

Medizinische Fakultät  
der  
Universität Duisburg-Essen

Aus dem Zentrum für Transfusionsmedizin

**Qualitätskontrollparameter an Erythrozytenkonzentraten  
-- Retrospektive Datenanalyse aus 20 Jahren --**

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
durch die Medizinische Fakultät  
der Universität Duisburg-Essen

vorgelegt von  
Birgit Hilde Voges-Hage, geb. Voges  
aus Göttingen  
2006

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. K.-H. Jöckel  
1. Gutachter: Herr Univ.-Prof. Dr. N. Müller  
2. Gutachter: Herr Priv.-Doz. Dr. J. Dürig

Tag der mündlichen Prüfung: 21. März 2007

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>4</b>
	1.1 Entwicklung der Blutkomponententherapie .....	4
	1.2 Hämotherapie nach Maß.....	8
	1.3 Fragestellung.....	9
<b>2</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>10</b>
	2.1 Untersuchte Präparate.....	10
	2.2 Untersuchungsmethoden .....	13
	2.3 Datenerfassung und Auswertung .....	19
<b>3</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>20</b>
	3.1 Erythrozytenvolumen .....	21
	3.2 Hämatokrit .....	23
	3.3 Gesamthämoglobin.....	24
	3.4 freies Hämoglobin und Hämolyserate .....	26
	3.5 Adenosintriphosphat (ATP).....	29
	3.6 Leukozytenkontamination .....	30
	3.7 extrazelluläres Kalium.....	32
	3.8 pH-Wert nach Herstellung und am Ende der Lagerungszeit .....	33
	3.9 Thrombozytenkontamination.....	35
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>38</b>
	4.1 Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien.....	38
	4.2 Klinische Bedeutung .....	52
	4.3 Weitere Nebenwirkungen durch Lagerungseffekte.....	59
	4.4 Lagerungszeit als Qualitätskriterium.....	62
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>64</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>65</b>
	<b>Danksagung.....</b>	<b>73</b>
	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>74</b>

# 1 Einleitung

Noch heute ist menschliches Blut in der medizinischen Therapie unersetzlich. Blut, von freiwilligen Spendern gewonnen, ist für die Medizin ein sehr wertvoller und bisher unverzichtbarer Rohstoff, aus dem Blutkomponenten (Erythrozytenkonzentrat, Thrombozytenkonzentrat) und Blutprodukte (Plasma, Albumin, Immunglobuline) gewonnen werden.

Erythrozytenkonzentrate sind die am häufigsten eingesetzten Hämotherapeutika. Ihre wirksamen Bestandteile sind die lebensfähigen Erythrozyten, hochspezialisierte kern- und mitochondrienlose Zellen mit eingeschränktem Stoffwechsel (Högman, C. F., Meryman, H. T. 1999). Erythrozyten sind Träger des Hämoglobins, das für Austausch und Transport der Atemgase, insbesondere von Sauerstoff, in Lunge und Geweben unverzichtbar ist.

## 1.1 Entwicklung der Blutkomponententherapie

Die Blutkomponententherapie als Grundlage der Hämotherapie nach Maß gilt derzeit als Stand der Wissenschaft.

Die Einzelkomponenten können in speziellen Nährlösungen lagerungsfähig aufbereitet und artspezifisch gelagert werden. Das ermöglicht eine ökonomische Nutzung des knappen Rohstoffs Blut und eine bessere Standardisierung der Blutkomponenten.

Für den Patienten bedeutet das weniger Volumenbelastung und Vermeidung unnötiger, möglicherweise schädlicher Infusionen durch überzählige Blutbestandteile (Dörner, R. 1990).

### 1.1.1 Blutkonservierung

Erst Anfang des 20. Jahrhunderts wurden Vorgang und Bedeutung der Blutgerinnung verstanden. Es gelang die systematische Unterbindung der Blutgerinnung und damit auch die Blutkonservierung. Parallel zu der üblichen direkten Frischblutübertragung von Mensch zu Mensch bildeten sich Blutdepots und Blutspenderzentralen (Leikola, J. 1996).

Bewährt als Antikoagulans hat sich Zitrat, welches durch die hohe Bindungsfähigkeit an Kalzium (Chelatbildung) die Blutverklumpung verhindert, da Kalzium zur Aktivierung der meisten Gerinnungsfaktoren notwendig ist (Benedum, J. 2004).

Als Energielieferant für die Erythrozyten wurde Glukose (Dextrose) zugesetzt. Um die Karamellisierung der Glukose während der Sterilisation zu verhindern, setzte man Zitronensäure zu und entdeckte, dass dadurch die Lebensfähigkeit der Erythrozyten verlängert wurde. Das führte zur Entwicklung von Stabilisatorlösungen mit verbesserter Überlebensrate und -zeit von Erythrozyten.

### 1.1.2 Stabilisatorlösungen

In den ersten Jahrzehnten kamen die ACD-Lösungen (**A**qua, **C**itrat, **D**extrose) zum Einsatz, die in den 70er Jahren durch die CPD-Lösung (**C**itrat, **P**hosphat, **D**extrose) mit etwas niedrigerem pH-Wert abgelöst wurden (Sachs, U., Bux, J. 2004). Zitrat ist das eigentliche Antikoagulans. Zur Abpufferung des während der Lagerung abfallenden pH-Wertes setzte man Phosphat zu. Dextrose (Glukose) ist Energielieferant. Zitronensäure bewirkt durch die Ansäuerung zu Beginn der Lagerung günstigere Überlebenschancen für Erythrozyten bei Lagertemperaturen von 4°C. Die übliche Lagerungszeit von Vollblut- oder Erythrozytenkonserven beträgt hiermit 21 Tage.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Stabilisatorlösungen ACD und CPD je 100 ml H<sub>2</sub>O

Bestandteil	ACD	CPD
Glucose in mg	2450	2550
Natriumcitrat in mg	2200	2630
Citronensäure in mg	800	327
Natriumphosphat in mg	-	2220
pH	5,0	5,6-5,8

Zunächst wurde Vollblut in Stabilisatorlösung gelagert. Lagerungstemperaturen um 4°C verhinderten die Übertragung von Syphiliserregern, allerdings war der Verlust an funktionstüchtigen Gerinnungsfaktoren beträchtlich, obwohl der Bedarf an bestimmten

Plasmafaktoren zunahm. So konnte sich in den achtziger Jahren des 20. Jahrhunderts die Blutkomponententherapie durchsetzen.

