

(12) **Gebrauchsmusterschrift**

(21) Anmeldenummer: GM 460/2010  
(22) Anmeldetag: 27.04.2007  
(24) Beginn der Schutzdauer: 15.08.2011  
(45) Veröffentlicht am: 15.10.2011

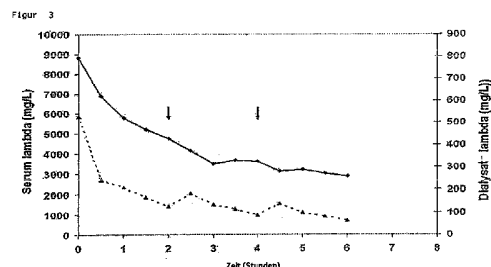
(51) Int. Cl. : **A61M 1/16** (2006.01)  
**A61M 1/34** (2006.01)  
**B01D 69/08** (2006.01)

(60) Abzweigung aus EP 01852136  
(30) Priorität:  
27.04.2006 GB 0608444 beansprucht.

(73) Gebrauchsmusterinhaber:  
GAMBRO LUNDIA AB  
S-22 643 LUND (SE)  
THE BINDING SITE GROUP LIMITED  
B14 4ZB BIRMINGHAM (GB)

(54) **DIALYSEMEMBRAN ZUR BEHANDLUNG VON MULTIPLEM MYELOM**

(57) Dialysemembran zur Behandlung von multiplem Myelom, die für Moleküle mit einem Molekulargewicht von bis zu 45 kDa in Gegenwart von Vollblut durchlässig ist und einen Molekulargewichtsausschlussgrenzwert in Wasser von etwa 200 kDa aufweist.



Wichtiger Hinweis:

Die in dieser Gebrauchsmusterschrift enthaltenen Ansprüche wurden vom Anmelder erst nach Zustellung des Recherchenberichtes überreicht (§ 19 Abs.4 GMG) und lagen daher dem Recherchenbericht nicht zugrunde. In die dem Recherchenbericht zugrundeliegende Fassung der Ansprüche kann beim Österreichischen Patentamt während der Amtsstunden Einsicht genommen werden.

## Beschreibung

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft eine Dialysemembran zur Behandlung von multiplem Myelom. Die Dialysemembran findet Anwendung auf dem Gebiet der Entfernung freier Leichtketten aus Blut.

**[0002]** Antikörper-Moleküle (auch als Immunoglobuline bekannt) haben eine zweifache Symmetrie und bestehen aus zwei identischen schweren Ketten und zwei identischen leichten Ketten, von denen jede veränderliche und konstante Domänen enthält. Die veränderlichen Domänen der schweren und leichten Ketten verbinden sich und bilden eine Antigen-Bindungsstelle, so dass beide Ketten zu der Antigen-Bindungsspezifität des Antikörper-Moleküls beitragen. Die grundlegende tetramere Struktur von Antikörpern umfasst zwei schwere Ketten, die durch eine Disulfidbindung kovalent verbunden sind. Jede schwere Kette ist ihrerseits mit einer Leichtkette verbunden, wiederum über eine Disulfidbindung, um ein im Wesentlichen „Y“-förmiges Molekül zu erzeugen.

**[0003]** Es gibt zwei Arten von Leichtketten: Lambda ( $\lambda$ ) und Kappa ( $\kappa$ ). Im Menschen werden ungefähr zweimal so viel  $\kappa$  wie  $\lambda$  erzeugt, aber in einigen Säugern ist dies völlig anders. Jede Kette enthält ungefähr 220 Aminosäuren in einer einzigen Polypeptidkette, die in eine konstante und eine veränderliche Domäne gefaltet ist. Plasmazellen erzeugen eine der fünf Arten schwerer Ketten zusammen mit entweder  $\kappa$  oder  $\lambda$  Molekülen. Es existiert im Normalfall ein ungefähr 40%iger Überschuss der Produktion freier Leichtketten über die Synthese schwerer Ketten. Wo die Leichtketten-Moleküle nicht an schwere Ketten-Moleküle gebunden sind, sind sie als „freie Leichtketten-Moleküle“ (FLCs) bekannt. Die  $\kappa$  Leichtketten werden normalerweise als Monomere vorgefunden. Die  $\lambda$  Leichtketten tendieren dazu, Dimere zu bilden.

**[0004]** Es gibt eine Anzahl von proliferativen Krankheiten, die mit Antikörper produzierenden Zellen verbunden sind. Figur 1 zeigt die Entwicklungsstadien von B-Zellen und die damit verbundenen Krankheiten. Diese Krankheiten sind als maligne B-Zellerkrankungen bekannt. Sie sind detailliert zusammengefasst in dem Buch "Serum-free Light Chain Analysis" (Serum freie Leichtketten-Analyse) von A.R. Bradwell, erhältlich von The Binding Site Limited, Birmingham, Vereinigtes Königreich (ISBN: 07044 24894), Dritte Ausgabe 2005 und der Zweiten Ausgabe des Buches (2004, ISBN 07044 24541).

**[0005]** In vielen derartigen Krankheiten vermehrt sich eine Plasmazelle stark und bildet einen monoklonalen Tumor aus identischen Plasmazellen. Dies hat die Herstellung großer Mengen identischer Immunoglobuline zur Folge und ist als monoklonale Gammopathie bekannt.

**[0006]** Krankheiten wie Myelom und primäre systemische Amyloidose (AL Amyloidose) sind für ungefähr 1,5% bzw. 0,3% der Krebstodesfälle im Vereinigten Königreich verantwortlich. Multiples Myelom (MM) ist die zweithäufigste Form maligner Bluterkrankungen nach dem Non-Hodgkin-Lymphom. In kaukasischen Bevölkerungsgruppen treten ungefähr 40 Fälle pro Million und pro Jahr auf. Üblicherweise stützt sich die Diagnose von MM auf die Anwesenheit überschüssiger monoklonaler Plasmazellen im Knochenmark, monoklonaler Immunoglobuline im Serum oder im Harn und damit verbundene Beeinträchtigungen von Organen oder Geweben, wie Hypercalcämie, Niereninsuffizienz, Anämie oder Knochenläsionen. Der normale Plasmazellengehalt des Knochenmarks beträgt ungefähr 1%, während der Gehalt bei MM typischerweise größer als 30% ist, aber auch über 90% betragen kann.

**[0007]** AL Amyloidose ist eine Störung der Proteinkonformation, die durch die Anhäufung von Bruchstücken monoklonaler freier Leichtketten als Amyloidablagerungen gekennzeichnet ist. Gewöhnlich zeigen diese Patienten Herz- oder Nierenversagen, aber es können auch periphere Nerven und sonstige Organe beteiligt sein.

**[0008]** The Binding Site Ltd. haben bereits früher eine empfindliche Nachweismethode entwickelt, welche die freien  $\kappa$  Leichtketten und, getrennt davon, die freien  $\lambda$  Leichtketten nachweisen kann (PCT/GB2006/000267, veröffentlicht als WO 2006/079816). Dieses Verfahren verwendet einen polyklonalen Antikörper, der entweder gegen die freien  $\kappa$  oder die freien  $\lambda$  Leichtketten

gerichtet ist. Der Nachweis freier Leichtketten (FLCs) wird im Detail in dem Buch von A.R. Bradwell besprochen. Die Möglichkeit, solche Antikörper zu erzeugen, wurde auch als eine einer Anzahl verschiedener möglicher Spezifitäten in WO 97/17372 diskutiert.

**[0009]** Es wurde gefunden, dass diese Form der Testmethode erfolgreich Konzentrationen freier Leichtketten ermitteln kann. Außerdem ist die Empfindlichkeit der Methode sehr hoch.

**[0010]** Bradwell A.R., et al. (Clin. & Applied Immunol. Reviews 3 (2002), 17-33) gibt einen Überblick über Immunoassays für freie Leichtketten im Serum und ihre Anwendungen. In der Vergangenheit ist nicht angenommen worden, dass die Konzentrationen von FLC im Harn die Synthese durch Plasmazellen genau reflektieren. Folglich hat es eine Bewegung weg von der Ermittlung der Konzentration im Harn zu auf Serum basierenden Nachweismethoden für FLCs mit Methoden wie Nephelometrie und Immunofixations-Elektrophorese gegeben. Die Veröffentlichung fasst den Stand des Wissens über Synthese und Metabolismus von FLCs in Bezug auf die Nierenfunktion zusammen.

**[0011]** Ungefähr 12-20% der MM Patienten werden erstmals mit akutem Nierenversagen vorstellig. 10% sind langfristig auf Dialyse angewiesen.

**[0012]** Freie  $\kappa$  und freie  $\lambda$  werden durch Filtration durch die Nieren entfernt und die Geschwindigkeit hängt von ihrer molekularen Größe ab. Monomere freie Leichtketten, typischerweise  $\kappa$ , werden in 2-4 Stunden mit 40% der Filtrationsrate des Glomerulus entfernt. Dimere freie Leichtketten, gewöhnlich  $\lambda$ , werden in 3-6 Stunden mit 20% der Filtrationsrate des Glomerulus entfernt, während große Moleküle langsamer entfernt werden. Die Entfernung kann bei MM Patienten bei Nierenversagen auf 2-3 Tage verlängert sein, wenn freie Leichtketten im Serum (sFLCs) durch die Leber und andere Gewebe entfernt werden (Russo et al. (2002) Am. J. Kidney Dis. 39, 899-919). Demgegenüber hat IgG eine Halbwertszeit von 21 Tagen, die nicht durch Beeinträchtigung der Nieren beeinflusst wird.

**[0013]** Es gibt ungefähr 0,5 Million Nephronen in jeder menschlichen Niere. Jedes Nephron enthält einen Glomerulus mit Poren, welche die Filtration von Serumolekülen in seinen proximalen Tubulus ermöglichen. Die Porengrößen sind variabel, wobei eine Einschränkung der Filtration bei ungefähr 40 kDa beginnt und bei 65 kDa fast vollständig ist. Protein-Moleküle, welche die Poren des Glomerulus passieren, werden dann entweder unverändert absorbiert oder in den Zellen des proximalen Tubulus abgebaut und als Fragmente ausgeschieden. Dies ist ein wesentlicher Mechanismus, um den Verlust von Proteinen und Peptiden in den Harn zu verhindern, und er ist sehr leistungsfähig. Der genaue Weg der freien Leichtkette ist unbekannt, aber zwischen 10-30 g pro Tag können durch die Nieren verarbeitet werden, so dass unter normalen Bedingungen sehr wenig freie Leichtkette über den proximalen Tubulus hinaus gelangt.

**[0014]** Nach Filtration durch die Glomeruli gelangen die FLCs in die proximalen Tubuli und binden an Büretensaummembranen über Rezeptoren mit niedriger Affinität und hoher Kapazität, die Cubuline (gp280) genannt werden (Winearls (2003) „Myeloma Kidney“ (Myelomniere) - Kap. 17, in: „Comprehensive Clinical Nephrology“ (Komplette klinische Nierenkunde), 2. Ausgabe, Hrsg.: Johnson & Feehally). Die Bindung provoziert die Internalisierung der FLCs und nachfolgenden Metabolismus. Die Konzentration der FLCs, welche die proximalen Tubuli verlassen, hängt folglich ab von den Mengen im Glomerulus-Filtrat, der Konkurrenz um die bindende Aufnahme durch andere Proteine und der Absorptionskapazität der Tubuluszellen. Ein Rückgang der Filtrationsrate des Glomerulus erhöht die Konzentrationen von FLCs im Serum, so dass mehr durch die verbleibenden funktionierenden Nephronen gefiltert wird. In der Folge, und mit zunehmendem Nierenversagen, lassen hyperfiltrierende Glomeruli Albumin und sonstige Proteine durchsickern, die mit FLCs um Absorption konkurrieren, und dadurch verursachen, dass mehr in die distalen Tubuli eintreten.

**[0015]** In den distalen Tubulus eintretende FLCs binden normalerweise an Uromucoid (Tamm-Horsfall Protein). Dieses ist das dominierende Protein im normalen Harn und es wird angenommen, dass es wichtig ist, um aufsteigende Harnwegsinfektionen zu verhindern. Es ist ein

Glycoprotein (85 kDa), das sich zu Polymeren mit hohem Molekulargewicht von 20-30 Einheiten aggregiert. Interessanterweise enthält es ein kurzes Peptid-Motiv, das eine hohe Affinität zu FLCs hat (Ying & Sanders (2001) *Am. J. Path.* 158, 1859-1866). Zusammen bilden die beiden Proteine wachsartige Ablagerungen, die in stärker charakteristischer Weise bei mit Leichtketten-MM (LCMM) verbundenem akutem Nierenversagen gefunden werden (siehe z.B. Winearls (1995) *Kidney Int.* 48, 1347-1361). Die Ablagerungen behindern den Flüssigkeitsstrom in den Tubuli und führen zum Reißen der Basalmembran und Schädigung des Interstitiums. Ansteigende Konzentrationen von sFLCs werden durch die verbleibenden funktionierenden Nephronen gefiltert, was zu einem Circulus vitiosus von sich beschleunigender Nierenschädigung mit weiteren Anstiegen der sFLCs führt. Dies mag erklären, warum MM Patienten ohne offensichtliche vorexistierende Beeinträchtigung der Nieren plötzlich Nierenschäden und Nierenversagen entwickeln. Das Verfahren wird durch sonstige Faktoren wie Dehydratation, Diuretika, Hypercalcämie, Infektionen und nephrotoxische Drogen bzw. Medikamente verschlimmert.

**[0016]** Die FLC Konzentrationen im Serum sind bei >95% der Patienten mit MM abnorm und erstrecken sich über einen breiten Bereich von Konzentrationen, aber ihre inhärente Toxizität variiert ebenfalls beträchtlich, wie von Sanders & Brooker an isolierten Rattenephronen gezeigt wurde (Sanders & Brooker (1992) *J. Clin. Invest.* 89, 630-639). Die Toxizität steht zum Teil in Zusammenhang mit der Bindung an Tamm-Horsfall Protein bezogen wird (siehe z.B. Winearls (1995) *Kidney Int.* 48, 1347-1361).

**[0017]** Trotz vieler Bemühungen, etwas anderes zu zeigen, werden eine spezielle Ladung der Moleküle und/oder  $\kappa$  oder  $\lambda$  Typ derzeit nicht als relevant für die Toxizität von FLCs eingeschätzt. Außerdem sind in hohem Maße polymerisierte FLCs (ein häufiger Fund bei MM) vermutlich nicht nephrotoxisch, weil sie nicht leicht die Glomeruli durchlaufen können. Dies könnte zum Teil das Fehlen einer Nierenschädigung bei einigen Patienten erklären, die sehr hohe sFLC Konzentrationen aufweisen.

**[0018]** Die Menge der sFLCs, die notwendig sind, um eine Beeinträchtigung der Nieren zu verursachen, wurde vor kurzem von Nowrousain et al. (*Clin. Cancer Res.* (2005) 11, 8706-8714) untersucht, die zeigten, dass die mit Überlauf-Proteinurie (und folglich einem Potential für eine Schädigung der Tubuli) verbundenen mittleren Konzentrationen im Serum 113 mg/l für  $\kappa$  und 278 mg/l für  $\lambda$  betragen. Diese Konzentrationen liegen ungefähr 5- bis 10-fach über den normalen Konzentrationen im Serum und stehen vermutlich in Beziehung zur maximalen tubulären Reabsorptionskapazität der proximalen Tubuli. Da die normale tägliche Produktion von FLCs ~500 mg beträgt, sind Erhöhungen auf ~5 g/Tag wahrscheinlich nephrotoxisch für viele Patienten.

