Allerdings ist eine engmaschige Kontrolle der beiden Parameter notwendig, wie sie in den Richtlinien vorgeschrieben ist.

Ein weiterer Aspekt der Plasmaproteinkonzentration des Spenders ist ihre Auswirkung auf die Qualität des Fraktionierungsplasmas. Runkel et al. beschrieben 2005 für Aphereseplasma eine niedrigere IgG-Konzentration bei gleichzeitig höherer Faktor VIII- und Faktor IX-Konzentration im Vergleich zu aus Vollblutspenden gewonnenem Plasma (56). Eine weitere Studie aus dem Jahr 2010 von Laub et al. ergab, dass amerikanische Plasmapools von Spendern mit hoher Spendefrequenz und großen Spendevolumina signifikant geringere GEW-, IgG-, IgM- und Albuminkonzentrationen aufwiesen als europäische Pools (37). Die Proteinkonzentration des Pools wirkt sich als Antriebsfaktor direkt auf Yield und Kosten/Nutzen-Verhältnis des Fraktionierungsprozesses aus.

Um Ausmaß und Richtung der Volumenverschiebungen während und nach einer Plasmaapherese näher beschreiben zu können, wurden Proteinverdünnungsfaktoren berechnet. Sie wiesen keine statistisch signifikanten Unterschiede auf. IgM ist das Plasmaprotein mit der größten intra-/extravasalen Konzentrationsdifferenz. Es liegt überwiegend intravasal vor. Der intravasale Anteil eines Proteins ist abhängig von der transkapillären Austauschrate (transcapillary escape rate: TER) und dem Rückstrom über das Lymphsystem. Je höher die TER ist, desto geringer ist der intravasale Anteil einer Gesamtmolekülmenge. Mit 1% pro Stunde liegt für das IgM die kleinste TER und somit der größte intravasale Anteil der untersuchten Proteine vor. Nur 10 – 20% des gesamten IgM befinden sich extravasal (55). Im Rahmen von Volumenverschiebungen aus dem extravasalen (interstitiellen) in den intravasalen Raum kommt es daher zum Einstrom besonders niedrig konzentrierter Flüssigkeit. Dies fand sich

jedoch nicht in einem gegenüber den anderen Proteinen signifikant erhöhten Verdünnungsfaktor wieder (Tabelle 38).

Erstmals wurde in dieser Arbeit ein Modell auf Basis von Verdünnungsfaktoren angewendet. Über die Fc-Rezeptoren verschiedener Zelltypen steht den IgG-Molekülen die Möglichkeit eines selektiven Transports zur Verfügung. Auch eine durch Basalmembrane in Abhängigkeit vom Molekulargewicht behinderte oder eine ungehinderte Diffusion sind möglich. Die Ergebnisse zeigen keine Abhängigkeit vom Molekulargewicht, was eher für eine freie Diffusion sprechen könnte. Andererseits finden sich im intravasalen Raum deutlich höhere IgG-Konzentrationen als im interstitiellen Raum. Dieser Konzentrationsgradient wirkt einer freien Diffusion aus dem interstitiellen in den intravasalen Raum entgegen. Die Untersuchungen mit dem BCM zeigten einen schnellen Volumen-/Wasseraustausch zwischen den Kompartimenten. Der Proteintransportmechanismus unabhängig vom Molekulargewicht bleibt weiter zu prüfen.

Es wurden auch Spender identifiziert, bei denen es zu einer Konzentrierung eines oder mehrerer Proteine im Plasma kam. Bei ihnen fand kein mit dieser Methode messbarer Volumeneinstrom in den Intravasalraum statt. Ein Zusammenhang mit dem Hydratationsstatus des Spenders konnte nicht hergestellt werden: Es handelte sich um Spender mit negativer und positiver Hydratationsbilanz vor der Spende. Weder extra- oder intrazelluläres Volumen, noch das Gesamtkörperwasser und deren Veränderung durch die Plasmapherese spielten eine Rolle. Es bleibt daher der erneute Verweis auf die große Individualität des Einflusses der Plasmapherese auf den Eiweiß- und Volumenhaushalt des Spenders. Erst die Anwendung der Methoden in größeren Spenderpopulationen könnte weitere Hinweise liefern.