Bis in die 70er Jahre hinein waren Glasflaschen als Lagerungsbehältnis für Blut üblich (Sachs, U., Bux, J. 2004). Mit der Einführung von Plastikbeuteln wurde die Trennung der Blutkomponenten optimiert. Kunststoffbeutel können stärker zentrifugiert werden mit schärferer Trennung der einzelnen Komponenten. Hierdurch gelingt eine bessere Fraktionierung. Das durch Schläuche miteinander verbundene Mehrfachbeutelssystem ermöglicht die geschlossene und damit sterile Präparation. Aufgrund ihrer günstigen Eigenschaften wie Verformbarkeit, Temperaturverträglichkeit und Blutkompatibilität werden Kunststoffbeutel bis heute verwendet.

### **1.1.3 Additivlösungen**

Zunächst wurden Erythrozytenkonzentrate in resuspendiertem Plasma-Stabilisator-Gemisch gelagert, da bei hohem Hämatokrit die Lebensfähigkeit der Erythrozyten stark absinkt und die Hämolyse zunimmt (Högman, C. F. et al 1981). Durch Zusatz erythrozytenspezifischer Konservierungslösungen, sogenannter Additivlösungen, nach vollständiger Abtrennung des Plasmas, wurde die Überlebensfähigkeit der Erythrozyten weiter verlängert. Zudem erhält man eine konzentrierte Zellsuspension mit niedriger Viskosität, weniger Mikroaggregaten und geringem Gehalt an Plasmaproteinen. Das mindert die Kreislaufüberlastung bei der Bluttransfusion und die Überempfindlichkeitsreaktionen gegen Plasmabestandteile beim Blutempfänger. Mit dem geringen Restplasma liegt ein zu vernachlässigender Isoagglutiningehalt vor, seitdem gilt Blut mit der Blutgruppe 0 als Universalblut.

Typischerweise bestehen Additivlösungen aus Purinnukleotiden, Glukose, Phosphat und Mannitol oder Sorbitol in Kochsalzlösung.

Die Zugabe von Purinnukleotiden wie Adenin, Guanosin oder Inosin bessert die Synthese von ATP (Adenosintriphosphat) und 2,3-DPG (2,3-Diphosphoglycerat) im Laufe der Lagerung, dadurch wird die Lebensfähigkeit der Erythrozyten weiter verlängert. Vermutlich wird der ATP- und GTP-Abbau (Guanosintriphosphat) über die Zwischenstufen AMP (Adenosinmonophosphat) und GMP (Guanosinmonophosphat) blockiert (Sibrowski, W., Cassens, U. 1998).

Die Phosphate wirken als Puffer, die während der Lagerung eine übermäßige Ansäuerung der Erythrozytenkonzentrate durch die bei der Glykolyse gebildete Milchsäure verhindern. Die Zuckeraustauschstoffe Mannitol oder Sorbitol bleiben als niedermolekulare Stoffe in der extrazellulären Lösung, mindern dadurch den osmotischen Gradienten extra-/ intrazellulär und verhindern einen stärkeren Einstrom von Lösung in die Erythrozyten mit Schwellung und möglicher Hämolyse (Högman, C. F. et al 1978). Am häufigsten werden SAGM-Lösung und PAGGSM-Lösung angewendet.

Die von Lovric und Högman entwickelte SAGM-Lösung besteht aus **S**odium, **A**denin, **G**lukose und **M**annitol. Die 24-Stunden-Überlebenszeit der Erythrozyten nach der Transfusion beträgt hiermit mehr als 73,3% nach einer Lagerungszeit von 6 Wochen (Högman, C. F. et al 1983). Nach 4 Wochen Lagerung ist der ATP-Gehalt (Adenosintriphosphat) noch ausreichend und Hämolyse und morphologische Veränderungen sind gering, danach steigt das freie Hämoglobin jedoch so an, dass eine Lagerungszeit von 5 Wochen empfohlen wurde. Im Vergleich zu Erythrozyten in PAGGSM-Lösung tritt eine stärkere Schwellung der roten Blutkörperchen ein, begleitet von einer erhöhten Kaliumfreisetzung und einer Abnahme der Zelldeformierbarkeit (Zilow, E. P. et al 1996).

Tabelle 2: Zusammensetzung der Additivlösungen SAGM und PAGGSM je 100 ml H<sub>2</sub>O

Bestandteil	SAGM	PAGGSM
Natriumchlorid in mg	877	421
Glucose in mg	900	940,5
Adenin in mg	16,9	19,4
Guanosin in mg	-	40,8
Mannitol in mg	525	1000
Dinatriumphosphat in mg	-	114
Natriumphosphat in mg	-	125,5
pH	4,9	5,7

Seidl und Spielmann entwickelten die PAGGSM-Lösung (**P**hosphat, **A**denin, **G**lukose, **G**uanosin, **S**aline, **M**annitol) (Spielmann, W., Seidl, S. 1974). Sie enthält fast doppelt soviel Mannitol wie die SAGM-Lösung, durch ist der osmotische Gradient niedriger

und der Einstrom von Lösung in die Zelle geringer im Vergleich zur SAGM-Lösung (Zilow, E. P. et al 1996). Die Adeninmenge ist größer als in SAGM-Lösung, zusätzlich enthält diese Lösung Guanosin. Dieses erhöht GTP (Guanosintriphosphat), das im Gleichgewicht mit ATP (Adenosintriphosphat) steht (Fagiolo, E. et al 1987). Hierdurch werden ATP und Adenylatpool (ATP + ADP (Adenosindiphosphat) + AMP (Adenosinmonophosphat)) besser erhalten und das 2,3-DPG (2,3-Diphosphoglycerat) etwa 3 Wochen aufrechterhalten (Hasibeder, W. et al 1988). Die Hämolyse ist geringer und die 24-Stunden-Überlebenszeit beträgt nach 49 Tagen 80%. Das erlaubt eine Lagerung von 7 Wochen.