**[0019]** Es hat verschiedene Studien an Harn gegeben, die die Ausscheidungsraten von FLCs im Harn in Beziehung gesetzt haben mit einer Beeinträchtigung der Nieren. Gewöhnlich nimmt die verbundene Nierenbeeinträchtigung mit Zunahme der FLCs im Harn zu. Eine Untersuchung zeigte, dass 5%, 17% und 39% der Patienten eine Nierenbeeinträchtigung aufwiesen mit Ausscheidungsraten von <0,005 g/Tag, 0,005-2 g/Tag, bzw. >2 g/Tag (Bladé (2003) „Management of Renal, Hematologic and Infectious Complications“ (Behandlung von renalen, hämatologischen und infektiösen Komplikationen) in: *Myeloma: Biology and Management* (Myelom: Biologie und Behandlung), 3. Auflage; Hrsg.: Malpas et al.; Verlag: Saunders). Jedoch ist die Ausscheidung von FLCs zusätzlich zu ihrer Ursache auch ein Indikator für Nierenschädigung.

**[0020]** Die Beladung mit FLCs vor der Niere ist ein wichtiger Faktor der Nierentoxizität. In einem Versuch, eine Schädigung der Nieren zu minimieren, ist Plasmaaustausch (plasma exchange, PE) eingesetzt worden, um die Beladung mit freien Leichtketten im Serum vor der Niere zu verringern. Zuchelli et al. (*Kidney Int.* (1988) 33, 1175-1180) verglichen MM Patienten, die Peritonealdialyse erhielten (Kontrollgruppe), mit solchen, die Plasmaaustausch (und Hämodialyse bei einigen Patienten) erhielten. Nur 2 von 14 in der Kontrollgruppe wiesen eine verbesserte Nierenfunktion auf, verglichen mit 13 von 15 in der Gruppe mit Plasmaaustausch. Die Überlebensrate war ebenfalls verbessert ( $P < 0,01$ ).

**[0021]** Dieser frühe Erfolg wiederholte sich nicht in nachfolgenden kontrollierten Studien. John-

son et al. (Arch Intern. Med. (1990) 150, 863-869) verglichen 10 Patienten mit erzwungener Diurese mit 11, die zusätzlich Plasmaaustausch erhielten, und fanden keinen Unterschied bei den Ergebnissen. Kürzlich wurde von Clarke et al. (Haematologica (2005) 90 (sl), 117-125; Kidney Int., März 2006) über eine große Reihe berichtet. Die Hälfte von 97 Patienten, die mit Chemotherapie, Hämodialyse oder einer Kombination der beiden behandelt wurden, wurden nach dem Zufallsprinzip ausgewählt, um Plasmaaustausch zu erhalten. Wieder ergab sich kein statistisch signifikanter Nutzen des Plasmaaustauschs.

**[0022]** Ein nachfolgender Leitartikel in JASN merkte eine Anzahl von Defiziten in Plasmaaustausch-Studien an und wies darauf hin, dass die Leistungsfähigkeit des Plasmaaustauschs nicht beurteilt werden könne (Ritz E., J. Am. Soc. Nephrol (2006), 17, 911-913, Leitartikel).

**[0023]** Die Anmelder postulierten, dass die Entfernung von freien Leichtketten aus dem Serum durch Hämodialyse ein Weg sein könnte, Nierenversagen bei Patienten mit multiplem Myelom zu verringern (Bradwell et al. (2005) in: „Blood“ (47th Annual Meeting of American Society of Hematology, 10-13 December 2005) 106, Abstract 3482. Die Anmelder haben überraschend gefunden, dass ein Patient mit einem Überschuss freier Leichtketten im Serum durch Dialyse behandelt werden kann, mit dem Ergebnis, dass die Konzentration der freien Leichtketten verringert wird.

**[0024]** Herkömmliche Dialysatoren sind durchlässig bis zu einem Grenzwert des Molekulargewichts („cut-off“) um 15-20 kDa, so dass die Effizienz der Filtration von FLCs sehr niedrig ist. Jedoch haben einige neue „proteindurchlässige“ Dialysatoren viel größere Poren (Ward (2005) J. Am. Soc. Nephrol. 16, 2421-2430). Diese Membranen wurden entwickelt, um eine bessere Entfernung von Proteinen mit niedrigem Molekulargewicht zur Verfügung zu stellen, als herkömmliche Hochfluss- („high-flux“) Dialysemembranen dies tun. Eine Routine-Verwendung für solche Membranen wurde nicht identifiziert, da spezifische urämische Toxine, die durch proteindurchlässige Membranen, nicht aber durch herkömmliche Hochflussmembranen entfernt werden, nicht identifiziert worden waren. Es war nicht klar, ob die proteindurchlässigen Membranen einen Nutzen über den hinaus boten, der mit herkömmlichen Hochflussmembranen erhalten wird.

**[0025]** Eine neue Gruppe von Membranen, die in der Intensivpflege verwendet werden, sogenannte „high cut-off“ (HCO) Dialysatoren (Dialysatoren mit hohem Grenzwert des durchgelassenen Molekulargewichts), sind im Rahmen von klinischen Studien verwendet worden, um zirkulierende, mit Sepsis verbundene inflammatorische Mediatoren effektiver zu entfernen als mit herkömmlichen Dialysemembranen. Diese „high cut-off“-Membranen weisen eine viel größere Porengröße auf als die beiden anderen oben genannten Gruppen - die Standard-Hochfluss-Dialysatormembran und die geringfügig proteindurchlässige Membran. Die Porengrößen der „high cut-off“-Membran liegen im Bereich von 20 bis 40 nm, das bedeutet, sie sind um einen Faktor 3 größer als die der Membranen mit Proteinpermeabilität und um einen Faktor von 4 größer als die der Standard-Hochflussmembranen. Definition der „high cut-off“-Membran: Grenzwert („cut-off“) für die „high cut-off“-Membran: Molekulargewicht von Proteinen, welche die Membran zu weniger als 10% durchlaufen. „high cut-off“-Membranen weisen einen Molekulargewichts-Grenzwert („cut-off“), gemessen in Blut oder menschlichem Plasma, von 45.000 Dalton auf, während der Grenzwert einer Standard-Hochflussmembran im Bereich von 15.000 Dalton liegt, und der einer geringfügig proteinpermeablen Membran im Bereich von 20.000 Dalton. Dieser in Blut gemessene Grenzwert zeigt deutlich, dass Substanzen mit einem Molekulargewicht wie FLC-Proteine mit einem Molekulargewicht von 20.000 bis 45.000 nur „high cut-off“-Membranen in signifikanter Menge durchdringen können.

**[0026]** In Analogie dazu betrifft die Erfindung eine Dialysemembran zur Behandlung von multiplem Myelom, die dadurch gekennzeichnet ist, dass sie für Moleküle mit einem Molekulargewicht von bis zu 45 kDa in Gegenwart von Vollblut durchlässig ist und einen Molekulargewichtsauschlussgrenzwert in Wasser von etwa 200 kDa aufweist.

**[0027]** Morgera et al. zeigen eine bemerkenswerte Entfernung von Interleukin-6 durch „high cut-off“-Behandlungen, die zu einer signifikanten Abnahme der Pegel von zirkulierendem IL-6 bei

septischen Patienten mit akutem Nierenversagen führt (Morgera et al. Intensive Care Med. (2003), 29, 1989-1995). Außerdem führt die Behandlung zu einer Wiederherstellung der Immunantwort der Blutzellen bei jenen Patienten (Morgera S., et al., Nephrol. Dial. Transplant (2003), 18, 2570-2576). Eine Untersuchung, in der Patienten nach dem Zufallsprinzip „high cut-off“-CVVH oder „high cut-off“-CWHD zugeteilt wurden, zeigte, dass Konvektion und Diffusion nicht den erwarteten Unterschied in Hinblick auf die Entfernung von Proteinen mit mittlerem Molekulargewicht zeigten, während der Einsatz von Diffusion anstelle von Konvektion erheblich den Verlust von Albumin verringert, unter Beibehaltung der guten Cytokin-Entfernungsraten. Im CVVHD Modus wurde ein maximaler Albuminverlust von 950 mg pro Stunde bei Patienten, die mit der HCO Membran behandelt wurden, berichtet (Morgera S., et al. Am. J. Kidney Dis. (2004), 43, 444-453). Die Anmelder haben jetzt überraschend gefunden, dass solche Membranen verwendet werden können, um Konzentrationen von sFLCs effektiv zu verringern.

**[0028]** Die erfindungsgemäße Dialysemembran wird vorteilhafterweise in einem Verfahren zur Verringerung der Konzentration freier Leichtketten in einem Probanden eingesetzt, wobei das Verfahren den Schritt umfasst, dass das Blut des Probanden einer Hämodialyse, Hämodiafiltration oder Hämofiltration unterzogen wird. Hierbei ist es möglich, wirkungsvoll freie Leichtketten aus dem Blutserum eines Probanden zu entfernen, mit dem Ergebnis, dass die Beladung mit FLCs vor der Niere verringert wird und daher Nierenversagen verhindert oder verlangsamt wird.

**[0029]** Der Proband kann ein Säuger sein und ist vorzugsweise ein Mensch.

**[0030]** Vorzugsweise ist die Dialysemembran eine „Superfluss“ (super flux), „permselektive“ oder „proteindurchlässige“ Membran.

**[0031]** Bevorzugterweise wird der Schritt der Hämodialyse, Hämodiafiltration oder Hämofiltration unter Verwendung einer Dialysemembran ausgeführt, die eine „proteindurchlässige“ Membran ist, vorzugsweise unter Verwendung einer erfindungsgemäßen „high cut-off“-Dialysemembran, die einen Molekulargewichtsgrenzwert („cut-off“) von mehr als etwa 45 kDa aufweist, gemessen in Blut oder Blutplasma. Eine proteindurchlässige Membran ist vorzugsweise eine Membran, die eine Permeabilität für Serumalbumin (Molekulargewicht 67 kDa) von weniger als 0,1% zeigt, während die „high cut-off“-Membran eine Serumalbumin-Permeabilität von weniger als 1% aufweist. Permeabilitätsdaten für Albumin werden diskutiert in Ward, J. Am. Soc. Nephrol. 2005, 16 (8), 2421-30, die hiermit durch Bezugnahme aufgenommen wird.

**[0032]** Die Membran ist am meisten bevorzugt durchlässig für  $\kappa$  oder  $\lambda$ , freie Leichtketten. Das heißt,  $\kappa$  oder  $\lambda$  freie Leichtketten passieren die Membran. Es ist beobachtet worden, dass Hochflussmembranen mit kleineren Porengrößen einige freie Leichtketten entfernt haben. Jedoch scheint dies in erster Linie auf Bindung der FLCs an die Dialysemembranen zurückzuführen sein.

**[0033]** Gewöhnlich weisen proteindurchlässige und „high cut-off“-Membranen eine Wasserdurchlässigkeit in vitro von  $>40$  ml/h pro mmHg/m<sup>2</sup> auf. Sie können eine Clearance (Entfernungsrate) für  $\beta_2$ -Mikroglobulin von mindestens 80 ml/min aufweisen bei herkömmlicher Hämodialyse mit einer Blutflussrate von 300-400 ml/min. Der Albumin-Verlust beträgt vorzugsweise weniger als 2-6 g pro 4 Stunden Dialyse. Der Siebkoeffizient kann 0,9 bis 1,0 für  $\beta_2$ -Mikroglobulin und 0,01 bis 0,03 für Albumin betragen.

**[0034]** Am meisten bevorzugt ist eine permselektive Membran des Typs, der in WO 2004/056460 offenbart wird, hierin aufgenommen durch Bezugnahme. Solche Membranen erlauben vorzugsweise in Gegenwart von Vollblut den Durchgang von Molekülen, die ein Molekulargewicht von bis zu 45.000 Dalton haben und weisen eine Molekulargewichtsausschlussgrenze in Wasser von ungefähr 200.000 Dalton auf. Die erfindungsgemäße Dialysemembran umfasst mindestens ein hydrophiles Polymer und mindestens ein hydrophobes Polymer, wobei die Polymere als Domänen auf der Oberfläche vorliegen.

**[0035]** Die Dialysemembran gemäß der Erfindung ist eine Hohlfasermembran und weist eine mindestens 3-lagige asymmetrische Struktur mit einer Trennschicht in der innersten Lage der Hohlfasermembran auf. Erfindungsgemäß weist die Dialysemembran Poren im Bereich von 15-

60 nm, am meisten bevorzugt 20-40 nm in der Trennschicht auf. Zum Vergleich: die Standard-Hochfluss-Dialysemembran weist eine Porengröße von ungefähr 9 nm und die geringfügig proteindurchlässige Membran eine Porengröße von etwa 12 nm auf.

**[0036]** Der Siebkoeffizient für IL-6 in Gegenwart von Vollblut beträgt vorzugsweise 0,9 bis 1,0. Vorzugsweise ist der Siebkoeffizient für Albumin in Gegenwart von Vollblut kleiner als 0,05.

**[0037]** Das hydrophile Polymer kann ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Polyvinylpyrrolidon (PVP), Polyethylenglykol (PEG), Polyvinylalkohol (PVA) und Copolymer von Polypropylenoxid und Polyethylenoxid (PPO-PEO).

**[0038]** Das hydrophobe Polymer kann ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Polyarylethersulfon (PAES), Polypropylen (PP), Polysulfon (PSU), Polymethylmethacrylat (PMMA), Polycarbonat (PC), Polyacrylnitril (PAN), Polyamid (PA) oder Polytetrafluorethylen (PTFE).

**[0039]** Wie er hierin verwendet wird, bezieht sich der Begriff „Siebkoeffizient (S)“ auf die physikalische Eigenschaft einer Membran, Moleküle eines bestimmten Molekulargewichts auszuschließen oder durchzulassen.

**[0040]** Der Siebkoeffizient kann berechnet werden gemäß Standard EN 1283, 1996.

**[0041]** Einfach dargestellt, wird der Siebkoeffizient einer Membran bestimmt, indem man eine Proteinlösung (Rinderplasma oder menschliches Plasma) unter definierten Bedingungen (QB, TMP und Filtrationsgeschwindigkeit) durch ein Membranbündel pumpt und die Konzentration des Proteins im Zufluss, im Retentat und im Filtrat feststellt. Wenn die Konzentration des Proteins im Filtrat Null ist, wird ein Siebkoeffizient von 0% erhalten. Wenn die Konzentration des Proteins im Filtrat gleich der Konzentration des Proteins im Zufluss und im Retentat ist, wird ein Siebkoeffizient von 100% erhalten. Außerdem erlaubt der Siebkoeffizient, den nominalen Grenzwert („cut-off“) einer Membran zu bestimmen (der 10% Siebkoeffizient entspricht).

$$2C_F$$

$$\text{[0042] } S = \frac{2C_F}{C_{\text{Bin}} + C_{\text{bout}}}$$

**[0043]** worin

**[0044]**  $C_F$  die Konzentration eines gelösten Stoffs im Filtrat ist;

**[0045]**  $C_{\text{Bin}}$  die Konzentration eines gelösten Stoffs an der Bluteinlassseite der getesteten Vorrichtung ist;

**[0046]**  $C_{\text{Bout}}$  die Konzentration eines gelösten Stoffs an der Blutauslassseite der getesteten Vorrichtung ist.

**[0047]** Die vorliegende Dialysemembran lässt vorzugsweise den Durchgang von Molekülen im Bereich toxischer Mediatoren von bis zu 45.000 Dalton in Gegenwart von Vollblut/Blutproteinen zu, was das Molekulargewicht einer Substanz, die einen Siebkoeffizienten (S) von 0,1 bis 1,0 in Gegenwart von Vollblut hat, bedeutet.

**[0048]** Wie er hierin verwendet wird, bezieht sich der Begriff „cut-off“ auf das Molekulargewicht einer Substanz, die einen Siebkoeffizienten (S) von 0,1 hat.

**[0049]** Wie er hierin verwendet wird, bezieht sich der Begriff „Hämodialyse“, HD, auf ein Verfahren, um die chemische Zusammensetzung des Bluts zu korrigieren, indem angesammelte Stoffwechselprodukte entfernt und Puffer hinzugefügt werden in einem Diffusionsprozess durch eine natürliche oder synthetische semipermeable Membran.