#### Kalkulation des interstitiellen Volumennachstroms und Volumenbilanz auf der Basis von Verdünnungsfaktoren und BCM

Die Kalkulation des interstitiellen Volumennachstroms über den IgM-Verdünnungsfaktor ist an zwei Voraussetzungen geknüpft: an eine überwiegend intravasale Verteilung des IgM und an ein konstantes Plasmavolumen. Da IgM nicht ausschließlich im intravasalen Raum vorkommt und Moleküle im Zuge des Volumeneinstroms in den Intravasalraum mit übertreten könnten, besteht die Möglichkeit, dass der IgM Verdünnungsfaktor gering falsch zu hoch kalkuliert wurde.

Bei einem durchschnittlichen Plasmavolumen von 2,9 Litern (Tabelle 23) bedeutet das kalkulierte Volumendefizit von 334 mL einen Anteil von 11,5% (Formel 30). Bezogen auf das gesamte, der Volumenkompensation schnell zur Verfügung stehende, extrazelluläre Volumen von 19 L beträgt das Volumendefizit nach der Spende ca. 1,8%. Eine festgelegte maximale Spendemenge hat – unabhängig vom ihr zugrunde gelegten Kalkulationsmodell – das Ziel,

das Auftreten unerwünschter Ereignisse zu reduzieren. Im internationalen Vergleich verwenden die Richtlinien sehr unterschiedliche Parameter für die Bestimmung der maximal zulässigen Spendemenge (Geschlecht, Gewicht, extrakorporales Volumen, etc.). Insbesondere die Festlegung maximaler extrakorporaler Volumina würde eine kontinuierliche Überwachung während des gesamten Verfahrens verlangen. Dies ist mit den derzeit zur Verfügung stehenden Methoden nicht möglich. Erfahrungen in den USA mit nicht vermehrt auftretenden unerwünschten Ereignissen bei großen Spendevolumina liegen vor. Die SIPLA-Studie bestätigte diese Erfahrungen im Jahr 2006 auch für Deutschland (59). Als Grund für die gute Verträglichkeit großer Spendemengen kann nun auf Basis der vorliegenden Ergebnisse dieser Studie der erstmals nachgewiesene schnelle und effektive Prozess des Volumenausgleichs gesehen werden. Die Schätzung des extrakorporalen Volumens für die Festlegung der maximalen Spendemenge konnte damit zumindest für Mehrfachspender deutlich relativiert werden, zumal wie oben beschrieben, effektive Überwachungsmethoden fehlen.

Auf der Basis weiterer Untersuchungen kann die Messmethodik des BCM daher durchaus einen Beitrag zur individuellen Festlegung der Spendemenge leisten. Die Impedanzspektroskopie misst unmittelbar und kann die Spendemenge in Bezug zum aktuellen Hydratationsstatus setzen. Da die derzeit verfügbare Anwendungsform jedoch aus Kosten- und Personalgründen nicht im Rahmen jeder Spende praktikabel erscheint, sind weitere Untersuchungen zu einer möglichen Optimierung des Anwendungsprozesses erforderlich. Perspektivisch könnte auch eine Integration des Messsystems in die Plasmapheresemaschine geprüft werden.

Der retrospektive Teil dieser Untersuchungen konnte zeigen, dass eine Individualisierung der Rückstellungsdauer durch die Berücksichtigung von aktuellem Hydratationsstatus und individueller Kompensationsfähigkeit gleichzeitig Spenderschutz und Plasmaqualität verbessern kann.

Im prospektiven Teil wurde erstmals die hohe Geschwindigkeit des Volumenausgleichs zwischen den Kompartimenten nachgewiesen. Damit wird nun erklärbar, dass die Plasmapherese auch bei größeren Spendevolumina ein gut verträgliches und sicheres Verfahren ist. Der Volumenstrom aus dem Interstitium in das Plasmakompartiment bedeutet Sicherheit für den Spender während und nach der Spende. Die langsamere Regeneration der Eiweiße, insbesondere des IgG, limitieren jedoch deutlich die individuell verträgliche Spendefrequenz und Spendemenge.