## **1.2 Hämotherapie nach Maß**

Die Hämotherapie nach Maß beruht darauf, dass oft nur bestimmte Faktoren des Blutes benötigt werden und durch Einsatz bestimmter Blutkomponenten ein gezielter Ausgleich der Defizite ermöglicht wird. Volumenmangel wird mit Volumenersatzlösungen gedeckt, der Mangel an Sauerstoffträgern wird mit Erythrozytenkonzentraten behoben, sehr viel seltener werden Plättchen und Gerinnungsfaktoren benötigt.

Im klinischen Alltag der Hämotherapie nach Maß mit Erythrozytenkonzentraten blieben die über die Jahre vorgenommenen vielfachen Änderungen in der Herstellung und die sich daraus ergebenden geänderten Zusammensetzungen dieser Präparate weitgehend unbeachtet, beziehungsweise wurden in ihren Auswirkungen von den Anwendern so gut wie nicht wahrgenommen.

Daher erscheint es im Rahmen der Qualitätssicherung in der Hämotherapie sinnvoll und erforderlich, bewertende Kenntnisse zum Wandel der Qualitätsdaten von Blutprodukten über einen längeren Zeitraum verfügbar zu machen.

### 1.3 Fragestellung

Die vorliegende Arbeit untersucht die Parameter, die die Qualität gelagerter Erythrozytenkonzentrate aus verschiedenen Herstellungsmethoden charakterisieren.

Über einen Zeitraum von 20 Jahren wurden im Zentrum für Transfusionsmedizin Münster Laboruntersuchungen durchgeführt, die zu Beginn und Ende der Haltbarkeitsfrist von Erythrozytenkonzentraten Auskunft über Zustand, Stoffwechsel und Lagerungsstabilität der Zellen geben sollten. In diesem Zeitraum wurden unterschiedliche Antikoagulans-, Stabilisator- und Additivlösungen eingesetzt. Auch die Präparations-techniken und Beutelsysteme unterlagen einer Weiterentwicklung. Letzter Schritt auf dem Weg der Produktoptimierung war die generelle Leukozytendepletion seit dem August 2000.

Ziel der Arbeit ist die Darstellung der kontinuierlichen Produktveränderung (Verbesserung) anhand der retrospektiven Analyse der Qualitätsmerkmale, sowie eine Bewertung der Erythrozytenqualität im Beobachtungszeitraum.

## **2 Material und Methoden**

In dieser Arbeit wurden die im Rahmen der Qualitätskontrolle von homologen Erythrozytenkonzentraten erhobenen Lagerungsparameter am Zentrum für Transfusionsmedizin Münster des Blutspendedienstes West der Jahre 1985-2004 erfasst und ausgewertet.

### **2.1 Untersuchte Präparate**

Standardpräparat am Zentrum für Transfusionsmedizin Münster ist das durch Zentrifugation aus Vollblut gewonnene buffy coat-arme Erythrozytenkonzentrat, bis 1989 resuspendiert in CPD-Plasma-Gemisch, danach in den Additivlösungen SAGM, später PAGGSM, seit dem Jahr 2000 leukozytendepletiert. Für Sonderindikationen können gewaschene Erythrozytenkonzentrate, bestrahlte Erythrozytenkonzentrate und 40 ml-Einheiten für die Pädiatrie bereitgestellt werden.

#### **2.1.1 Erythrozytenkonzentrat in CPD-Plasma-Gemisch**

Von 1985-1989 wurden Erythrozytenkonzentrate in CPD-Plasma-Gemisch gelagert. Das entnommene Vollblut wurde in Einmalbeuteln mit 70 ml CPD-Lösung aufgefangen und zentrifugiert. Das oberliegende Plasma wurde bis auf eine Schicht von 1–2 cm in der Abpressvorrichtung (Compomat G3 der Firma Fresenius NPBI) in einen Becher abgequetscht. Danach wurde die Buffy coat-Schicht mit dem verbliebenen Plasma (circa 50-70 ml) ebenfalls in einen Becher entfernt. In das im Beutel verbliebene Erythrozytenkonzentrat wurde bis zu 50 ml der CPD-Plasma-Lösung resuspendiert. Die maximale Lagerungszeit betrug 28 Tage.

#### **2.1.2 Erythrozytenkonzentrat in Additivlösung SAGM**

Von Dezember 1989 bis März 1995 wurden Erythrozytenkonzentrate in SAGM-Lösung gelagert. Dazu wurden zunächst miteinander verbundene Doppelbeutel verwendet. In den Beutel mit 70 ml CPD-Lösung wurde das Vollblut aufgenommen, im 2. Beutel befand sich 100 ml SAGM als Nährlösung. Diese wurde nach Entfernen des nach der

Zentrifugation oben geschichteten Plasmas und des Buffy coats in einen Becher in die im Sammelbeutel verbliebenen Erythrozyten resuspendiert.

Seit 1993 wurden Dreifach-Beutel verwendet. Die nach der Zentrifugation oben liegende Plasmaschicht wurde nun in den Leerbeutel abgeleitet. Die Buffy Coat-Schicht wurde weiterhin in einen Becher entfernt, die im 3. Beutel befindliche Nährlösung wurde zu den im Sammelbeutel verbliebenen Erythrozyten resuspendiert. Die maximale Lagerungszeit betrug 35 Tage.