**[0050]** Wie er hierin verwendet wird, bezieht sich der Begriff „Hämodiafiltration“, HDF, auf ein Verfahren, um angesammelte Stoffwechselprodukte aus Blut durch eine Kombination von diffusivem und konvektivem Transport durch eine semipermeable Membran vom Hochfluss-Typ zu entfernen; Flüssigkeit wird durch Ultrafiltration entfernt und das Volumen der gefilterten Flüssig-

keit, das den gewünschten Gewichtsverlust übersteigt, wird durch sterile, pyrogenfreie Infusionslösung ersetzt.

**[0051]** Wie er hierin verwendet wird, bezieht sich der Begriff „Hämofiltration“, HF, auf ein Verfahren der Blutfiltration durch eine Membran unter Abtrennung von Plasmawasser und gelösten Stoffen mit dem Ultrafiltrat, und hält alle Proteine, die größer sind als die effektive Porengröße, und Blutzellen zurück. Bei der Hämofiltration werden die angesammelten Stoffwechselprodukte aus dem Blut entfernt durch den Prozess des konvektiven Transports als Folge von Ultrafiltration durch eine semipermeable Membran vom Hochfluss-Typ; das Volumen der gefilterten Flüssigkeit, das den gewünschten Gewichtsverlust übersteigt, wird durch sterile pyrogenfreie Infusionslösung ersetzt.

**[0052]** Wie er hierin verwendet wird, bezieht sich der Begriff „Ultrafiltrat“ auf das filtrierte Plasmawasser und gelöste Stoffe und Moleküle (einschließlich freier Leichtketten), die kleiner sind als die effektive Porengröße.

**[0053]** Verfahren zur Herstellung geeigneter Membranen werden z.B. in WO 2004/056460 offenbart. Solche Membranen werden hierin als Gambro-Membranen besprochen, z.B. durch ihre Bezeichnung „Gambro Dialysator HCO 1100“.

**[0054]** Superfluss-Membranen wie Toray BK 21-F und BG 2.10 können ebenfalls verwendet werden, aber diese arbeiten nicht so effizient wie die Gambro HCO Membran.

**[0055]** Vorzugsweise hat der Proband eine maligne B-Zellerkrankung wie multiples Myelom oder AL Amyloidose.

**[0056]** Vorliegendfalls wird das Verfahren vorzugsweise in Verbindung mit einer Behandlung der malignen B-Zellerkrankung durchgeführt. Die Behandlung der malignen B-Zellerkrankung verringert die Produktion von freien Leichtketten durch den Probanden, wobei verfahrensgemäß mindestens ein Teil der freien Leichtketten im Blut entfernt wird, was in verringerter Nierenschädigung resultiert und die Wahrscheinlichkeit einer Erholung der Nieren des Probanden erhöht.

**[0057]** Verfahren zur Behandlung maligner B-Zellerkrankungen selbst sind dem Fachmann bekannt, wie beispielsweise die Verwendung von Dexamethason, Bortezomib und/oder Adriamycin (Doxorubicin) oder mehrerer der genannten. Zum Beispiel können Cyclophosphamid, Thalidomid und Dexamethason verwendet werden, oder Vincristin, Adriamycin und Dexamethason.

**[0058]** Die Leichtketten-Dialyse kann  $\lambda$  und/oder  $\kappa$  betreffen,  $\kappa$  Leichtketten werden effektiver dialysiert.  $\lambda$  bildet Dimere im Blut und ist folglich größer.

**[0059]** Die Oberfläche der Membran, die dem Blut des Probanden ausgesetzt wird, kann vergrößert werden, entweder indem zwei oder mehr Dialysatoren in Reihe benutzt werden oder durch Erhöhung der Membranoberfläche in einer Dialysatorkartusche. Die effektivste Oberfläche hängt von dem angewendeten Blutfluss ab. Für Blutflüsse in einem Bereich von 250 und 300 ml/min liegt die am besten geeignete Oberfläche im Bereich von bis zu 2 m<sup>2</sup> (siehe Figur 7). Es wurde gefunden, dass dies die Rate der freien Leichtketten erhöht, die durch die Dialysemembran aus dem Blut entfernt werden. Dialysemembranen werden gewöhnlich in Kartuschen geliefert, die einen Einlass und einen Auslass für Blut haben, und einen Einlass und einen Auslass für Dialyseflüssigkeit und verbrauchtes Dialysat. Folglich können zwei oder mehr Kartuschen verwendet werden, wobei das Blut durch eine erste Kartusche und dann zu einer zweiten Kartusche strömt.

**[0060]** Das Verfahren kann einen zusätzlichen Schritt umfassen, in dem entweder das Blut des Probanden oder eine während des Hämodialyse-Schritts verwendete Dialysatflüssigkeit einem Testverfahren unterzogen werden, das in der Lage ist, freie Leichtketten nachzuweisen. In dem Fall, in dem das Testverfahren darauf hinweist, dass eine Dialysemembran, die im Hämodialyseschritt verwendet wird, zumindest teilweise verstopft ist, kann die Dialysemembran ersetzt oder der Hämodialyseschritt beendet werden. Die freien Leichtketten können gemessen werden

und eine beobachtete Verringerung der Rate der Entfernung der freien Leichtketten gibt einen Hinweis darauf, dass eine Membran möglicherweise im Begriff ist, verstopft zu werden. Die Testmethode kann auch verwendet werden, um die Menge der freien Leichtketten zu schätzen, die während der Dialyse entfernt wurden und den Effekt der Dialysebehandlung auf die Krankheit anzuzeigen, welche die überschüssigen freien Leichtketten verursacht. Sie kann auch verwendet werden, um die Überwachung des Effektes von Medikamenten auf die Produktion freier Leichtketten im Patienten zu unterstützen.

**[0061]** Verfahren zum Nachweis freier Leichtketten sind dem Fachmann bekannt, wie z.B. in dem Artikel von Bradwell et al. (2002) und dem Buch desselben Autors (supra) gezeigt ist.

**[0062]** Mittels eines Testverfahrens kann der Effekt des Verfahrens zur Verringerung der freien Leichtketten in einem Probanden bestimmt werden, umfassend die Bereitstellung einer Probe von Blut, Serum, Dialysat oder Ultrafiltrat von dem Probanden und die Bestimmung einer Menge freier Leichtketten in der Probe.

**[0063]** Vorzugsweise vergleicht das Testverfahren die Menge der freien Leichtketten in der Probe mit einer Menge, die in einer Probe identifiziert wurde, die zu einem früheren Zeitpunkt in der Behandlung des Probanden genommen wurde. Eine Abnahme der Menge zwischen der früheren Probe und der späteren Probe zeigt an, dass das erfindungsgemäße Verfahren freie Leichtketten aus dem Blut des Probanden entfernt.

**[0064]** Die Verwendung einer vorliegenden Dialysemembran wird in der Herstellung einer Hämodialyse-Einheit zur Durchführung von Hämodialyse an einem Probanden zur Verringerung der Konzentration freier Leichtketten in dem Patienten bereitgestellt. Vorteilhafterweise erlaubt die Verwendung einer solchen Membran in der Herstellung der Hämodialyse-Einheit den Einsatz von Dialyse zur wirkungsvollen Entfernung freier Leichtketten aus dem Blutserum des Probanden, mit dem Ergebnis, dass die Beladung mit FLCs vor der Niere verringert wird und dass dadurch Nierenversagen verhindert oder verlangsamt wird.

**[0065]** Der Proband kann ein Säugler sein und ist vorzugsweise ein menschlicher Proband.

**[0066]** Der Begriff „umfassend“, soll bedeuten, dass z.B. die Verfahren oder die Testmethoden vorliegendenfalls zusätzliche, z.B. optionale Schritte haben können. Die Verfahren und die Testmethoden sind nicht auf Verfahren und Testmethoden beschränkt, die auf genau die spezifisch angegebenen Schritte beschränkt sind.

**[0067]** Figur 1 zeigt proliferative Krankheiten, welche mit Antikörper produzierenden Zellen in Verbindung stehen.

**[0068]** Mit dem Gegenstand vorliegender Erfindung, insbesondere mit dessen Anwendungsgebiet im Zusammenhang stehende Erläuterungen werden jetzt, lediglich in Form von Beispielen, unter Bezugnahme auf die folgenden Abbildungen 2-8 dargelegt, in denen:

**[0069]** Figur 2 ein Kompartiment-Modell der freien Leichtketten (FLC) zeigt. Die Parameter waren wie folgt:  $P(t)$  - Produktionsrate von FLCs (23,15 mg/min).  $k_{le}$  - auf Nierenfunktion zurückzuführende Eliminierungsrate (0 mg/min),  $k_d$  - auf Dialyse zurückzuführende Eliminierungsrate ( $1,5 \times 10^{-2}$  /min),  $k_{12}$  - Geschwindigkeitskonstante des Flusses von FLCs zwischen Plasma und extravaskulärem Kompartiment ( $2,15 \times 10^{-2}$ /min).  $k_{21}$  - Geschwindigkeitskonstante des Flusses von FLCs zwischen extravaskulärem Kompartiment und Plasma ( $4,3 \times 10^{-3}$ /min).  $k_{re}$  - auf reticulo-endothelialen Metabolismus zurückzuführende Eliminierungsrate ( $1,6 \times 10^{-4}$ /min). Volumen des Plasmakompartiments 2,5 l. Volumen des extravaskulären Kompartiments 12 l;

**[0070]** Figur 3 Konzentrationen von Lambda-FLC im Serum (Karus) und im Dialysat (Dreiecke) im Verlauf einer 6-stündigen Hämodialysebehandlung unter Verwendung von Gambro HCO 1100 Dialysatoren zeigt (Patient 6). Die Pfeile zeigen die Verwendung eines neuen Dialysators an;

**[0071]** In Figur 4 zeigt Patient 9 Konzentrationen von Kappa-FLC vor und nach der Dialyse. Zahlen auf der Abbildung sind die entfernten Mengen von  $k$  im Dialysat pro 10-Tageszeitraum in Gramm. Pfeile zeigen die Entfernung während einzelner Sitzungen (in Klammern ist die

Dauer der Dialysesitzung in Stunden angegeben). Die Pfeile entsprechen täglichen Dosen von Dexamethason. Zusätzlich erhielt der Patient täglich Thalidomid. Die letzte Dialysesitzung des Patienten war an Tag 26 und er ist 6 Monate lang nicht auf Dialyse angewiesen gewesen;

**[0072]** Figur 5. Patient 10 zeigt Konzentrationen von Kappa-FLC vor und nach der Dialyse. Zahlen auf der Abbildung sind die entfernten Mengen von  $\kappa$  im Dialysat pro 10-Tageszeitraum in Gramm. Pfeile zeigen die Entfernung während einzelner Sitzungen (in Klammern ist die Dauer der Dialysesitzung in Stunden angegeben). Die Pfeile entsprechen täglichen Dosen von Dexamethason. Der Patient hatte einen fehlgeschlagenen Versuch ohne Dialyse zwischen den Tagen 18 und 27;

**[0073]** Figur 6. Patient 11 zeigt Konzentrationen von Kappa-FLC vor und nach der Dialyse. Die Pfeile entsprechen täglichen Dosen von Dexamethason. Zusätzlich erhielt der Patient täglich Thalidomid (durchgezogene Linie). Die letzte Dialysesitzung des Patienten war an Tag 35 und er ist 6 Wochen lang nicht auf Dialyse angewiesen gewesen;

**[0074]** Figur 7. Konzentration freier Leichtketten im Serum und gemittelte Entfernungsraten mit einem, zwei und drei Gambro HCO 1100 Dialysatoren in Reihe;

**[0075]** Figur 8 A & B. Simulationen der Entfernung der freien Leichtketten (FLC) aus dem Serum durch Plasmaaustausch im Vergleich zu Hämodialyse mit dem Gambro HCO 1100. Simulationen: 1) 100% Tumorabtötung an Tag eins mit Entfernung nur durch das reticulo-endotheliale System. 2) 10% Tumorabtötung pro Tag mit Entfernung allein durch das reticulo-endotheliale System. 3) 10% Tumorabtötung pro Tag mit Plasmaaustausch (3,5 Liter Austausch in 1,5 Stunden x 6 über 10 Tage). 4) 10% Tumorabtötung pro Tag mit Hämodialyse für 4 Stunden, dreimal pro Woche. 5) 10% Tumorabtötung pro Tag mit Hämodialyse für 4 Stunden pro Tag. 6) 10% Tumorabtötung pro Tag mit Hämodialyse für 12 Stunden pro Tag. 7) Keine Tumorabtötung mit 8 Stunden Hämodialyse an jedem zweiten Tag. 8) Keine Tumorabtötung und keine therapeutische Entfernung von FLCs.

**[0076]** Die Konzentrationen der freien Leichtketten in Serum und Dialysat in den folgenden Beispielen wurden durch Standardnachweismethoden für freie Leichtketten bestimmt, die unter der Handelsmarke „Freelite“ von Binding Site Ltd., Birmingham, Vereinigtes Königreich, erhältlich sind. Jedoch hätten auch andere Verfahren zur Ermittlung der Konzentration der freien Leichtketten, die dem Fachmann bekannt sind, verwendet werden können.

## PATIENTEN UND VERFAHREN

**[0077]** Diese Untersuchung wurde durch die Forschungs-Ethikkommissionen von Solihull und South Birmingham und die Forschungs- und Entwicklungsabteilung des University Hospitals Birmingham NHS Foundation Trusts genehmigt. Alle Patienten gaben eine schriftliche Einverständniserklärung ab.

## STUDIENDESIGN UND TEILNEHMER

**[0078]** Die Untersuchung umfasste: 1) Eine anfängliche in vitro und in vivo Bewertung von Dialysatoren bezüglich der Entfernung von FLCs, 2) Entwicklung eines Kompartiment-Modells für die Entfernung von FLCs basierend auf beobachteten Dialyseergebnissen und 3) Verwendung des Modells und des leistungsfähigsten Dialysators zur Bestimmung der optimalen Strategie für die Entfernung von FLCs aus Patienten mit durch Nierenversagen erschwerten multiplem Myelom. Die untersuchten Patienten waren diejenigen, die in der Nephrologieabteilung am Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, Vereinigtes Königreich, in Behandlung waren oder dorthin überwiesen wurden.

## IN VITRO BEWERTUNG DER ENTFERNUNG VON FLCs DURCH ISOLIERTE ULTRAFILTRATION

**[0079]** Sieben Dialysatoren wurden auf ihre Filtrations-Leistungsfähigkeit untersucht (Tabelle 1). Jeder wurde in einen einfachen Kreislauf platziert und mit einem Liter normaler Kochsalzlösung

sung betriebsfertig gemacht. Ein Liter Serum, das je 1.000 mg monoklonale  $\kappa$  und  $\lambda$  FLCs enthielt, wurde dann mit 400 ml/min durch die Dialysatoren zirkuliert, bei einem Transmembrandruck von 300-400 mmHg. Die Prozedur wurde gestoppt, wenn die Produktion von Ultrafiltratflüssigkeit (UF) aufhörte. Die Dialysatoren wurden abschließend mit einem Liter frischer Kochsalzlösung gespült, um jede restliche Protein enthaltende Flüssigkeit zu entfernen. Die Mengen von FLCs in gefiltertem Serum, UF und Spülflüssigkeit wurden aus den Konzentrationen der FLCs und den gemessenen Volumina errechnet. Abreicherungen von FLCs im Serum wurden errechnet, indem man die Endkonzentrationen der FLCs von den Anfangswerten subtrahierte. Der Prozentsatz der ursprünglichen 1.000 mg jeder FLC, der am Ende des Experimentes im UF vorlag, wurde errechnet, um die Fähigkeit der Membran zu bestimmen, FLCs zu filtrieren. Diese Bestimmungen wurden für jeden Dialysator dreimal wiederholt und die Mittelwerte wurden bestimmt.