### 5.3. Schlussfolgerungen

- IgG und GEW verhalten sich bei der Plasmapherese unabhängig voneinander.
- IgG- und GEW-Konzentrationen und Regenerationsraten unterliegen großen individuellen Unterschieden.
- Die derzeit praktizierte, im Rahmen der Richtlinien pauschalisierte IgG- und GEW-Rückstellungspraxis wird dem Anspruch einer individuellen Spenderführung im Sinne der Gewährleistung einer hohen Spendersicherheit nicht ausreichend gerecht.
- Sehr niedrige Plasmaproteinkonzentrationen werden durch die derzeit angewendeten IgG-/GEW-Kontrollintervalle nicht verhindert.
- Die fest vorgeschriebene Rückstellungsfrist entspricht nicht zuverlässig der tatsächlich erforderlichen individuellen Rückstellungsfrist.
- Wiederholte IgG-Konzentrationen von weniger als 5 g/L könnten durch eine individuelle Spenderführung vermieden werden.
- Das Kontrollregime sollte in Abhängigkeit von Ausgangslevel und Regenerationsrate des IgG individuell festgelegt werden. Niedrige Ausgangskonzentrationen erfordern kürzere Kontrollabstände als hohe Ausgangskonzentrationen. Niedrige GEW-Konzentrationen erfordern Ernährungshinweise und kurze Kontrollabstände.
- Die Implementierung der über ein Prognosemodell kalkulierten individuellen Rückstellungszeiträume in die Spenderdatenbank stellt eine weitere Möglichkeit zur Individualisierung und Optimierung des Spenderschutzes dar. Das im Rahmen dieser Studie entwickelte Prognosemodell für die Bestimmung des Zeitpunktes einer erfolgreichen Wiedervorstellung nach Rückstellung könnte nach weiterer Prüfung in die Rückstellungspraxis einfließen.
- Schnell einsetzende Volumenverschiebungen begründen die geringe Kollapsgefahr während und nach einer Plasmapherese. Das extrakorporale Volumen braucht daher nicht in die Kalkulation der maximalen Spendemenge einzufließen.
- Die Volumenverschiebungen aus dem extravasalen in den intravasalen Raum führen zu einer deutlichen Verdünnung der Plasmaproteine IgM, IgG, Albumin und GEW.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K (2009) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
2. Ando S, Kawamura N, Matsumoto M, Dan E, Takeshita A, Murakami K, Kashiwagi S, Kiyokawa H (2009) Simple standing test predicts and water ingestion prevents vasovagal reaction in the high-risk blood donors. *Transfusion* 49:1630-1636
3. Beeck H, Becker T, Kiessig ST, Kaeser R, Wolter K, Hellstern P (1999) The influence of citrate concentration on the quality of plasma obtained by automated plasmapheresis: a prospective study. *Transfusion* 39:1266-1270
4. Brambell FW, Hemmings WA, Morris IG (1964) A Theoretical Model of Gamma-Globulin Catabolism. *Nature* 203:1352-1354
5. Bundesärztekammer (2001) Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
6. Bundesärztekammer (2005) Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
7. Bundesärztekammer (2008) Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten
8. Bundesärztekammer (2010) Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12 und 18 TFG
9. Burgin M, Hopkins G, Moore B, Nasser J, Richardson A, Minchinton R (1992) Serum IgG and IgM levels in new and regular long-term plasmapheresis donors. *Med Lab Sci* 49:265-270
10. Bystryn JC (1971) A model for the regulation of antibody synthesis by serum antibody. *Prog Immunol* 1
11. Cole K, Cole R (1941) Dispersion and absorption in dielectrics I. Alternating current characteristics. *J Chem Phys* 9:341-351
12. Crocco A, D'Elia D (2007) Adverse reactions during voluntary donation of blood and/or blood components. A statistical-epidemiological study. *Blood Transfus* 5:143-152
13. Crocco I, Franchini M, Garozzo G, Gandini AR, Gandini G, Bonomo P, Aprili G (2009) Adverse reactions in blood and apheresis donors: experience from two Italian transfusion centres. *Blood Transfus* 7:35-38
14. DGTI Sektion Präparative und Therapeutische Hämapherese (2007) Gutachterliche Stellungnahme - Maximales Entnahmevolumen pro Spende und zulässige Spendefrequenz bei der präparativen Plasmapherese – aus der Perspektive des Spenderschutzes
15. Edwards BS, Zimmerman RS, Schwab TR, Heublein DM, Burnett JC, Jr. (1988) Atrial stretch, not pressure, is the principal determinant controlling the acute release of atrial natriuretic factor. *Circ Res* 62:191-195