### **2.1.3 Erythrozytenkonzentrat in Additivlösung PAGGSM**

Seit April 1995 wurde als Additivlösung 110 ml PAGGSM-Lösung verwendet. Seit April 1996 kamen Top&Bottom-Beutel zur Anwendung mit Schlauchabgängen oben und unten, sowohl als Dreifach-, als auch als Vierfach-Beutel (der 4. Beutel für die sterile Präparation der Thrombozyten aus Buffy Coat). Sie ermöglichen die Präparation in einem geschlossenen System, hierdurch erhofft man sich eine Reduzierung des Kontaminationsrisikos im Vergleich zum offenen System (unter Reinraumbedingungen) für alle gewonnenen Blutkomponenten. Im Compomaten G4 der Firma Fresenius NPBI wird das Plasma nach oben in einen anhängenden Leerbeutel abgepresst, die Erythrozyten nach unten in einen anhängenden Beutel mit Nährlösung, das Buffy Coat verbleibt im Sammelbeutel. Die maximale Lagerungszeit betrug 1995–1997 35 Tage, seitdem 42 Tage.

### **2.1.4 Erythrozytenkonzentrat in Additivlösung PAGGSM, leukozytenfiltriert**

Am Zentrum für Transfusionsmedizin Münster wurde die sogenannte Inline-Filtration im August 2000 eingeführt. Der verwendete Filter besteht aus Polyesterfasern, die in einer bestimmten Dichte gepresst werden, sodass Poren einer genauen Größe entstehen. Während der Komponententrennung am Compomaten wird die Additivlösung zur Filterbenetzung über den Leukozytenfilter in den sogenannten Erythrozytentransferbeutel geleitet, in den zeitgleich die Erythrozyten aus dem Vollblutbeutel abgepresst werden. Das so entstandene Erythrozytenkonzentrat wird vom Vollblutbeutel abgeschweißt und sofort mittels Schwerkraft leukozytenfiltriert, indem es über den Inline-

Filter zurückläuft in den nun von der Additivlösung leeren Beutel. Die Filtrationszeit darf maximal 90 Minuten dauern.

### **2.1.5 Bestrahtes Erythrozytenkonzentrat in Additivlösung PAGGSM, leukozytendepletiert**

Bestrahlte Erythrozytenpräparate wurden eingeführt, um vermehrungsfähige, immun-kompetente Lymphozyten durch die ionisierende Strahlung an ihrer Fähigkeit zur Entfaltung immunologischer Aktivität bzw. Vermehrung zu hindern. Ein Anwachsen der transfundierten Lymphozyten im Empfänger und Graft-versus-Host-Reaktionen werden dadurch verhindert (Sachs, U., Bux, J. 2004). Letztere können durch kleinste übertragene Lymphozytenmengen ausgelöst werden (10.000 Zellen/ kg Körpergewicht (Lefevre, H. et al 1999)), die mit herkömmlichen Filtern nicht verlässlich unterschritten werden. Indiziert sind bestrahlte Präparate derzeit bei sehr immungeschwächten Patienten, zum Beispiel bei Stammzell- oder Knochenmarktransplantierten, bei Patienten mit angeborenen Immundefektsyndromen, eventuell bei Patienten mit Morbus Hodgkin oder nach Hochdosis-Chemotherapie.

Bestrahlt werden leukozytendepletierte Erythrozytenkonzentrate in PAGGSM-Lösung gemäß zentrumseigenen Vorgaben innerhalb der ersten 10 Tage nach der Gewinnung. Ziel ist die homogene Aufbringung von 30 Gray, die Mindestdosis sollte den Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion der Bundesärztekammer gemäß 25 Gray sein (Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut 2000), wobei gemäß den Leitlinien der Bundesärztekammer zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasma-derivaten 40 Gray nicht überschritten werden sollten (Bundesärztekammer, Vorstand und wissenschaftlicher Beirat 1995). Die Lagerungsdauer nach der Bestrahlung beträgt am Zentrum für Transfusionsmedizin Münster bis zu 7 Tage.

## 2.2 Untersuchungsmethoden

Nach einem Probenziehungsplan wurden im Zentrum für Transfusionsmedizin Münster circa 1% der hergestellten Erythrozytenkonzentrate im Rahmen der Qualitätskontrolle auf bestimmte Lagerungsparameter geprüft.

Die Laborkontrollen erfolgten innerhalb von drei Tagen nach Gewinnung und Herstellung und am Ende der Lagerungszeit nach vier, fünf oder sechs Wochen.

Zu Beginn wurden gemessen:

- Volumen
- Hämatokrit
- pH-Wert
- Leukozyten
- Thrombozyten.

Am Ende wurden gemessen:

- ATP (Adenosintriphosphat)
- Gesamthämoglobin
- Freies Hämoglobin
- Hämolyserate
- pH-Wert
- Kalium (bei bestrahlten Erythrozytenkonzentraten)

Nicht in jedem Jahr standen archivierte Daten zur Verfügung, ergänzend wurden daher Daten aus Haltbarkeitsuntersuchungen, die für das Paul-Ehrlich-Institut erhoben worden waren, herangezogen.

### 2.2.1 Volumen

Das Erythrozytenkonzentrat wird auf geeichten Waagen abgewogen. Das bekannte Beutelgewicht wird abgezogen und das verbliebene Nettogewicht durch das spezifische Gewicht des Erythrozytenkonzentrates geteilt.

Die Berechnungsformel lautet:

$$\text{Volumen (ml)} = \frac{\text{Bruttogewicht (g)} - \text{Beutelgewicht (g)}}{\text{Dichte Erythrozytenkonzentrat (g/ml)}} = \frac{\text{Nettogewicht (g)}}{1,069\text{g/ml}}.$$

### 2.2.2 Hämatokrit

Der Hämatokrit ist der Volumenanteil der Zellen bezogen auf das Volumen der Erythrozytenkonserve.

Gemessen wurde bis zum Jahr 2000 der Mikrohämatokrit nach scharfer Zentrifugation in einer Mikrokapillare mittels Hämatokritzentrifuge (Hämofuge A). Es wurde solange zentrifugiert, bis keine Zellen mehr sedimentierten (30 Minuten).