#### IN VITRO BEWERTUNG DER ENTFERNUNG VON FLCs DURCH HÄMODIALYSE

**[0080]** Die beiden Dialysatoren, die die meisten FLCs filterten, der Toray BK-F 2.1 und der Gambro HCO (high cut-off) 1100, wurden in vitro auf ihre Dialyseleistungsfähigkeit untersucht. Gambro HCO Membranen sind von dem in WO 2004/056460 offenbarten Typ. Jeder Dialysator wurde an eine Gambro AK 90 Hämodialysemaschine angeschlossen und mit einem Liter normaler Kochsalzlösung betriebsfertig gemacht. Ein Liter Serum, das je 1.000 mg monoklonale  $\kappa$  und  $\lambda$  FLCs enthielt, wurde dann für vier Stunden dialysiert. Die Fließgeschwindigkeiten des Serums wurden auf 300 ml/min festgesetzt, die Fließgeschwindigkeiten des Dialysats auf 500 ml/min und der Transmembrandruck auf 0-10 mmHg, während die Serumvolumina bei einem Liter gehalten wurden, ohne Ultrafiltration. Nach zwei Stunden wurde das Serum mit 24 ml Kochsalzlösung versetzt, die weitere 1.000 mg sowohl  $\kappa$  als auch  $\lambda$  FLCs enthielt, um die Blockierung des Dialysators zu untersuchen. In kurzen Intervallen wurden Proben der Serum- und Dialysatflüssigkeiten für die Messungen der FLCs entnommen. Clearance-Werte für  $\kappa$  und  $\lambda$  wurden wie folgt errechnet:

**[0081]** Clearance (ml/min) = Konzentration von FLCs im Dialysat / Konzentration von FLCs im Serum am Einlass x Flussrate des Dialysats

**[0082]** Gemittelte Konzentrationen von FLCs im Dialysat und Entfernungsraten wurden aus Proben sowohl vor als auch nach dem Zusatz errechnet, für beide Dialysatoren, und signifikante Unterschiede wurden ausgewertet.

#### IN VIVO BEWERTUNG DER ENTFERNUNG VON FLCs BEI PATIENTEN MIT MULTIPLEM MYELOM

**[0083]** Während der Untersuchungsperiode wurden 13 Patienten mit dialysepflichtigem Nierenversagen ( $eGFR < 15 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ) und multiplem Myelom in der Nephrologieabteilung vorgestellt. Die ersten drei Patienten wurden mit einem oder mehreren der folgenden Dialysatoren dialysiert: B. Braun Hi-PeS 18; Toray BK-F 2.1 und Gambro HCO 1100, um deren individuelle Leistungsfähigkeit zur Entfernung von FLCs zu bestimmen. Nachfolgende Patienten wurden nur mit dem Gambro HCO 1100 dialysiert, wegen dessen überlegenen Entfernungsraten für FLCs (Tabellen 3 und 4). Patienten 4 und 5 erhielten eine Routinedialyse, 4 Stunden dreimal wöchentlich. Verlängerte Hämodialyse mit dem Gambro HCO Dialysator wurde bei den Patienten 6-8 evaluiert. Tägliche verlängerte Hämodialyse mit dem Gambro HCO Dialysator wurde zur Entfernung von FLCs bei den Patienten 9-13 evaluiert, die mit akuter Myelomniere vorgestellt wurden.

**[0084]** Während der Dialysesitzungen wurden in kurzen Intervallen die Konzentrationen von FLCs in Serum und Dialysat gemessen. Die prozentuale Abreicherung von FLCs im Serum, gemittelte Konzentrationen im Dialysat (mg/l), Gehalte von FLCs im Dialysat pro Stunde Dialyse (g/hr) und Entfernungsraten (ml/min) wurden errechnet. Für die ersten drei Patienten wurden diese Ergebnisse für jede Membran verglichen.

## EVALUIERUNG DER ENTFERNUNG VON FLCs DURCH VERLÄNGERTE HÄMODIALYSE MIT DEM GAMBRO HCO 1100

**[0085]** Eine verlängerte Dialysebehandlung von bis zu 12 Stunden wurde bei acht Patienten (6-13) evaluiert, bei Dialysatflussraten von zwischen 300-500 ml/min, und Blutflussraten von 150-250 ml/min wurden verwendet.

**[0086]** Einige Patienten wurden mit zwei oder drei Dialysatoren in Reihe behandelt (Tabelle 4). Die folgenden Korrelationen wurden untersucht: Konzentrationen von FLCs im Serum mit der Menge von FLCs im Dialysat; Abreicherung im Serum mit der Dauer der Dialyse; Entfernungsraten mit Dialysatflussraten und Dialysatorfläche. Die Herz-Kreislauf-Stabilität wurde während der gesamten Dauer jeder Dialysesitzung überwacht. Konzentrationen von FLCs, Albumin und Elektrolyten im Serum wurden vor und nach der Dialyse gemessen.

## THERAPEUTISCHE VERLÄNGERTE TÄGLICHE HÄMODIALYSE MIT DEM GAMBRO HCO 1100 FÜR PATIENTEN MIT MYELOMNIERE

**[0087]** Während der Untersuchungsperiode wurden fünf Patienten (9-13) mit neuem multiplen Myelom, akutem Nierenversagen und durch Biopsie nachgewiesener Myelomniere vorstellig. Ein Behandlungsprogramm mit verlängerter täglicher Dialyse wurde unternommen in einem Versuch, die Konzentrationen von sFLCs schnell zu verringern. Alle Patienten empfingen Induktions-Chemotherapie gemäß lokalen Hämatologie-Protokollen. Entfernungsraten von FLCs wurden evaluiert mit Dialysatflussraten von zwischen 300-500 ml/min und Blutflussraten von 150-250 ml/min. Die Patienten wurden täglich untersucht, um das Flüssigkeitsgleichgewicht zu bestimmen, mit dem Ziel, Euvolämie beizubehalten. Ultrafiltration wurde zusätzlich zur Hämodialyse eingesetzt, wenn es einen Flüssigkeitsüberschuss gab und intravenöse Infusionen wurden verwendet, um Dehydratation zu beheben. Die Herz-Kreislauf-Stabilität wurde während der gesamten Dauer jeder Dialysesitzung überwacht. Konzentrationen von FLCs, Albumin und Elektrolyten im Serum wurden vor und nach der Dialyse gemessen. Serum-Immunglobuline wurden gemessen, um den Immunstatus festzustellen und normale menschliche Immunglobuline (NHIG) wurden in einer Menge von 0,5 g/kg Körpergewicht gegeben, wenn die IgG-Konzentrationen im Serum kleiner als 5g/l waren.

## LABORMESSUNGEN VON FLCs

**[0088]** Konzentrationen von  $\kappa$  und  $\lambda$  FLCs in Serum und Dialysat wurden durch Nephelometrie gemessen, mit einem Dade-Behring BNII™ Analysator, unter Verwendung eines teilchenverstärkten homogenen Immunoassays hoher Spezifität (FREELITE™, The Binding Site, Birmingham, Vereinigtes Königreich). Die verwendeten normalen Bereiche im Serum waren  $\kappa$ : 7,3 mg/l (Bereich 3,3-19,4) und  $\lambda$ : 12,7 mg/l (Bereich 5,7-26,3) (20).

## MATHEMATISCHES MODELL DER ENTFERNUNG VON FLCs BEI PATIENTEN MIT MULTIPLEM MYELOM

**[0089]** Ein mathematisches Modell mit zwei Kompartimenten der Produktion, Verteilung und Entfernung von FLCs bei multiplen Myelom wurde konstruiert, um die Leistungsfähigkeiten von Plasmaaustausch und Hämodialyse zu vergleichen (Figur 2). Dieses Modell war in seiner Struktur den Modellen für die Entfernung von Harnstoff und beta-2-Microglobulin durch Dialyse ähnlich (Depner: „Prescribing dialysis: Guide to urea modelling“ [„Dialyse verschreiben: Führer zu Modellrechnungen für Harnstoff“], Klower Academic Publishers (1990); und Ward et al., Kid. Int. (2006), 1431-1437). Es bestand aus einem intravaskulären und einem extravaskulären Kompartiment (1 bzw. 2) mit Fluss von FLCs in jedes Kompartiment hinein, zwischen den Kompartimenten, und aus jedem Kompartiment heraus. Die Entfernung von sFLC über die Nieren wurde mit Null ( $eGFR = 0$ ) angesetzt bei Patienten mit Nierenversagen. Unter solchen Bedingungen erfolgte die Entfernung nur über das reticulo-endotheliale System, mit einer Halbwertszeit von 3 Tagen. Mit dieser Halbwertszeit ergab eine Produktionsrate von 33,8 g/Tag ein Fließgleichgewicht von 10 g/l im intravaskulären Kompartiment. Dies war ein geeigneter Startwert für die Simulationen der Entfernung.

**[0090]** Daten von einem Patienten mit multiplem Myelom wurden mit dem Modell innerhalb des Software-Pakets FACSIMILE (Curtis: Harwell Laboratory Report AERE 12805 (1987) analysiert, um Entfernungsraten von FLCs aus dem Serum zu erzeugen. Simulationen wurden dann durchgeführt, um Plasmaaustausch-Behandlungen (über 10 Tage) mit 5 Hämodialyseprotokollen für hypothetische Patienten zu vergleichen. Der Einfachheit halber setzten wir die anfänglichen Konzentrationen der FLCs im Serum auf 10.000 mg/l, mit chemotherapeutischer Tumorab-tötung von 0%, 2%, 5% und 10% pro Tag, und 100% am ersten Tag (Tabelle 5).

#### STATISTISCHE ANALYSE

**[0091]** Ergebnisse der unterschiedlichen Dialysatoren für in vitro und vivo Untersuchungen der Entfernung von FLCs durch Hämodialyse wurden unter Verwendung des Student-t-Tests (2 Ausläufer, Typ 2) auf signifikante Unterschiede hin verglichen.  $P < 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet.

#### ERGEBNISSE

##### IN VITRO BEWERTUNG VON ISOLIERTER ULTRAFILTRATION

**[0092]** Die Leistungsfähigkeiten der unterschiedlichen Dialysatoren für die Entfernung von FLCs sind in Tabelle 1 gezeigt. Alle Dialysatoren bewirkten wesentliche Verringerungen der Konzentrationen von FLCs im zirkulierten Serum. Variierende Mengen von FLCs wurden im UF nachgewiesen und es wird angenommen, dass die fehlenden Mengen an die Membranen gebunden waren. Der Gambro HCO 1100 war der leistungsfähigste Dialysator, wobei nur geringe Mengen von FLCs an die Membranen gebunden waren.

**[0093]** Tabelle 1. Leistungsfähigkeit von Dialysatoren zur in vitro Entfernung von FLCs durch isolierte Ultrafiltration. UF: Ultrafiltrat

Kategorie	Her- steller	Modell	Membran- material	Ober- fläche (m <sup>2</sup> )	Cut-off in Blut (kDa)*	Mittlere Ver- ringerung von FLCs (%)		Mittlere FLC- Konzentration im UF %	
						κ	λ	κ	λ
High-flux	B.Braun	Hi-PeS 18	PES	1,8	10	54	39	17	12
	Asahi	APS-1050	PS	2,1	10 <sup>+</sup>	71	65	30	18
	Nikkiso	FLX 8GWS	PEPA	1,8	10 <sup>+</sup>	68	45	12	11
	Idemsa	200 MHP	PES	2,0	10 <sup>+</sup>	67	59	21	16
Super- flux	Toray	BK-F 2.1	PMMA	2,1	20	88	73	0,1	0,2
	Toray	BG 2.1	PMMA	2,1	20	71	41	0,1	0,1
High cut- off	Gambro	HCO 1100	PAES	1,1	45	96	94	62,5	90

\*Porengrößen erhalten aus den Datenblättern des Herstellers.

\*Dies ist eine ungefähre Größe; Hersteller-Daten sind nicht vorhanden.

PES (Polyethersulfon); PS (Polysulfon); PEPA (Polyesterpolymerlegierung); PMMA (Poly-methylmethacrylat); PAES (Polyarylethersulfon).

##### IN VITRO BEWERTUNG VON HÄMODIALYSE

**[0094]** Die Ergebnisse für die Entfernung von FLCs durch in vitro Hämodialyse mit dem Toray BK-F 2.1 und dem Gambro HCO 1100 Dialysator sind in Tabelle 2 gezeigt. Erheblich höhere Konzentrationen von FLCs im Dialysat und stärkere Verringerungen im Serum wurden mit dem Gambro HCO Dialysator erzielt. Entfernungsraten von beiden FLCs waren 60-fach höher mit dem Gambro Dialysator, verglichen mit dem Toray Dialysator.

**[0095]** Tabelle 2. Leistungsfähigkeit von Dialysatoren zur in vitro Entfernung von FLCs durch vier Stunden dauernde Hämodialyse.

Membran	Test- proben	vor dem Zusatz % entfernt		nach dem Zusatz % entfernt		Mittelwert % entfernt		Entfernungsraten (ml/min)	
		κ	λ	κ	λ	κ	λ	κ	λ
Toray BK-F 2.1	Serum	77,9	75	88,8	84,3	81,5	78	0,59 (0,02 - 1,6)	0,47 (0,02 - 1,4)
	Dialysat	0,6 3	0,8 7	2	2,2	1,3	1,54		
Gambro HCO 1100	Serum	95	93	96	95	95,5*	94*	35,1* (7,5 - 50,9)	32,2* (19,1 - 45,9)
	Dialysat	50	88	75	93	62,5*	90*		

\*Gambro Dialysator signifikant leistungsfähiger ( $p < 0,02$ ).

### IN VIVO VERWENDUNG VON DIALYSATOREN FÜR DIE ENTFERNUNG VON FLCs BEI PATIENTEN MIT MULTIPLEM MYELOM

**[0096]** Die klinischen Details der Patienten, an denen die Entfernung von FLCs untersucht wurde, sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Bei allen lag dialysepflichtiges Nierenversagen vor. Entfernung von FLCs durch Hämodialyse wurde bei den ersten drei Patienten für drei unterschiedliche Dialysatoren evaluiert. Details der Dialysezeiten und der entfernten Mengen von FLCs sind in Tabelle 4 gezeigt. Zum Beispiel ergab der Gambro HCO 1100 bei Patient 2 stärkere Verringerungen der Konzentrationen an FLCs im Serum (58,5%) als sowohl der B. Braun Hi-PeS 18 (5,6%,  $p < 0,002$ ) wie der Toray BK-F 2.1 (24,2%,  $p < 0,001$ ). Die durchschnittlichen Konzentrationen von FLCs im Dialysat während der Dialysesitzungen waren um ein Vielfaches höher mit dem Gambro HCO 1100, d.h. 266 mg/l, verglichen mit 5 mg/l mit dem B. Braun Hi-PeS 18 ( $p < 0,02$ ) und 2 mg/l mit dem Toray BK-F 2.1 ( $p < 0,004$ ). Spätere Patienten (4-13) wurden nur mit dem Gambro HCO 1100 Dialysator behandelt.

**[0097]** Tabelle 3. Klinische Details von Patienten mit multiplen Myelom (MM), die mit Hämodialyse behandelt wurden. ACS („acute coronary Syndrome“, akutes Koronarsyndrom); ARF („acute renal failure“, akutes Nierenversagen); ATN („acute tubular necrosis“, akute Tubulusnekrose); C. diff. (Clostridium difficile); CKD („chronic kidney disease“, chronische Niereninsuffizienz); CThalDex (Cyclophosphamid, Thalidomid und Dexamethason); Thal Dex (Thalidomid und Dexamethason); Cyc (Cyclophosphamid); Dex (Dexamethason); ESRF („end stage renal failure“, terminale Niereninsuffizienz; ein eGFR  $< 10$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>); eGFR („estimated glomerular filtration rate“ geschätzte glomeruläre Filtrationsrate nach der Cockcroft-Gault-Gleichung in ml/min/1,73m<sup>2</sup>); GCSF („granulocyte colony stimulating factor“, Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor); MGUS („monoclonal gammopathy of undetermined significance“, monoklonale Gammopathie von ungeklärter Bedeutung, die sich zu MM entwickelt hat); MRSA (Methycillin-resistenter Staphylokokkus aureus); NHIG (normale Human-Immunglobuline); VAD (Vincristin, Adriamycin (Doxorubicin), Dexamethason).