16. Ellis KJ, Wong WW (1998) Human hydrometry: comparison of multifrequency bioelectrical impedance with 2H<sub>2</sub>O and bromine dilution. *J Appl Physiol* 85:1056-1062
17. French M (1986) Serum IgG subclasses in normal adults. *Monogr Allergy* 19:100-107
18. Friedman BA, Schork MA, Mocniak JL, Oberman HA (1975) Short-term and long-term effects of plasmapheresis on serum proteins and immunoglobulins. *Transfusion* 15:467-472
19. Gessner JE, Heiken H, Tamm A, Schmidt RE (1998) The IgG Fc receptor family. *Ann Hematol* 76:231-248
20. Ghetie V, Ward ES (2002) Transcytosis and catabolism of antibody. *Immunol Res* 25:97-113
21. Gonzalez-Quintela A, Alende R, Gude F, Campos J, Rey J, Meijide LM, Fernandez-Merino C, Vidal C (2008) Serum levels of immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) in a general adult population and their relationship with alcohol consumption, smoking and common metabolic abnormalities. *Clin Exp Immunol* 151:42-50
22. Greinacher A, Fendrich K, Brzenska R, Kiefel V, Hoffmann W (2011) Implications of demographics on future blood supply: a population-based cross-sectional study. *Transfusion* 51:702-709
23. Grey HM, Kunkel HG (1964) H Chain Subgroups of Myeloma Proteins and Normal 7s Gamma-Globulin. *J Exp Med* 120:253-266
24. Hamilton RG (1987) Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. *Clin Chem* 33:1707-1725
25. Hamilton RG (2001) Human IgG subclass book. Calbiochem-Novabiochem Baltimore
26. Joint UKBTS/HPA Professional Advisory Committee (JPAC) (2010) Guidelines for the Blood Transfusion Services in the UK 7th Edition, Change Notification UK National Blood Services No. 12 - 2010
27. Junghans RP (1997) IgG biosynthesis: no "immunoregulatory feedback". *Blood* 90:3815-3818
28. Karger R, Slonka J, Junck H, Kretschmer V (2003) Extracorporeal blood volume of donors during automated intermittent-flow plasmapheresis and its relevance to the prevention of circulatory reactions. *Transfusion* 43:1096-1106
29. Karger R, Halbe M, Dinges G, Wulf H, Kretschmer V (2006) Blood volume regulation in donors undergoing intermittent-flow plasmapheresis involving a high extracorporeal blood volume. *Transfusion* 46:1609-1615
30. Karger R, Halbe M, Giffhorn-Katz S, Katz N, Kretschmer V (2007) Atrial natriuretic peptide serum concentration decreases in donors undergoing discontinuous plasmapheresis involving a large extracorporeal blood volume. *Transfusion* 47:1717-1724
31. Keller (1994) *Immunologie und Immunpathologie* Thieme Verlag Stuttgart New York

32. Kim J, Bronson CL, Hayton WL, Radmacher MD, Roopenian DC, Robinson JM, Anderson CL (2006) Albumin turnover: FcRn-mediated recycling saves as much albumin from degradation as the liver produces. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290:352-360
33. Kimata H, Yoshida A, Ishioka C, Masuda S, Sasaki R, Mikawa H (1991) Human recombinant erythropoietin directly stimulates B cell immunoglobulin production and proliferation in serum-free medium. *Clin Exp Immunol* 85:151-156
34. Kimata H, Yoshida A, Ishioka C, Mikawa H (1991) Erythropoietin enhances immunoglobulin production and proliferation by human plasma cells in a serum-free medium. *Clin Immunol Immunopathol* 59:495-501
35. Kliman A, Carbone PP, Gaydos LA, Freireich EJ (1964) Effects of Intensive Plasmapheresis on Normal Blood Donors. *Blood* 23:647-656
36. Kuo TT, Baker K, Yoshida M, Qiao SW, Aveson VG, Lencer WI, Blumberg RS (2010) Neonatal Fc receptor: from immunity to therapeutics. *J Clin Immunol* 30:777-789
37. Laub R, Baurin S, Timmerman D (2010) Specific protein content of pools of plasma for fractionation from different sources: impact of frequency of donations. *Vox Sang* 99:220-231
38. Lencer WI, Blumberg RS (2005) A passionate kiss, then run: exocytosis and recycling of IgG by FcRn. *Trends Cell Biol* 15:5-9
39. Lewis SL, Kutvirt SG, Simon TL (1992) Investigation of the effect of long-term whole blood donation on immunologic parameters. *Transfusion* 32:51-56
40. Margaron MP, Soni N (1998) Serum albumin: touchstone or totem? *Anaesthesia* 53:789-803
41. McFarlane A (1957) The behavior of I 131-labeled plasma proteins in vivo. *Ann N Y Acad Sci* 70:19-25
42. McLeod BC, Price TH, Owen H, Ciavarella D, Sniecinski I, Randels MJ, Smith JW (1998) Frequency of immediate adverse effects associated with apheresis donation. *Transfusion* 38:938-943
43. Mendez CM, McClain CJ, Marsano LS (2005) Albumin therapy in clinical practice. *Nutr Clin Pract* 20:314-320
44. Nadler S, Hidalgo J, Bloch T (1962) Prediction of blood volume in normal human adults. *Surgery* 51:224-232
45. Nose M, Wigzell H (1983) Biological significance of carbohydrate chains on monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 80:6632-6636
46. Orange JS, Grossman WJ, Navickis RJ, Wilkes MM (2010) Impact of trough IgG on pneumonia incidence in primary immunodeficiency: A meta-analysis of clinical studies. *Clin Immunol* 137:21-30
47. Österreichisches Bundesministerium für Arbeit Gesundheit und Soziales (2007) Verordnung betreffend den Gesundheitsschutz von Spendern und die Qualitätssicherung von Blut und Blutbestandteilen (Blutspenderverordnung - BSV)