Seit dem Jahr 2001 wird die Hämatokritbestimmung im automatischen Zellzählgerät durchgeführt (Sysmex). Diese beruht auf der kumulativen Impulshöhensummierung, bei der die entsprechend der Erythrozytengröße verschieden großen Impulse zusammengezählt werden. Die Erythrozyten werden nach dem Widerstandsmessprinzip erfasst, der unterschiedlichen Leitfähigkeit zwischen Zellen und Umgebungslösung, die an einer Kapillare gemessen werden. Das Erythrozytenvolumen wird durch das Gesamtvolumen geteilt. Die Berechnungsformel lautet:

$$\text{Hämatokrit (l/l)} = \frac{\text{Erythrozytenvolumen (l)}}{\text{Erythrozytenkonzentratvolumen (l)}}.$$

### 2.2.3 Gesamthämoglobin

Das Gesamthämoglobin entspricht der absoluten Hämoglobinmenge des Menschen.

Die Bestimmung wurde bis zum Jahr 2000 spektralphotometrisch mit dem HemoCue nach einer modifizierten Cyanmethämoglobin-Methode durchgeführt. Dazu werden die Erythrozyten hämolysiert, das Hämoglobin wird in Cyanhämglobin umgewandelt und bei 546 nm gegen die Transformationslösung als Leerwert gemessen.

Die Berechnungsformel lautet:

$$\text{Gesamthämoglobin (g/E)} = \frac{\text{Gesamthämoglobin (g/l)} \cdot \text{Volumen (ml/E)}}{1000 \text{ ml/l}}$$

E= Einheit= Erythrozytenkonzentrat

Seit dem Jahr 2000 wird Hämoglobin im automatischen Zellzählgerät mittels der Natriumlaurylsulfat-Hämoglobin-Methode gemessen. Dazu wird Licht der Wellenlänge 555 nm verwendet, die Probenextinktion wird von der Leerwertextinktion abgezogen.

### 2.2.4 Freies Hämoglobin

Das freie Hämoglobin oder extrazelluläre Hämoglobin ist das im Plasma vorhandene Hämoglobin.

Es wurde zunächst nach Cripps gemessen. Nach der Zentrifugation erfolgte die Messung im Überstandsplasma mit einer modifizierten 3-Wellenlängemethode nach Harboe (Ablese der Extinktionen bei 560 nm (x), 576 nm (y) und 592 nm (z) gegen eine 0,9% Kochsalzlösung als Leerwert) mit einem Spektralphotometer der Firma Zeiss. Der Hämoglobinwert wurde mit Hilfe einer Eichkurve und der Formel  $2y - (x + z)$  ermittelt.

Seit 1997 wurde die 3-Wellenlängemethode nach Dr. Lange angewendet (Ablese der Extinktionen bei 380 nm, 415 nm und 450 nm).

Seit dem Jahr 2000 wird der Hämoglobinwert im automatischen Zellgerät ermittelt (Sysmex).

Die Maßeinheit ist Milligramm / Liter (mg/l).

### 2.2.5 Hämolyserate

Die Hämolyserate gibt die Relation des aus den Zellen freigesetzten Hämoglobins zum Gesamthämoglobin wieder. Sie wird berechnet aus dem Hämatokritwert, dem Gesamthämoglobin und dem freien Hämoglobin im zellfreien Überstand nach der Berechnungsformel:

$$\text{Hämolyserate (\%)} = \frac{(1 - \text{Hämatokrit(l/l)}) \cdot \text{extrazelluläres Hämoglobin(g/l)}}{\text{Gesamthämoglobin(g/l)}} \cdot 100\% .$$

### 2.2.6 Adenosintriphosphat (ATP)

ATP ist in den Erythrozyten der wichtigste Energielieferant und gilt als Faktor zur Beurteilung des Energiehaushaltes von konservierten Erythrozyten.

Bestimmt wurde ATP enzymatisch mit Testkits, zunächst nach Bücken der Firma Sigma, bzw. Boehringer/ Mannheim. Nach Enteiweißung mittels Trichloressigsäure im Eisbad und Zentrifugation wird bei einer Wellenlänge von 340 nm im Überstand gemessen am Spektralphotometer PM 4 der Firma Zeiss.

Anschließend wird umgerechnet auf die Einheit Mikromol / Liter Erythrozyten ( $\mu\text{mol/l}$ ) nach der Formel:  $\Delta E \cdot 4887,5 / \text{Hämatokrit}$  mit

$$\Delta E = \text{Ausgangsextinktion} - \text{Endextinktion}$$

Seit 1998 wurde ATP mit Testkits der Rolf Greiner BioChemica mittels Hexokinase-Methode bestimmt.

### 2.2.7 Leukozytenkontamination

Nach Erythrozytenzerstörung und Verdünnung mit Essigsäure wurden die Leukozyten bis 1997 in der Neubauer-Zählkammer ausgezählt.

Seit 1998 werden Leukozyten durchflusszytometrisch mittels Halbleiterlaser im elektronischen Partikelzählgerät Sysmex erfasst. Dabei wird die verdünnte Probe in einem schmalen Strom vor die Messkapillare geführt; trifft der Laserstrahl auf eine Zelle, wird er gestreut und das Streulicht von einer Photodiode erfasst.

Bis 1999 wurde die Leukozytenanzahl in  $10^9$  Leukozyten / Erythrozytenkonzentrat angegeben, seit Einführung der Leukozytendepletion im August 2000 in  $10^6$  Leukozyten / Erythrozytenkonzentrat.

Um die absolute Leukozytenzahl pro Erythrozytenkonzentrat zu erhalten, rechnet man den erhaltenen Wert um nach der Formel:

$$\text{Leukozyten (}10^9/\text{E)} = \frac{\text{Leukozyten (}10^9/\text{l)} \cdot \text{Volumen (ml/E)}}{1000 \text{ (ml/l)}}.$$

### 2.2.8 Extrazelluläres Kalium

Kalium wird flammenphotometrisch nach Zentrifugation im zellfreien Überstand mit dem Flammenphotometer Efix 5050 gemessen. Verwendet werden Reagenzien der Firma Eppendorf. Die Messsubstanz wird stark verdünnt, in gelöster Form und fein verteilt in eine nicht leuchtende Flamme gebracht. Das durch Anregung der einzelnen Atome zustande kommende Aufleuchten wird in der Photodiode erfasst und in ein elektrisches Signal umgewandelt.