Patient	Alter	Myelomtyp	FLC Konzentrationen (mg/l) bei Vorstellung	Chemotherapie Behandlung	Nierenbefund	Unerwünschte Ereignisse	Unterstützende Therapie	Klinische Ergebnisse
<b>Evaluierung der Entfernung von FLCs durch Hämodialyse</b>								
1	61	Neues IgG $\lambda$	17.000	CThalDex	ARF, keine Biopsie	C. diff.	Keine	Erholung der Nieren
2	73	Rezidivierendes IgG $\lambda$	1.780	CThalDex	CKD, keine Biopsie	Knochenbrüche	Keine	ESRF
3	42	Neues FLC $\kappa$	6.980	CThalDex	ARF, Myelomniere	AL Amyloidose	Albumin	ESRF
4	77	Neues IgG $\lambda$	5.140	Cyc und Dex	ARF, keine Biopsie	Sepsis	Albumin	Starb an MSRA Sepsis
5	59	Neues IgG $\kappa$	734	Thal Dex	CKD, keine Biopsie	Keine	Albumin	Dialysepflichtig
6	78	Neues FLC $\lambda$	15.900	CThalDex	CKD, schwere interstitielle Fibrose	Keine	Albumin	ESRF
7	70	Rezidivierendes FLC $\lambda$	7.950	Idarubicin, Dex, Cyc	ARF, keine Biopsie	C. diff. und Sepsis	Albumin, NHIG	Starb an neutropenischer Sepsis
8	63	Neues IgG $\lambda$	656	Dex	ARF, ATN	Keine	Keine	Erholung der Nieren

Verlängerte tägliche Hämodialyse bei Myelomniere									
9	68	MGUS -> IgGκ	1.030	CThalDex	ARF, Myelomniere	Keine	Albumin	Erholung der Nieren eGFR nach 6 Monaten 49	
10	51	Neues IgAk	42.000	VAD	ARF, Myelomniere	Keine	Albumin, NHIG, prophylaktische Antibiotika, GCSF	Dialysepflichtig	
11	61	Neues IgAk	13.500	Thal Dex	ARF, Myelomniere	Keine	Albumin, NHIG	Erholung der Nieren eGFR nach 6 Wochen 29	
12	68	Neues IgGλ	1.120	Thal, Dex	ARF, Myelomniere	C. diff., Lobärpneumonie und ACS	Albumin, NHIG	Andauernde Behandlung	
13	81	Neues IgGλ	2.110	Dex, Cyc	ARF, Myelomniere	keine	Albumin, NHIG	Erholung der Nieren eGFR nach 2 Wochen 28	

**Tabelle 4.** Zusammenfassung der Entfernung freier Leichtketten (FLC) durch Hämodialyse bei Patienten mit multiplem Myelom. \* Signifikant weniger als das Ergebnis des Gambro HCO 1100 für diesen Patienten ( $p < 0,02$ ).

Patient	FLC	Dialysatorfabrikat (Nummer)	Anzahl der Dialyse- sitzungen	Mittlere (Be- reich) Länge der Dialyse- sitzungen in Stunden	Mittlere Kon- zentration im Serum vor der Dialyse (mg/l)	Mittlere % Verringerung der Konzen- trationen im Serum	Mittlere (Be- reich) Konzent- ration im Dialy- sat (mg/l)	Mittlerer Gehalt im Dialysat pro Stunde Dia- lyse (g/hr)	Mittlere Clearance (ml/min)	errichte % FLC- Verrin- gerung
<b>Evaluierung der Entfernung von FLCs durch Hämodialyse</b>										
1	λ	Toray BK-F 2.1 1	7	3,6 (2-4)	11.580	3,2	6,9 (0,8-20,3)	0,2	0,29	Nicht ermit- telt
2		B. Braun Hi-PeS 18	2	3,75 (3,5-4)	1.795	5,6	5,3 (2,7-9,5)	0,16	1,5	
	λ	Toray BK-F 2.1	3	4	2.950	24,2	2 (0,5-3,5)	0,06	0,5	
		Gambro HCO 1100	2	4	9.155	58,5	265,6 (88-648)	7,8	22	
3		Toray BK-F 2.1	4	3,6 (3-4)	8.002	22,5	11,1 (6,4-30,4)	0,72	1,6	
	κ	Gambro HCO 1100	6	4	2.880	44,5	163 (120-219)	4,9	30,4	
4	λ	Gambro HCO 1100	6	2,9 (2-4)	3.361	23,6	101 (36-241)	3,2	15,6	
5	κ	Gambro HCO 1100	3	3,3 (2-4)	536	57,9	7,1 (4,2-9,9)	0,2	14,8	
6	λ	Gambro HCO 1100	10	4,6 (4-6)	10.548	58,9	219 (65-843)	6,6	16,2	
7	λ	Gambro HCO 1100	11	6,9 (2-11)	4.651	57,8	137 (28,6-411)	2,6	16,8	

8	λ	Gambro HCO 1100	3	10,7 (10-12)	494	53,8	18 (8-37,3)	0,3	15,9	
<b>Verlängerte tägliche Hämodialyse bei Myelomnieri</b>										
9	κ	Gambro HCO 1100	13	4,8 (2-8)	445	45	18,1 (1,6-56)	0,37	17,1	90
10	κ	(1)	12	7,25 (1-10)	22.408	36	439 (15-1610)	9,7	9,2	50
		Gambro (2)	6	6,5 (6-8)	17.610	57	514 (187-1370)	15,7	25,6	
		HCO 1100 (3)	1	8	18.800	75	515 (151-1810)	11,6	31,5	
11	κ	Gambro (1)	2	9 (6-12)	12.850	35,1	307 (200-414)	5,6	11,6	90
		HCO 1100 (2)	20	6,3 (3-10)	6.887	81	193 (53-409)	5,7	25,5	
12	λ	Gambro (1)	2	9 (6-12)	1.004	66,4	34 (21-47)	0,6	28,5	0
		HCO 1100 (2)	46	6,3 (4-10)	1.157	80,4	46 (21-91)	1,3	42,9	
13	λ	Gambro (1)	2	5 (4-6)	1.357	58	28,9 (9-48)	0,8	13,5	90
		HCO 1100 (2)	12	6,3 (6-10)	397	74	13,7 (6-26)	0,25	33	

## EVALUIERUNG DER ENTFERNUNG VON FLCs DURCH VERLÄNGERTE HÄMODIALYSE MIT DEM GAMBRO HCO 1100

**[0098]** Verlängerte Hämodialyse (> 4 Stunden) mit dem Gambro HCO 1100 wurde bei den Patienten 6-13 für die Entfernung von FLCs evaluiert (Tabelle 4). Das Verfahren wurde gut und ohne Herz-Kreislauf-Komplikationen vertragen. Während der Sitzungen trat eine Verringerung des Serumalbumins von im Mittel 3,9 g/l ( $p < 0,03$ ) auf, das routinemäßig mit 20% Albumin-Lösung ersetzt wurde. Kalzium und Magnesium wurden nach Bedarf ersetzt. Messungen zeigten, dass keine Leckage von IgG in die Dialysatflüssigkeit auftrat.

**[0099]** Bei allen Patienten korrelierten die Konzentrationen von FLCs im Serum vor der Dialyse mit den Mengen, die in den Dialysatflüssigkeiten entfernt wurden ( $R = 0,74$ ;  $p < 0,0001$ ). Figur 3 zeigt Konzentrationen der FLCs in Serum und Dialysat während einer 6-stündigen Sitzung für Patient 6. Als der Dialysator ersetzt wurde, trat eine vorübergehende Erhöhung der Entfernung der FLCs auf. Figuren 4, 5 und 6 zeigen die täglichen Konzentrationen von FLCs im Serum vor und nach der Dialyse und die Mengen in den Dialysatflüssigkeiten für Patienten 9, 10 und 11, zusammen mit Details der Chemotherapie.

**[00100]** Es gab für alle Patienten eine signifikante Korrelation zwischen der prozentualen Verringerung der FLCs im Serum und der Zeit in der Hämodialyse ( $R = 0,53$ ;  $p < 0,001$ ). Die gemittelten Entfernungsraten der FLCs variierten von Patient zu Patient:  $\kappa$  reichte von 9,2-31,5 ml/min und  $\lambda$  von 13,5-42,9 ml/min. Bei acht Patienten, für die Daten verfügbar waren, korrelierten die Entfernungsraten der FLCs aus dem Serum mit den Flussraten des Dialysats ( $R = 0,58$ ;  $p < 0,0001$ ). Bei Flussraten von 300 ml/min betrug die Clearance 10,8 ml/min (Bereich 5,2-22,6), verglichen mit 19,3 ml/min (Bereich 7,2-39,8) bei 500 ml/min. Die Dialysatorfläche stand auch in Beziehung zu den Entfernungsraten von FLCs. Zum Beispiel wurde Patient 10 bei verschiedenen Gelegenheiten mit einem, zwei oder drei Dialysatoren in Reihe dialysiert, mit progressiven Erhöhungen der Entfernungsraten der FLCs (Tabelle 4 und Figur 7). Der Albumin-Verlust im Dialysat erhöhte sich erheblich mit jedem zusätzlichen Dialysator (einer: 0,16 g/l, zwei: 0,44 g/l, drei: 0,58 g/l). Messung des Konzentrationen von  $\kappa$  FLC im Dialysat über einen Zeitraum von sechs Wochen zeigten eine Entfernung von 1,7 kg. Tägliche Messungen der Entfernung durch Hämodialyse und der Harnausscheidung zuzüglich des geschätzten internen Metabolismus deuteten auf eine Produktionsrate von 150-200 g/Tag.

## THERAPEUTISCHE VERLÄNGERTE TÄGLICHE HÄMODIALYSE MIT DEM GAMBRO HCO 1100 FÜR PATIENTEN MIT MYELOMNIERE

**[00101]** Während des Untersuchungszeitraums wurden fünf nicht ausgewählte Patienten mit neuem multiplem Myelom und Myelomniere vorstellig (Patienten 9-13). Alle Patienten waren dialysepflichtig und erhielten eine auf Dexamethason basierende Induktionschemotherapie. Sie wurden behandelt mit einem intensiven Programm verlängerter Dialyse von zwischen 13 und 48 Dialysesitzungen, die von 2-12 Stunden dauerten. Zuerst wurden die Patienten für ein oder zwei Sitzungen mit einem Dialysator dialysiert und dann mit zwei Dialysatoren in Reihe. In der ersten Woche versuchten wir, die Patienten täglich zu dialysieren und anschließend an jedem zweiten Tag. Bei allen Patienten führte die verlängerte Hämodialyse zu gleichbleibenden signifikanten Verringerungen der Konzentrationen von FLCs im Serum und große Mengen waren in den Dialysatflüssigkeiten enthalten (Tabelle 4).

**[00102]** Drei der fünf Patienten, die mit verlängerter täglicher Hämodialyse behandelt wurden, wurden von der Dialyse unabhängig. Die Chemotherapie der Patienten 10 und 12 wurde wegen wiederkehrender Infektionen zurückgehalten. Obgleich die Dialyse bedeutende Mengen FLC entfernte, hatten sie weiterhin große Wiederanstiege der Konzentrationen im Serum nach der Dialyse und sie blieben von der Dialyse abhängig. Im Vergleich dazu reagierten die drei Patienten, die von der Dialyse unabhängig wurden (9, 11 und 13) schnell auf die Induktionschemotherapie mit verringerter laufender Produktion von FLCs (z.B. Figuren 4 und 6).

## SIMULATIONSMODELL FÜR DIE FLC-ENTFERNUNG

**[00103]** Die Ergebnisse der Simulationsstudien sind in Tabelle 5 und Figur 8 gezeigt. Bei kompletter Tumorabtötung an Tag eins (Simulation 1), waren die FLCs im Serum für zwei Wochen > 500 mg (unter der Annahme, dass keine therapeutische Entfernung von FLCs erfolgt). Bei einer chemotherapeutischen Tumorabtötungsrate von 10% pro Tag und ohne Dialyse blieben die Konzentrationen der FLCs im Serum an Tag 30 erhöht (Simulation 2). Plasmaaustausch (Simulation 3) war weniger wirkungsvoll zur Verringerung von FLCs im Serum als Hämodialyse für 4 Stunden 3x pro Woche mit dem Gambro HCO Dialysator 1100 (Simulation 4), und keines der Verfahren war schnell. Verlängerte tägliche Dialyse (für 12 Stunden) verringerte die Konzentrationen von FLCs innerhalb von fünf Tagen auf 5% der Anfangskonzentrationen (Simulation 6), verglichen mit 29 Tagen bei Plasmaaustausch (Simulation 3). Die Analyse der Belastung der Nieren mit FLCs über 3 Wochen (die Fläche unter den Kurven) zeigte, dass für Simulation 3 bei Einsatz von Plasmaaustausch 76% verblieben und 11% bei Einsatz von 5 Tagen Hämodialyse (Simulation 6) - eine 6,5-fache Verringerung. Wenn die chemotherapeutischen Abtötungsraten kleiner als 10% pro Tag waren, wurde Plasmaaustausch mit festgelegtem Volumen zunehmend weniger wirkungsvoll als verlängerte Hämodialyse (Tabelle 5). Verlängerte Dialyse, aber unwirksame Chemotherapie normalisierte nicht die Konzentrationen von FLCs im Serum (Simulation 7).

**[00104]** Tabelle 5. Modellrechnungen der Wirksamkeit der therapeutischen Entfernung von freien Leichtketten (FLC). 100% bis 0% sind die chemotherapeutischen Abtötungsraten pro Tag. Zahlen geben die durch Eingriffe über die Tumorzellenreduktion durch Chemotherapie hinaus zusätzlich entfernten % FLC an. Zahlen in Klammern geben die Zeit in Tagen an, in denen sich die Konzentrationen von FLCs von 10 g/l auf 0,5 g/l verringerten. \*Konzentrationen von FLCs im Serum an Tag 150 für Simulationen, in denen keine Verringerung auf 0,5 g/l erreicht wurde. PE: („plasma exchange“) Plasmaaustausch. HD: Hämodialyse. NA: („not applicable“) entfällt. 1-8 In Figur 6 dargestellte Simulationen.

Verfahren der FLC-Entfernung	Prozentsatz der durch den Eingriff entfernten FLCs (und Zeit in Tagen für die Verringerung von 10 g/l auf 0,5 g/l) mit unterschiedlichen chemotherapeutischen Tumorabtötungsraten.				
	100%	10%	5%	2%	0%
keine	NA (14) <sup>1</sup>	NA (30) <sup>2</sup>	NA (52)	NA (121)	NA (*10 g/l) <sup>8</sup>
PE x 6 an 10 Tagen	29 (10)	24 (29) <sup>3</sup>	17 (52)	9 (121)	3 (*10 g/l)
PE x 10 an 10 Tagen	40 (8)	34 (29)	25 (52)	13 (121)	4 (*10 g/l)
HD 4 h x 3/Woche	60 (7)	54 (19) <sup>4</sup>	53 (31)	51 (73)	50 (*3,6 g/l)
HD 4 h täglich	76 (4)	73 (13) <sup>5</sup>	72 (23)	71 (55)	70 (*1,9 g/l)
HD 8 h jeden zweiten Tag	79 (4)	73 (13)	72 (19)	70 (47)	69 (*1,5 g/l)
HD 8 h täglich	87 (3)	85 (7)	84 (14)	83 (29)	82 (*1,0 g/l)
HD 12 h täglich	91 (2)	89 (5) <sup>6</sup>	89 (8)	88 (16)	88 (*0,7 g/l)
HD 18 h täglich	93 (2)	93 (3)	93 (4)	92 (8)	91 (*0,6 g/l)

**[00105]** Ergebnisse aus den anfänglichen in vitro Ultrafiltrationsexperimenten legten nahe, dass verschiedene unterschiedliche Dialysatoren nützlich sein könnten. Für Dialysatoren mit einem cut-off von bis zu 45 kDa zeigten jedoch die Daten zur Protein-Rückgewinnung, dass Bindung an die Membran der hauptsächliche Entfernungsmechanismus war (Tabelle 1). Nachfolgende in vitro und in vivo Hämodialyseergebnisse zeigten, dass der Gambro HCO 1100 Dialysator, mit einem cut-off von 45kDa, sehr viel leistungsfähiger als alle anderen war. Gewöhnlich wurden Entfernungsraten von FLCs im Serum von 10-40 ml/min erzielt. Obgleich  $\kappa$  FLC Moleküle kleiner sind als die Porendurchmesser von zwei anderen Dialysatoren, wurden sie nicht effektiv entfernt. Es schien, dass Proteinbindung die Entfernung verringert. Sogar für den Gambro Dialysator verlangsamte sich die Filtration von sowohl  $\kappa$  (50 kDa) wie  $\lambda$ . (25 kDa) Molekülen mit

der Zeit. Wenn die Dialysatoren ersetzt wurden, erhöhten sich die Entfernungsraten etwas (Figur 3).