48. Paul-Ehrlich-Institut (2011) Gewinnung, Herstellung, Import, Export und Verbrauch 2010 - Vorläufiger Bericht
49. Quinti I, Soresina A, Guerra A, Rondelli R, Spadaro G, Agostini C, Milito C, Trombetta AC, Visentini M, Martini H, Plebani A, Fiorilli M (2011) Effectiveness of immunoglobulin replacement therapy on clinical outcome in patients with primary antibody deficiencies: results from a multicenter prospective cohort study. *J Clin Immunol* 31:315-322
50. Raghavan M, Bjorkman PJ (1996) Fc receptors and their interactions with immunoglobulins. *Annu Rev Cell Dev Biol* 12:181-220
51. Rodell MB (1993) Collection of source material from remunerated donors. *Dev Biol Stand* 81:57-64
52. Rodell MB, Lee ML (1999) Determination of reasons for cessation of participation in serial plasmapheresis programs. *Transfusion* 39:900-903
53. Roitt IM (1988) Leitfaden der Immunologie
54. Roopenian DC, Akilesh S (2007) FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nat Rev Immunol* 7:715-725
55. Rossing N (1978) Intra- and extravascular distribution of albumin and immunoglobulin in man. *Lymphology* 11:138-142
56. Runkel S, Haubelt H, Hitzler W, Hellstern P (2005) The quality of plasma collected by automated apheresis and of recovered plasma from leukodepleted whole blood. *Transfusion* 45:427-432
57. Schadt JC, Ludbrook J (1991) Hemodynamic and neurohumoral responses to acute hypovolemia in conscious mammals. *Am J Physiol* 260:305-318
58. Schroeder HW, Jr., Cavacini L (2010) Structure and function of immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol* 125:41-52
59. Schulzki T, Seidel K, Storch H, Karges H, Kiessig S, Schneider S, Taborski U, Wolter K, Steppat D, Behm E, Zeisner M, Hellstern P (2006) A prospective multicentre study on the safety of long-term intensive plasmapheresis in donors (SIPLA). *Vox Sang* 91:162-173
60. Shakib F, Stanworth DR (1980) Human IgG subclasses in health and disease (A review). Part II. *Ric Clin Lab* 10:561-580
61. Shanbrom E, Lundak R, Walford RL (1972) Long-term plasmapheresis: effects on specific plasma proteins. *Transfusion* 12:162-167
62. Simister NE, Mostov KE (1989) An Fc receptor structurally related to MHC class I antigens. *Nature* 337:184-187
63. Spiegelberg HL (1974) Biological activities of immunoglobulins of different classes and subclasses. *Adv Immunol* 19:259-294
64. The Marketing Research Bureau Inc. (2011) The Worldwide Plasma Fractions Market 2010