Die Maßeinheit ist Millimol / Liter (mmol/l)

### 2.2.9 pH-Wert

Der pH-Wert ist ein Maß für die Wasserstoffionenkonzentration und somit ein Maß der Azidose. Er entspricht dem negativen dekadischen Logarithmus der molaren Wasserstoffionenkonzentration. Er wird üblicherweise nach der Zentrifugation im Überstand gemessen, entspricht somit nicht dem intrazellulären, sondern dem extrazellulären pH-Wert. Der intraerythrozytäre pH-Wert ist nur aufwändig und mit methodischen Fehlern behaftet zu bestimmen, daher für die Routine ungeeignet. Obwohl keine enge Wechselbeziehung zwischen dem extra- und dem intrazellulären pH-Wert besteht, eignet sich der extrazelluläre pH als Messparameter, da in der Literatur normalerweise hierauf zurückgegriffen wird.

Gemessen wird potentiometrisch mit einer kombinierten Glas-/Silberelektrode in einem pH-Meter (Typ PHM 26 der Firma Radiometer) im Plasmaüberstand.

### 2.2.10 Thrombozytenkontamination

Thrombozyten wurden bis 1997 nach Probenverdünnung in der Neubauer-Zählkammer ausgezählt, seit 1998 mit dem Zählgerät Sysmex nach dem Widerstandsmessprinzip erfasst, welches die Änderung der elektrischen Leitfähigkeit misst. Die stark verdünnte Lösung wird durch eine kleine Öffnung (Kapillare) geleitet, an der über 2 Elektroden ein konstanter Strom fließt. Der elektrische Widerstand der Zellen ist größer als der der Lösung, sie erzeugen einen größeren Impuls. Die Spannungsänderungen werden aufgezeichnet und verstärkt.

Nach der Berechnungsformel

$$\text{Thrombozyten (10}^9\text{/E)} = \frac{\text{Thrombozyten (10}^9\text{/l)} \cdot \text{Volumen (ml/E)}}{1000 \text{ (ml/l)}}$$

ergibt sich die Thrombozytenmenge eines Erythrozytenkonzentrats.

## 2.3 Datenerfassung und Auswertung

Entsprechend der technischen Entwicklung am Zentrum für Transfusionsmedizin Münster sind die für die Qualitätskontrolle erhobenen Messwerte der Jahre 1985-2004 zunächst handschriftlich auf Formblättern, in neuerer Zeit auch in maschinenlesbarer Form, dokumentiert. Aus dieser vorhandenen Datenmenge wurde aus jedem Jahr im gleichen Zeitraum (Juli bis August, seit dem Jahr 2000 aufgrund der größeren Datenmenge nur aus August) eine Stichprobe von 50-60 aufeinanderfolgenden Datensätzen gezogen und mit dem Tabellenkalkulationsprogramm MS-Excel 97 (Microsoft Corporation, USA) erfasst. Die Auswertung erfolgte über die Statistik- und Grafikfunktionen des EDV-Programms.

Da nicht in jedem Jahr alle in dieser Arbeit untersuchten Daten zur Verfügung standen, wurden ergänzend Kontrolldaten aus Untersuchungsreihen hinzugezogen, die für das Paul-Ehrlich-Institut zu Haltbarkeitsuntersuchungen für die Arzneimittelzulassung durchgeführt worden waren. Dies wurde im Text vermerkt. Einige Parameter konnten dennoch nicht vollständig chronologisch dargestellt werden.

Ergänzend wurde die statistische Signifikanz überprüft.

Mittels Zweistichproben-T-Test wurde beurteilt, ob die Mittelwerte von Jahr zu Jahr als gleichwertig betrachtet werden können, also einer Grundgesamtheit angehören.

Der Zweistichproben-F-Test wurde verwendet, um die Verteilung der Standardabweichungen von Jahr zu Jahr miteinander zu vergleichen.

Es wurden Zweistichprobentests bei unbekannter Varianz (Streuungsmaß) ausgewählt, die jedoch unterstellen, dass die Varianzen einer Probe gleich sind (Bronstein, I. N., Semendjajew, K. A., 1983). Die idealer Weise geforderte annähernde Normalverteilung der Grundgesamtheit trifft bei Blutwerten jedoch nicht so ganz zu, wie in den Abbildungen 1 bis 11 erkennbar ist.

Für die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde 1% gewählt, das heißt, mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von 1% wird im statistischen Test eine zutreffende Annahme, dass 2 miteinander verglichene Stichproben aus einer Grundgesamtheit entstammen, als falsch abgelehnt.

### 3 Ergebnisse

Die beträchtliche Variabilität des biologischen Rohstoffs Blut zeigt sich auch im Endprodukt. Daher wurde eine Darstellungsweise gewählt, bei der jeder dargestellte Punkt einen Messwert repräsentiert. Dabei können mehrere Punkte übereinander liegen. Der Mittelwert pro Datensatz wurde als grüner Balken vermerkt.

Auf die numerische Berechnung der Streuung wurde verzichtet, da diese wegen der quadratischen Gewichtung der Mittelwertdifferenz von Ausreißern stark beeinflusst wird, eine Beseitigung der Ausreißer aber eine Manipulation der Messdaten darstellt. Diese Werte wurden im Datensatz belassen. Auf die Größe des berechneten Mittelwertes haben diese Ausreißer nur einen geringen Einfluss, da jeder Einzelwert bei 50 Werten nur zu 1/50 in die Mittelwertberechnung einfließt.

Die in den unterschiedlichen Zeiträumen hergestellten Erythrozytenpräparate wurden vermerkt.