**[00106]** Folglich ist es nützlich, in der Lage zu sein, wenn eine Membran blockiert wird, so dass sie ersetzt werden kann.

**[00107]** Die durch Hämodialyse entfernten Mengen von FLCs im Serum wurden beeinflusst durch die anfänglichen Konzentrationen der FLCs im Serum, die Zeitdauer der Dialyse, die Flussraten in der Dialyse und die Dialysatorfläche. Die größten Mengen wurden bei Patient Nr. 10 entfernt, der bei der Einlieferung in die Klinik 42 g/l κ FLCs im Serum aufwies. Über einen Zeitraum von sechs Wochen, der 18 Sitzungen von jeweils bis zu 10 Stunden umfasste, wurden mehr als 1,7 kg FLCs entfernt. Für spätere Dialysesitzungen bei diesem Patienten wurden zwei Gambro HCO 1100 Dialysatoren in Reihe geschaltet. Durch Erhöhung der Oberfläche von 1,1 auf 2,2 m<sup>2</sup> wurde die Entfernung von FLCs bei den verwendeten Blutflussraten zwischen 250 und 300 ml/min mehr als verdoppelt. Dies trat nicht nur in der ersten Stunde auf, während der Vorrat im Blut verringert wurde, sondern auch über die folgenden Stunden, als das extravaskuläre Reservoir teilweise geleert wurde. Nach 4-5 Stunden verlangsamte sich die Verringerung der FLCs im Serum, als die Produktionsrate des Tumors allmählich erreicht wurde. Als Alternative, die möglicherweise auch praktischer ist, könnte ein einziger 2 m<sup>2</sup> Dialysator verwendet werden. Weitere kleine Erhöhungen der Entfernungsraten von FLCs könnten auch erzielt werden, indem man die Flussraten von Blut oder Dialyseflüssigkeit justiert. Ein zusätzlicher Faktor, der Schwankungen in den Entfernungsraten der FLCs erklären könnte, wäre der Grad der Polymerisation der FLCs, aber dieser wurde nicht bestimmt. (Solomon, Meth. Enzymol. (1985), 116, 101-121).

**[00108]** Insgesamt wurde die verlängerte Dialyse gut und ohne nachteilige Nebenwirkungen toleriert. Vorhergehende Untersuchungen haben gezeigt, dass der Gambro HCO 1100 Dialysator für die Verwendung im Umfeld einer Intensivbehandlung sicher ist (Morgeras et al., Nephrol. Dial. Trans. (2003), 18, 2570-2576 und Naka T. et al., Crit. Care (2005), 9, 90-95). Wie vorhergesagt haben wir einen substanziellen Albuminverlust festgestellt, der regelmäßigen Ersatz erforderte (20-40 g pro 10-stündiger Dialysesitzung und als 20%ige Humanalbumin-Lösung verabreicht). Solch eine Leckage ist unvermeidbar bei Membranen, die Poren aufweisen, die beträchtlich größer sind als die Molekülgröße des Albumins (65 kDa), sie war aber nicht mit hämodynamischen oder sonstigen Nebenwirkungen verbunden. Prophylaktische Antibiotika wurden vor invasiven Eingriffen gegeben und normale menschliche Immunglobuline wurden verwendet, wenn die IgG-Konzentrationen im Serum kleiner als 5 g/l waren. Bei Patienten mit multiplem Myelom ist normalerweise das Immunsystem geschwächt, daher war die Verhinderung von Infektionen wichtig. Insgesamt zeigten die Befunde, dass der Gambro HCO 1100 Dialysator wirkungsvoll und sicher war, wenn er zur Entfernung großer Mengen von monoklonalen FLCs eingesetzt wurde.

**[00109]** Das zweite Ziel der Untersuchung war es, ein theoretisches Modell der Entfernung von FLCs zu entwickeln, um verschiedene Behandlungsstrategien zu verstehen. Unter Verwendung bekannter Variablen für die Modell- und Patientendaten waren wir in der Lage, auf iterativer Basis die Entfernung von FLCs in vivo zu modellieren. Diese erlaubte die Berechnung möglicher Produktionsraten von FLCs, Bewegungsgeschwindigkeiten zwischen den extra- und intravaskulären Kompartimenten und den Vergleich der Wirksamkeit von Hämodialyse mit der von Plasmaaustausch. Das Modell wurde für die unterschiedlichen Behandlungsstrategien abgefragt. Simulationen zeigten, dass 4 Stunden Dialyse an jedem zweiten Tag (mit dem Gambro HCO 1100) im Vergleich mit empfohlenen Plasmaaustausch-Protokollen vorteilhaft abschnitten (Figur 7 und Tabelle 5). Das Modell zeigte, dass 8-12 Stunden tägliche Dialyse FLCs im Serum innerhalb weniger Tage auf niedrige Konzentrationen verringern würden, vorausgesetzt, die Chemotherapie war erfolgreich. Mit weniger effektiver Tumorabtötung machte die fortgesetzte Produktion von FLCs die Hämodialyse nach und nach wirkungsvoller als Plasmaaustausch (Tabelle 5).

**[00110]** Die Vorhersagen des Modells stimmten gut mit den ermittelten Patientendaten überein.

Zum Beispiel zeigten die Simulationen für Patient 6 ein ähnliches Muster für die Entfernung von FLCs wie die erzielten klinischen Ergebnisse (Figuren 5 und 6). Den Metabolismus von FLCs in den Nieren zuverlässig zu modellieren wird immer eine Herausforderung darstellen, insbesondere da er sich während der Erholung der Nieren verändert. Insgesamt schien es, dass unterschiedliche Behandlungen angemessen verglichen werden konnten.

**[00111]** Das dritte Ziel der Untersuchung war, eine klinische Strategie für die Verringerung der Konzentrationen von FLCs im Serum bei multiplem Myelom zu identifizieren. Fünf nachfolgende Patienten mit dialysepflichtigem akutem Nierenversagen und durch Biopsie nachgewiesener Myelomniere wurden mit verlängerter täglicher Hämodialyse behandelt, und drei wurden unabhängig von der Dialyse. Dem stehen veröffentlichte Zahlen von 15-20% gegenüber (14, 29). Bei diesen drei Patienten war eine Verringerung der Konzentrationen von FLCs im Serum von 90% mit der Erholung der Nierenfunktion verbunden. Jedoch variieren die Toxizität von individuellen monoklonalen FLCs, das Ausmaß der zugrundeliegenden Nierenschädigung und andere klinische Faktoren enorm, daher kann bei anderen Patienten mehr oder weniger Entfernung von FLCs angebracht sein. Es ist anzumerken, dass die Plasmaaustauschverfahren, die im Modell bewertet (Tabelle 5) und in der klinischen Praxis verwendet wurden (34), die Konzentrationen von FLCs im Serum um nicht einmal 30% verringerten.

**[00112]** Die Wirksamkeit der Chemotherapie war bei der Behandlung dieser Patienten von erheblicher Bedeutung. Zum Beispiel verringerten sich bei Patient 9 (Figur 5) die FLCs im Serum innerhalb von 3 Wochen auf normale Konzentrationen. Die Chemotherapie war wirkungsvoll, große Mengen von FLCs wurden entfernt und die Nierenfunktion erholte sich. Während des zweiten Zyklus Dexamethason verringerten sich die Konzentrationen von FLCs zwischen den Dialyseperioden. Dies war vermutlich auf ihren Metabolismus und Ausscheidung durch die Nieren zurückzuführen und weist auf eine Erholung der Funktion hin. Bei Patient 10 war die Chemotherapie unwirksam und musste dann wegen Infektionen gestoppt werden. Die Konzentrationen von FLCs im Serum wurden vorübergehend durch die Dialyse verringert, stiegen aber innerhalb von 1-2 Tagen wieder an und es trat keine Erholung der Nieren ein (Figur 4). Es wird wichtig sein, schnell wirkende und effektive Medikationsprogramme zu identifizieren, die schnell modifiziert werden können, wenn die Konzentrationen der FLCs nicht schnell fallen. Kombinationen von Bortezomib, Doxorubicin und Dexamethason oder Cyclophosphamid, Thalidomid und Dexamethason sind in hohem Grade erfolgreich und weisen bessere Ansprechraten auf als Vincristin, Adriamycin und Dexamethason - VAD (30).

**[00113]** Es ist möglich, dass die Entfernung von FLCs durch Hämodialyse die Nieren für mehrere Wochen vor andauernder Schädigung schützen kann. Einzelne Berichte haben die Erholung der Nierenfunktion bei Myelomniere beschrieben. Beispielsweise wurden zwei Patienten von der Dialyse unabhängig nach autologer Knochenmarkstransplantation, die viele Monate nach ihrer ursprünglichen Vorstellung in der Klinik mit akutem Nierenversagen erfolgte (Tauro et al., Bone marrow Trans. (2002), 30, 471-473). Messungen von FLCs im Serum wurden nicht berichtet, aber wir vermuten, dass die Verwendung hoher Dosen Melphalan die Produktion monoklonaler FLCs gestoppt hatte. Für die Erholung der Nieren ist jedoch effektive Tumorbehandlung zur Verringerung der Produktion von FLCs wesentlich, zusätzlich zu jeglicher Entfernung durch Hämodialyse.

**[00114]** Für alle Patienten war tägliche Überwachung mit Tests auf FLCs im Serum wichtig. Die Ergebnisse machten es möglich, die Wirksamkeit der Dialysatoren und der Chemotherapie laufend zu beurteilen. Solche tägliche Bewertungen unterscheiden sich ziemlich von dem typischen Behandlungsrhythmus bei Myelom. Behandlungsergebnisse werden normalerweise über Wochen oder Monate bewertet, meist anhand der Beobachtungen der langsamen Änderungen, die in den IgG Konzentrationen im Serum beobachtet werden (Halbwertszeit von 3 Wochen). FLCs haben Halbwertszeiten im Serum von 2-3 Stunden (2-3 Tage bei Nierenversagen), daher können klinische Reaktionen sehr viel schneller bemerkt und behandelt werden (Mead et al., Br. J. Hem., (2004), 126, 348-354 und Pratt et al., Leukaemia and Lymphoma (2006), 47, 21-28).

**[00115]** Die Ergebnisse erlauben eine gewisse Interpretation der Plasmaaustausch-Studie von

Clark et al., 2005, Ann. Intern. Med. (2005), 143, 777-784. Obgleich es keine veröffentlichten Ergebnisse der Konzentrationen von FLCs im Serum in Verbindung mit Plasmaaustausch gibt, bestätigt ein im Druck befindlicher Bericht (von Cserti C, et al., Transfusion) Modellsimulationen, dass während einer Behandlungsperiode gewöhnlich nur 25-30% der Gesamtmenge entfernt werden (Figur 7 und Tabelle 5). Folglich kann der hauptsächlich bestimmende Faktor für die Erholung der Nieren gewesen sein, dass die Chemotherapie die Produktion von FLCs abgeschaltet hat. Weniger als 40% der Patienten würden eine sehr gute Reaktion auf VAD während der ersten Wochen der Behandlung gezeigt haben (30). Ihre beobachteten Erholungsraten der Nieren von ~40% (sowohl in der behandelten wie der Kontrollgruppe) könnten nur solche Reaktionen auf die Chemotherapie wiedergeben. Aber wir glauben, dass sie wahrscheinlich auch auf die Entfernung von FLCs zurückzuführen sind. Andere Ursachen von Nierenversagen wie akute Tubulusnekrose (wie bei einem unserer Patienten beobachtet) können auch vorgelegen haben. Ohne histologische Klärung und häufige Messungen der FLCs im Serum wird die Interpretation von Versuchsreihen zur Bewertung der Erholung der Nierenfunktion bei Patienten mit Myelomniere sich als schwierig erweisen (Ritz E., J. Am. Soc. Nephrol. (2006), 17, 911-913).

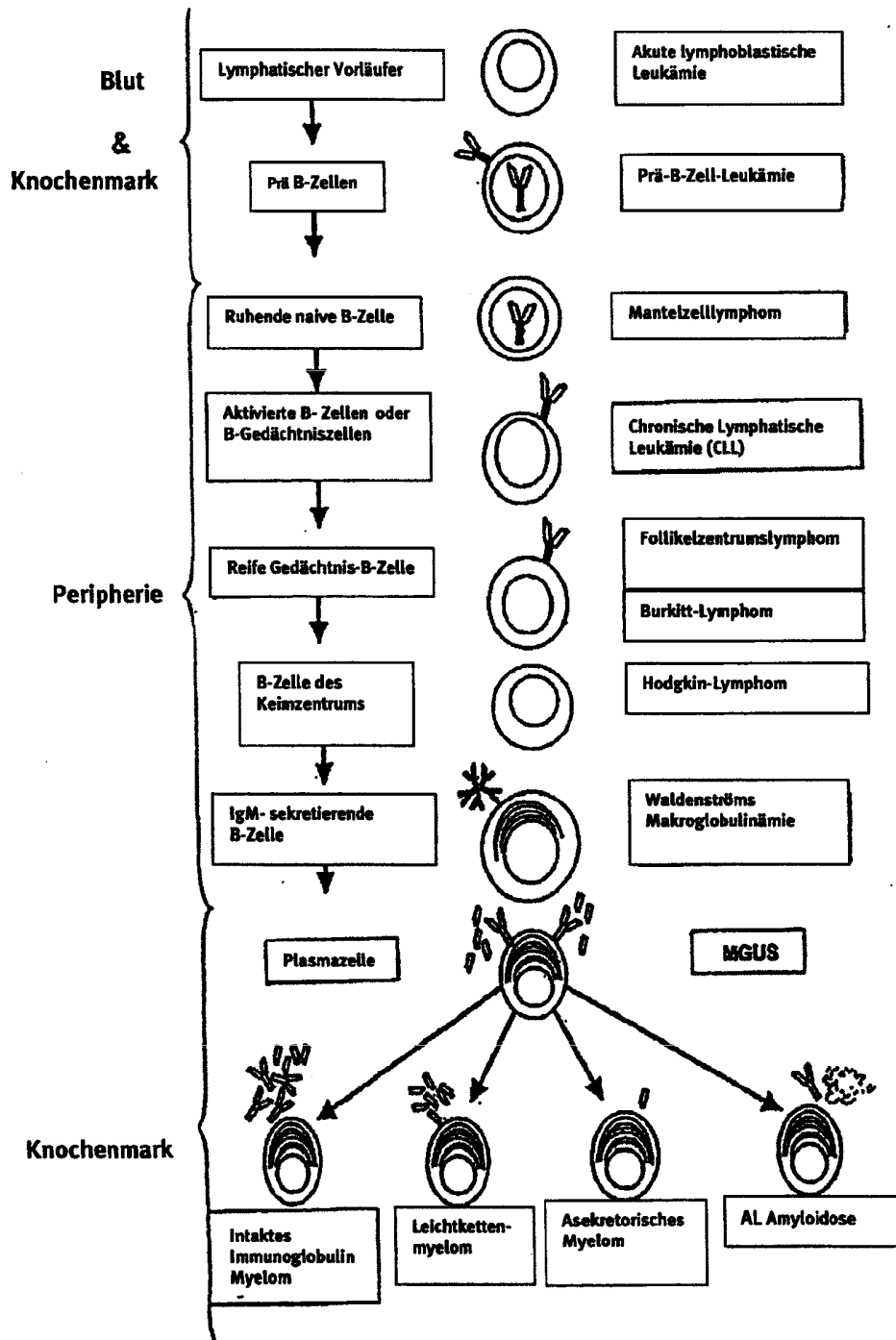
[00116] Zusammenfassend haben die Untersuchungen gezeigt, dass tägliche verlängerte Hämodialyse, z.B. mit dem Gambro HCO 1100 Dialysator, kontinuierlich große Mengen von FLCs aus dem Serum entfernen konnte. Modellrechnungen und klinische Daten legten nahe, dass dies wirkungsvoller war als Plasmaaustauschverfahren. Dies wird unterstützt durch erste Hinweise auf klinische Wirksamkeit, beurteilt auf Grund zufriedenstellender Erholung der Nieren bei drei von fünf Patienten mit Myelomniere.