65. Thomas L (2007) Labor und Diagnose
66. Thomasset A (1963) Bio-electric properties of tissues. Estimation by measurement of impedance of extracellular ionic strength and intracellular ionic strength in the clinic. *Lyon Med* 209:1325-1350
67. Tran-Mi B, Storch H, Seidel K, Schulzki T, Haubelt H, Anders C, Nagel D, Siegler KE, Vogt A, Seiler D, Hellstern P (2004) The impact of different intensities of regular donor plasmapheresis on humoral and cellular immunity, red cell and iron metabolism, and cardiovascular risk markers. *Vox Sang* 86:189-197
68. US Government Printing Office (2001) Code of federal regulations Title 21 CFR Part 640
69. Wabel P (2007) Reproducibility of bioimpedance spectroscopy for the assessment of body composition and dry weight. *J Am Soc Nephrol* 18
70. Wabel P, Chamney P, Moissl U, Jirka T (2009) Importance of whole-body bioimpedance spectroscopy for the management of fluid balance. *Blood Purif* 27:75-80
71. Waldmann TA, Strober W (1969) Metabolism of immunoglobulins. *Prog Allergy* 13:1-110
72. Weichselbaum TE (1946) An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Pathol* 10:40-49
73. Zou S (2008) Donor deferral and resulting donor loss at the American Red Cross Blood Services, 2001 through 2006. *Transfusion* 48:2531-2539

## 7. Publikationen

1. *„IgG metabolism in plasma donors depending on individual conditions“*,  
31<sup>st</sup> International Congress of the ISBT in Joint Cooperation with the 43rd Congress of the DGTI, 2010, Posterbeitrag
2. *„Dilution of plasma proteins during plasmapheresis by interstitial volume influx“*,  
21<sup>st</sup> Regional Congress of the ISBT, 2011, Posterbeitrag
3. *„Exchange of volumes during preparative plasmapheresis“*,  
21<sup>st</sup> Regional Congress of the ISBT, 2011, Posterbeitrag
4. *„Volumes Exchange During Preparative Plasmapheresis“*,  
45. Jahreskongress der DGTI, 2012, Posterbeitrag
5. *„Dilution of Plasma Proteins during Plasmapheresis by Interstitial Volume Influx“*,  
45. Jahreskongress der DGTI, 2012, Posterbeitrag  
*Comparison of two different methods for the evaluation of volume flows during preparative plasmapheresis*, 45. Jahreskongress der DGTI, 2012, Posterbeitrag

## 8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die dazu beigetragen haben, dass diese Promotion ihren Anfang und nun auch ihren Abschluss gefunden hat.

Herrn Prof. Dr. Peter Hellstern danke ich für die Übernahme des Themas, die gesamte Betreuung der Arbeit sowie die raschen und effektiven Korrekturen.

Meinem ehemaligen Arbeitgeber, der HAEMA AG, danke ich für die Möglichkeit der Erstellung dieser Promotion. Mein besonderer Dank gilt hier Herrn Dr. med. habil. Stephan Kießig und Herrn Dr. Dr. med. Krause, die mir zu jeder Zeit fachlich, motivierend und stets mit einem offenen Ohr zur Seite standen.

Ich danke Herrn Dr. Steffen Schneider vom Institut für Herzinfarktforschung Ludwigshafen für die statistische Unterstützung sowie der Firma Fresenius Medical Care für die Bereitstellung des Body Composition Monitors.

Von ganzem Herzen danke ich meinem Freund Thorsten für seine aufopferungsvolle Unterstützung und meinen Eltern für ihre liebevolle Begleitung.

Ein großes Dankeschön geht auch an meine Freundin Nancy, die mich in schwierigen Momenten immer wieder aufgebaut hat.

## 9. Lebenslauf

01.06.1981 geboren in Köln

### **Beruflicher Werdegang**

seit 03/2013

#### **Median Klinik Grünheide**

- Assistenzärztin in der Klinik für Neurologische Frührehabilitation

08/2012 – 01/2013

#### **Helios Klinikum Bad Saarow**

- Assistenzärztin in der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe

05/2008 – 07/2012

#### **Haema AG**

- Assistenzärztin in Weiterbildung zur Fachärztin für Transfusionsmedizin

- Spendeärztin

- Stellv. Zentrale Stufenplanbeauftragte

- Strahlenschutzbeauftragte

10/2007

Staatsexamen, Approbation

10/2000 – 10/2007

Studium der Humanmedizin an der Universität zu Köln

### **Schulabschluss**

04/2000

Abitur Apostelgymnasium Köln