In der Beschreibung wurden Mittelwerte von jeweils zusammenpassenden Gruppen gebildet, bei der Beschreibung der Schwankungsbreiten wurden einzelne „Ausreißer“ nicht herangezogen.

Daten von 2001-2004 für bestrahlte Erythrozytenkonzentrate wurden ebenfalls ausgewertet, und zwar jeweils für das gesamte Jahr (circa 60-70 Proben). Die zu Beginn der Lagerung erhobenen Parameter unterscheiden sich nicht von denen der leukozyten-depletierten Präparate, da sie aus dem gleichen Ausgangsmaterial gewonnen werden. Sie werden daher nicht extra dargestellt.

### 3.1 Erythrozytenvolumen

Das Volumen eines Erythrozytenkonzentrates setzt sich zusammen aus der Erythrozytenmenge und der Menge an Additivlösung, sowie einer geringen Menge an Plasma und Stabilisatorlösung. Die Erythrozytenmenge wiederum wird bestimmt von der entnommenen Vollblutmenge und deren Hämatokrit.

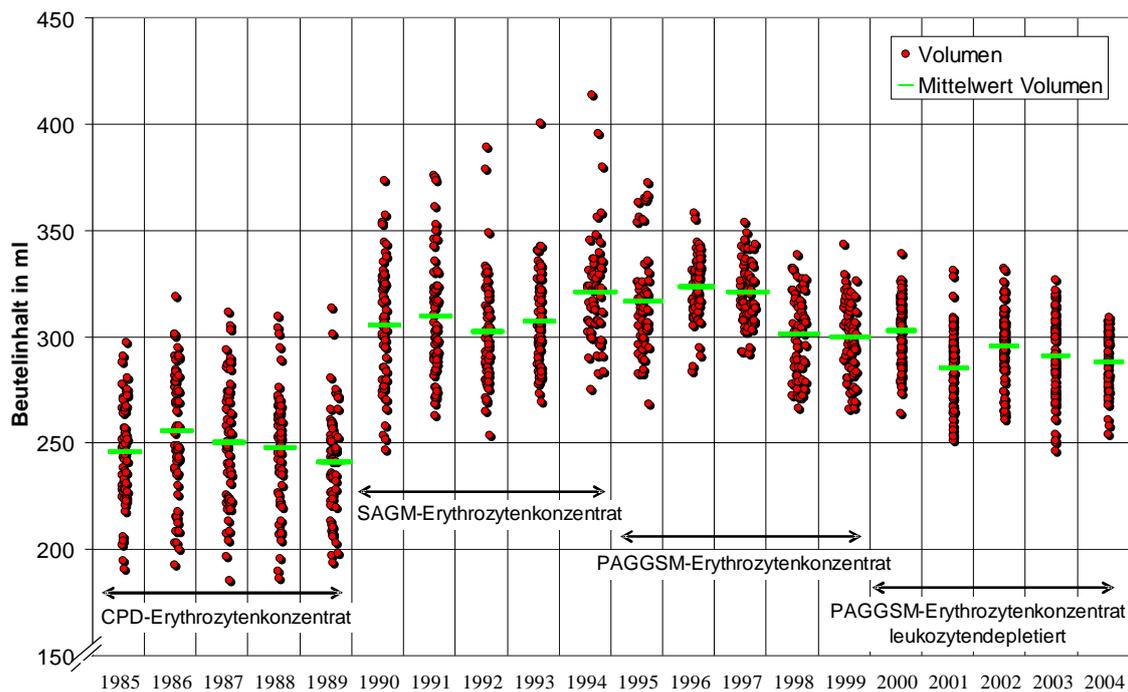


Abb. 1: Füllinhalt der Erythrozytenkonzentrate in ml von 1985-2004

Statistisch signifikante Veränderungen des Volumens traten in dem dargestellten Zeitraum mehrmals auf.

Von 1985-1989 wurden Erythrozytenkonzentrate in CPD-Plasma-Gemisch hergestellt mit einem Volumen überwiegend zwischen 200-300 ml und einem Volumenmittelwert um die 250 ml.

Die Zugabe einer größeren Menge an Additivlösung ab 1990 führt zu einem statistisch signifikanten Anstieg des Füllgrades auf 250-350 ml mit im Mittel circa 300 ml der Erythrozytenkonzentrate in SAGM-Lösung.

Im Zeitraum 1994-1997 zeigt sich nochmals ein statistisch signifikanter Anstieg der Füllmenge auf circa 280-370 ml (Mittelwert circa 320 ml) pro Beutel, in dieser Zeit

wurde die Vollblutentnahmemenge nach oben korrigiert (statt 500 g wurde den Spendern 500 ml Vollblut entsprechend 528 g entnommen).

Nach Entfernen einer größeren Schicht Buffy Coat seit 1998 liegt die Füllmenge der Erythrozytenkonzentrate in PAGGSM-Lösung bei 260-340 ml, im Mittel bei 300 ml, diese Änderung ist ebenfalls statistisch signifikant.

Durch Leukozytenfiltration gehen weitere 10-15 ml verloren, die Füllmenge liegt zwischen 250-330 ml, im Mittel bei 290 ml. Statistisch signifikant tritt diese Änderung ab 2001 auf. Im Jahr 2000 wurden vorübergehend andere Beutel (Firma Maco Pharma) verwendet, trotz Leukozytenfiltration ist eine Volumenreduktion hier nicht erkennbar. Das Volumen reicht von 240-340 ml mit einem Mittelwert von 300 ml.

Im Zweistichproben-T-Test taucht eine statistisch signifikante Änderung zwischen 2001 und 2002 auf, die durch Änderungen des Herstellungsprozesses nicht erklärt werden kann.

Die erhobenen Daten der bestrahlten (und leukozytendepletierten) Erythrozytenkonzentrate liegen ebenfalls zwischen 250-330 ml mit einem Mittelwert von 290 ml und wurden daher nicht extra dargestellt.