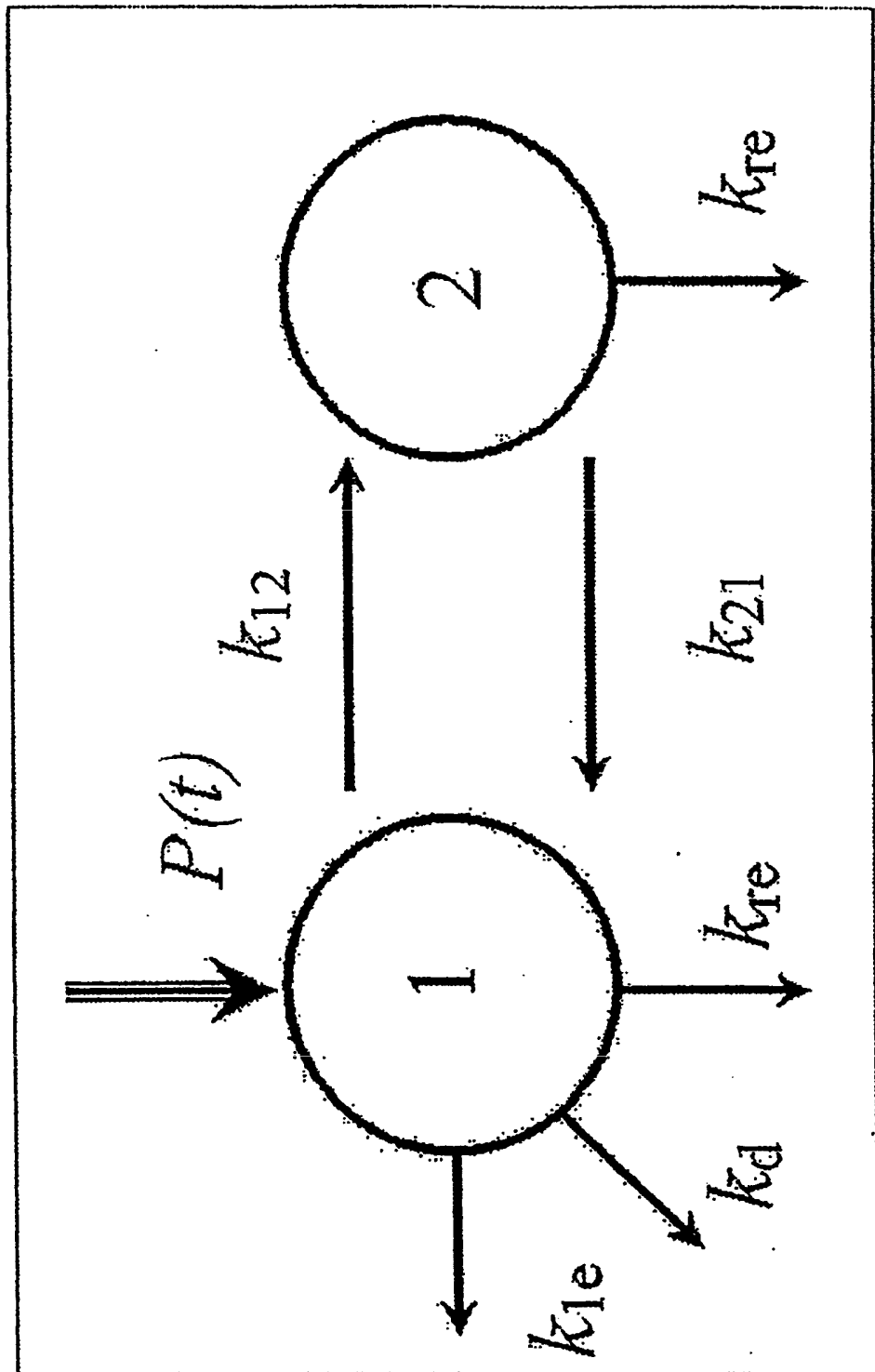
### Ansprüche

1. Dialysemembran zur Behandlung von multiplen Myelom, **dadurch gekennzeichnet**, dass sie für Moleküle mit einem Molekulargewicht von bis zu 45 kDa in Gegenwart von Vollblut durchlässig ist und einen Molekulargewichtsausschlussgrenzwert in Wasser von etwa 200 kDa und einen Siebkoeffizienten für IL-6 in Gegenwart von Vollblut von 0,9 bis 1,0 aufweist.
2. Dialysemembran nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass sie mindestens ein hydrophiles Polymer und mindestens ein hydrophobes Polymer umfasst, die in der Membran als Domänen auf der Oberfläche vorliegen.
3. Dialysemembran nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass sie eine Hohlfasermembran ist und mindestens eine 3-lagige asymmetrische Struktur aufweist mit einer Trennschicht in der innersten Lage der Hohlfasermembran.
4. Dialysemembran nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass sie Poren in der Größenordnung von 15 bis 60 nm in der Trennschicht aufweist.

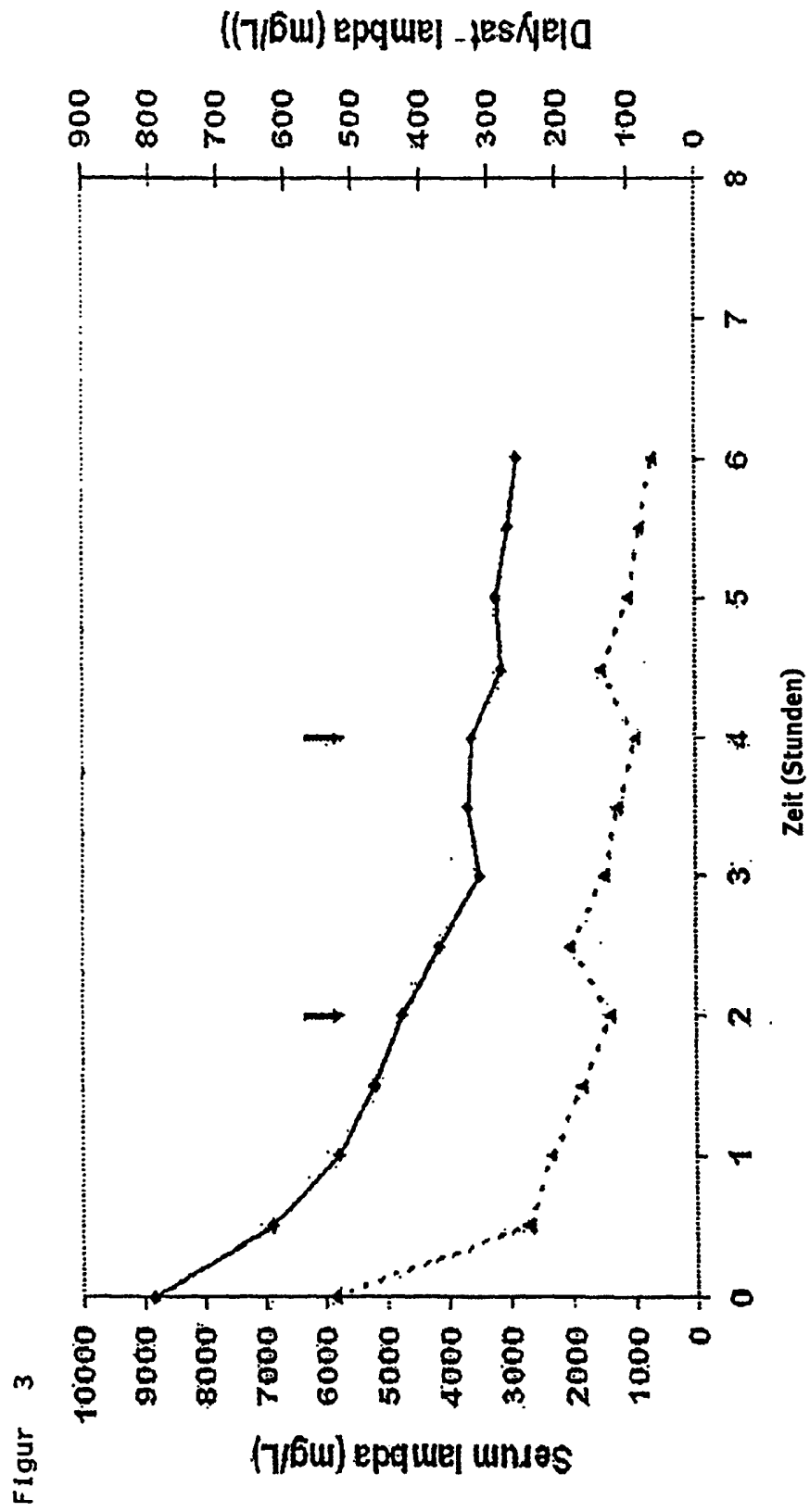
Hierzu 8 Blatt Zeichnungen

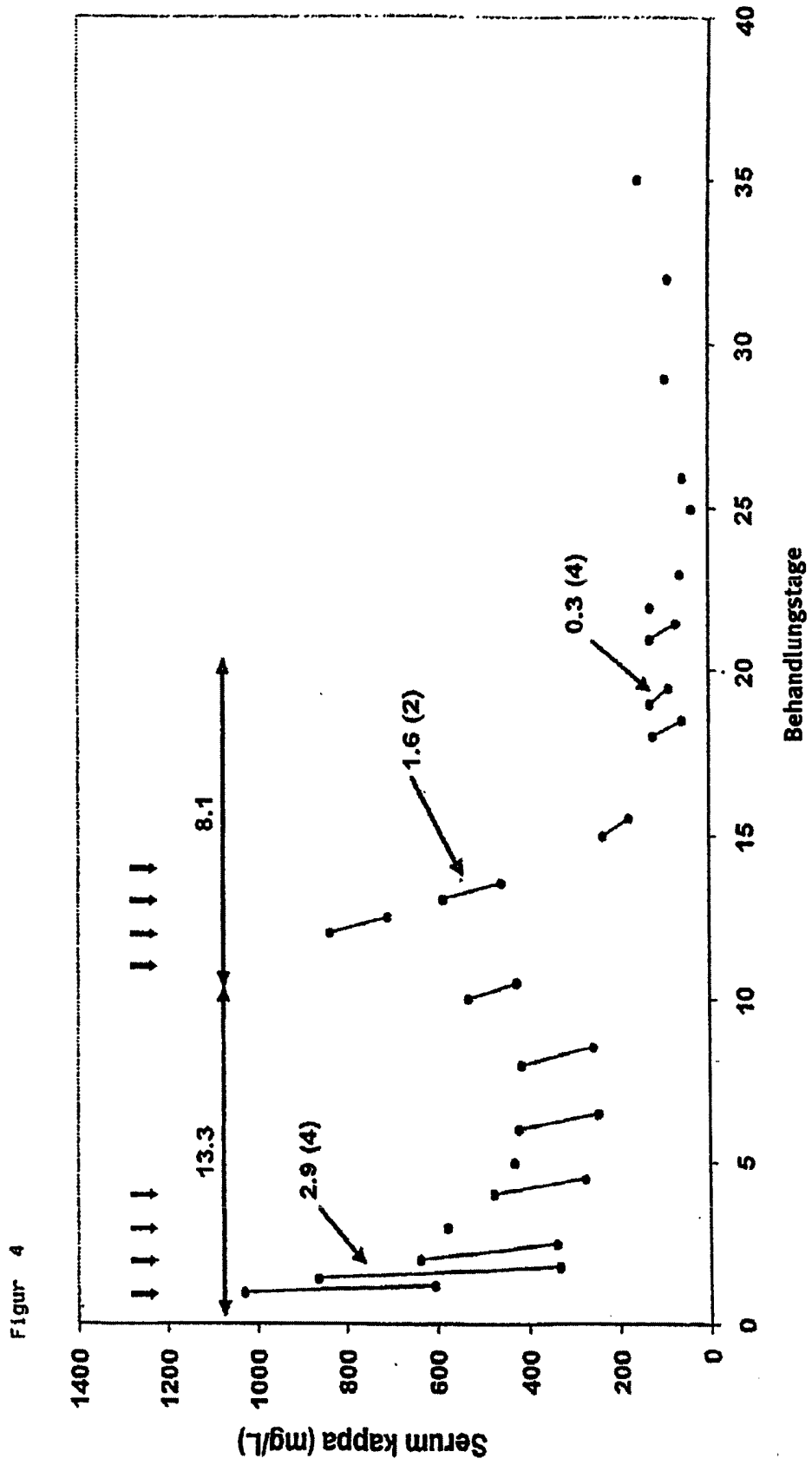
Figur : 1

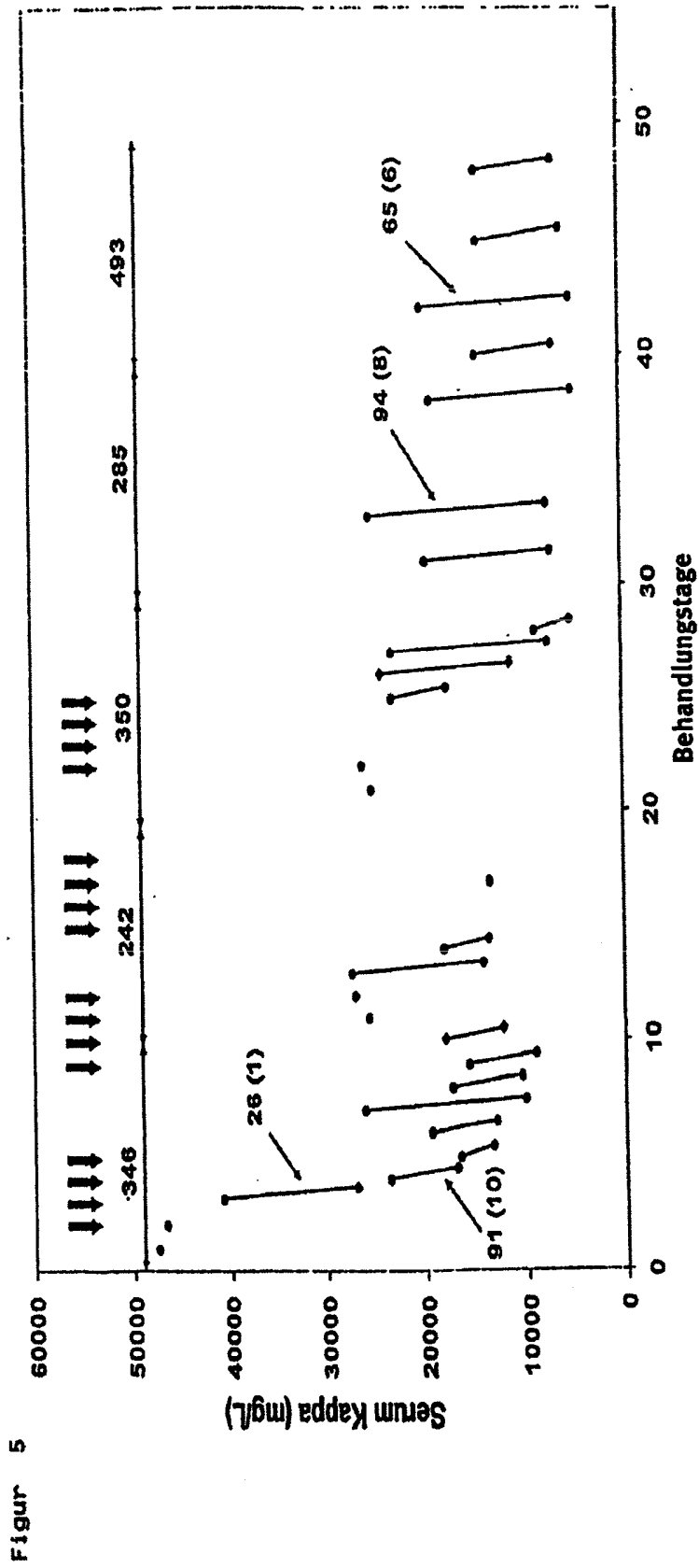




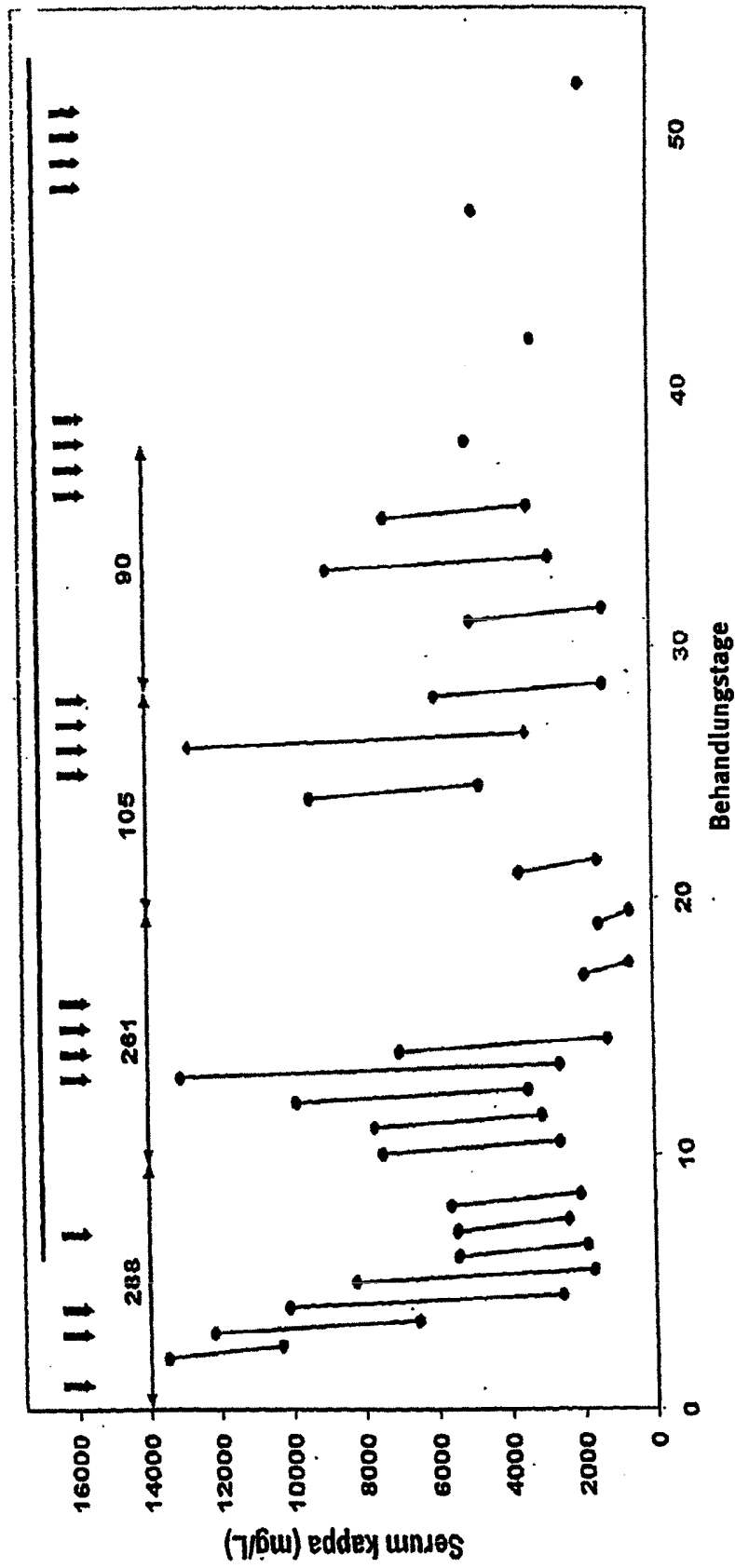
Figur 2



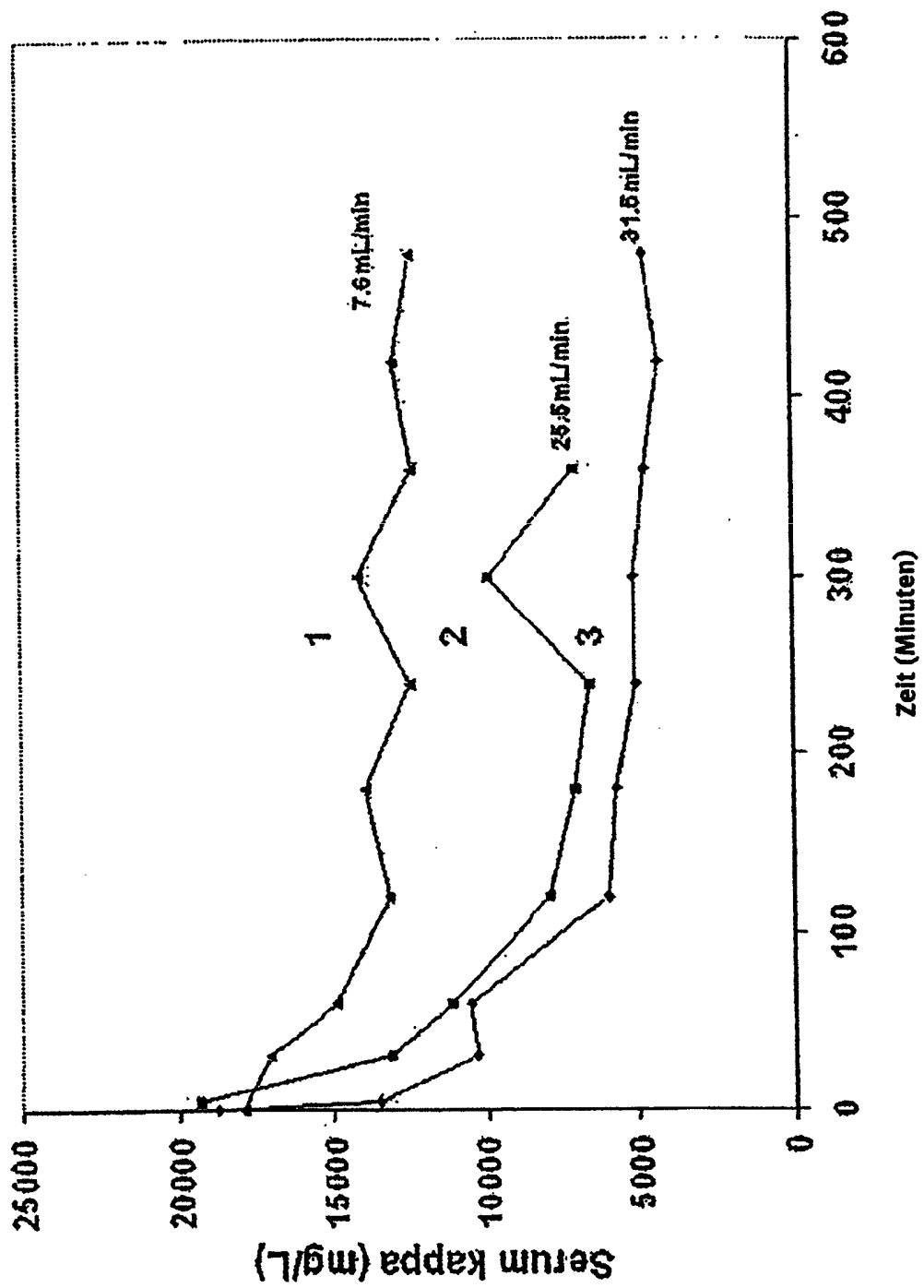




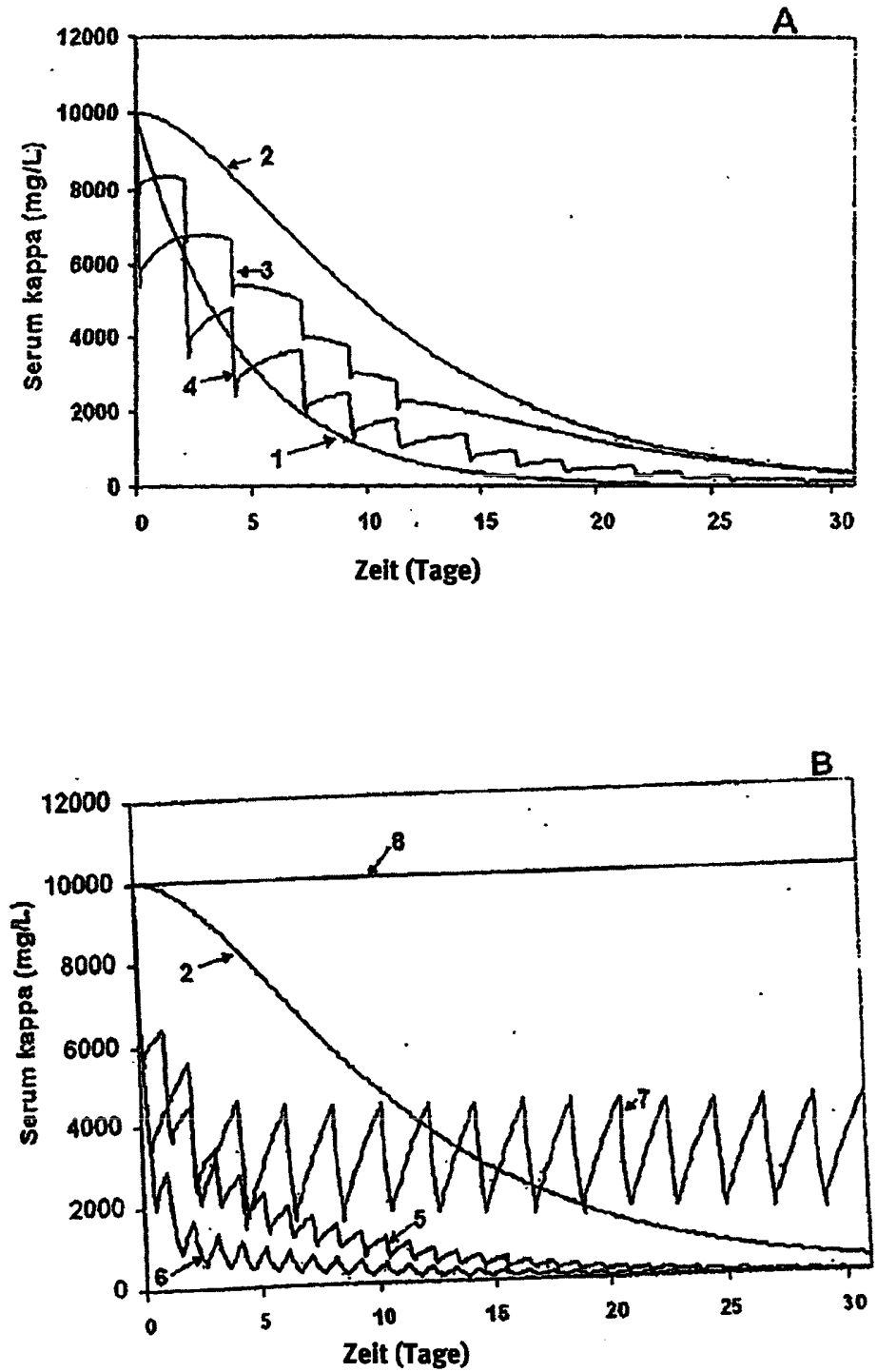
Figur 6



Figur 7



Figur : 8



Klassifikation des Anmeldegegenstands gemäß IPC <sup>8</sup> : <b>A61M 1/16</b> (2006.01); <b>A61M 1/34</b> (2006.01); <b>B01D 69/08</b> (2006.01)		
Klassifikation des Anmeldegegenstands gemäß ECLA: A61M 1/16, A61M 1/34, B01D 69/08		
Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation): A61M, B01D		
Konsultierte Online-Datenbank: EPODOC, WPI, BIOSIS		
Dieser Recherchenbericht wurde zu den <b>am 1. Dezember 2010 eingereichten</b> Ansprüchen erstellt.		
Die in der Gebrauchsmusterschrift veröffentlichten Ansprüche könnten im Verfahren geändert worden sein (§ 19 Abs. 4 GMG), sodass die Angaben im Recherchenbericht, wie Bezugnahme auf bestimmte Ansprüche, Angabe von Kategorien (X, Y, A), nicht mehr zutreffend sein müssen. In die dem Recherchenbericht zugrunde liegende Fassung der Ansprüche kann beim Österreichischen Patentamt während der Amtsstunden Einsicht genommen werden.		
Kategorie <sup>9)</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
X	WO 2004/056460 A1 (GAMBRO LUNDIA) 8. Juli 2004 (08.07.2004) Ganzes Dokument, Dokument in Anmeldung zitiert	1-5
X	BRADWELL, A.R. Rapid Removal of Free Light Chains from Serum by Hemodialysis for Patients with Myeloma Kidney. BLOOD, November 2005, Vol.106, Nr.11, Teil 1, Seite 972A. Meeting Info.: 47th Annual Meeting of the American-Society-of-Hematology. Atlanta, GA, USA. December 10 -13, 2005. Amer Soc Hematol. ISSN: 0006-4971. Ganzes Dokument	1-5
P,X	HUTCHISON, C.A. Efficient removal of immunoglobulin free light chains by hemodialysis for multiple myeloma: in vitro and in vivo studies. JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF NEPHROLOGY, März 2007, Vol. 18, Nr. 3, Seiten 886-895, ISSN: 1046-6673 Ganzes Dokument	1-5
<sup>9)</sup> <b>Kategorien</b> der angeführten Dokumente: <b>X</b> Veröffentlichung <b>von besonderer Bedeutung</b> : der Anmeldegegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden. <b>Y</b> Veröffentlichung <b>von Bedeutung</b> : der Anmeldegegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese <b>Verbindung für einen Fachmann naheliegend</b> ist. <b>A</b> Veröffentlichung, die den <b>allgemeinen Stand der Technik</b> definiert. <b>P</b> Dokument, das <b>von Bedeutung</b> ist (Kategorien <b>X</b> oder <b>Y</b> ), jedoch <b>nach dem Prioritätstag</b> der Anmeldung <b>veröffentlicht</b> wurde. <b>E</b> Dokument, das <b>von besonderer Bedeutung</b> ist (Kategorie <b>X</b> ), aus dem ein <b>älteres Recht</b> hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen). <b>&amp;</b> Veröffentlichung, die Mitglied der selben <b>Patentfamilie</b> ist.		
Datum der Beendigung der Recherche: 14. April 2011	<input type="checkbox"/> Fortsetzung siehe Folgeblatt	Prüfer(in): Dipl.-Ing. KÖNIG