Augenfällig ist eine Verringerung der Messwertstreuung. Die Schwankungsbreite, also die Differenz zwischen dem größten und dem kleinsten beobachteten Messwert, nimmt sichtbar ab mit Einführung der Erythrozytenkonzentrate in PAGGSM-Lösung. Die Überprüfung im Zweistichproben-F-Test ergibt eine statistische Signifikanz für die Abnahme der Streuung zwischen 1995 und 1996. Eine statistisch signifikante Abnahme der Streuung zwischen 2003 und 2004 kann durch Änderungen im Herstellungsprozess nicht nachvollzogen werden.

Auffallend ist weiter eine Reihe von „Ausreißern“ in den oberen Bereichen, insbesondere in den Jahren 1990-1994.

## 3.2 Hämatokrit

Der Hämatokrit eines Erythrozytenkonzentrates setzt sich zusammen aus der gewonnenen Erythrozytenmenge und der resuspendierten Nährlösung.

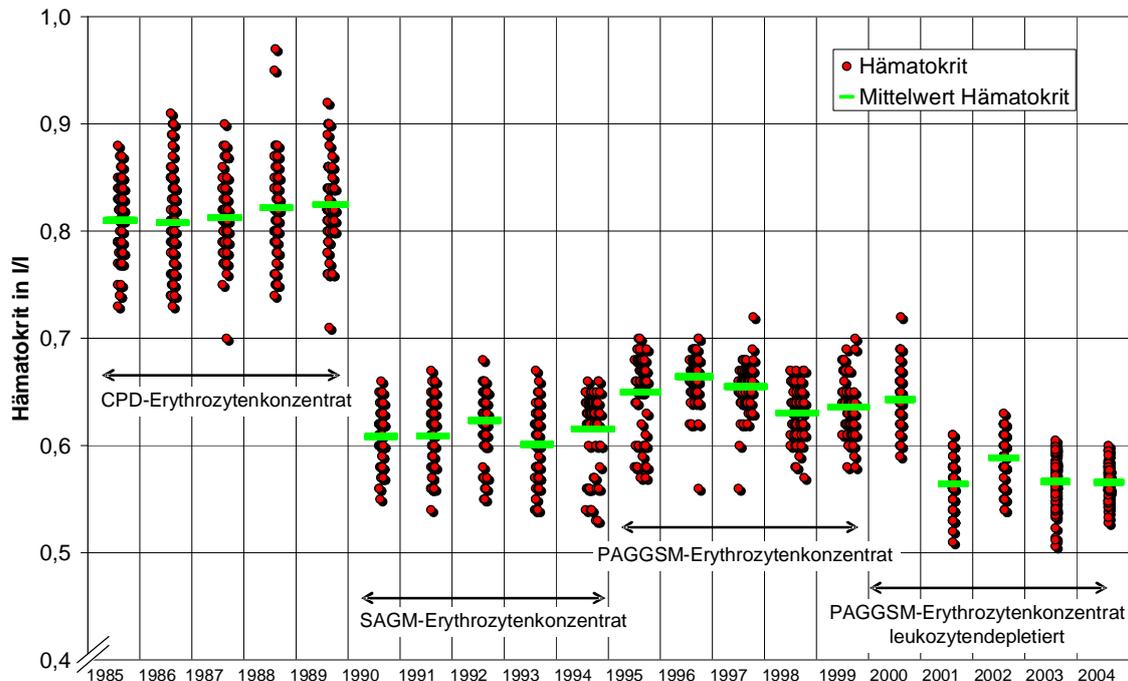


Abb. 2: Hämatokrit der Erythrozytenkonzentrate in l/l von 1985-2004

Die im Folgenden beschriebenen Änderungen des Hämatokrits erwiesen sich im Zweistichproben-T-Test als signifikant.

Die Erythrozytenkonzentrate in CPD-Plasma-Lösung weisen Hämatokritmittelwerte bei 0,82 l/l auf, die Schwankungsbreite liegt überwiegend zwischen 0,73-0,9 l/l.

Erythrozytenkonzentrate in SAGM-Lösung haben Hämatokritmittelwerte bei 0,62 l/l mit einer Schwankungsbreite zwischen 0,55-0,67 l/l.

Bei Erythrozytenkonzentraten in PAGGSM-Lösung liegt der Hämatokrit nach dem Entfernen einer größeren Buffy Coat-Menge ab 1998 zwischen 0,58-0,7 l/l mit Mittelwerten bei 0,63 l/l.

Seit der Einführung der Leukozytenfilter und der Impedanzmessung des Hämatokrits fallen die Hämatokritmittelwerte sprunghaft ab auf Werte zwischen 0,51-0,61 l/l, der Mittelwert beträgt 0,57 l/l. Statistisch signifikant zeigt sich dies zwischen 2000 und

2001. Im Jahr 2000 wurden vorübergehend andere Beutel verwendet, die Hämatokritwerte weichen in dieser Zeit von dem der leukozytendepletierten Erythrozytenkonzentrate ab. Sie liegen zwischen 0,58-0,68 l/l mit einem Mittelwert von 0,65 l/l.

Der Hämatokrit der bestrahlten (und leukozytendepletierten) Erythrozytenkonzentrate unterschied sich hiervon nicht wesentlich, die Daten wurden daher nicht gesondert abgebildet. Der Mittelwert betrug 0,56 l/l bei einem Hämatokritbereich von 0,5-0,61 l/l.

Statistisch signifikante Abnahmen der Streuung bestehen laut Zweistichproben-F-Test zwischen den Jahren 1989 und 1990, also nach Einführung der Additivlösungen, sowie (durch dokumentierte Änderungen des Herstellungsprozesses nicht zu erklären), zwischen 1995 und 1996 und zwischen 2003 und 2004.

### 3.3 Gesamthämoglobin

Das Gesamthämoglobin repräsentiert die therapeutische Dosis. Es hängt von der Entnahmemenge und ihrem physiologischen Hämoglobingehalt ab, sowie von der Präparationsmethode.

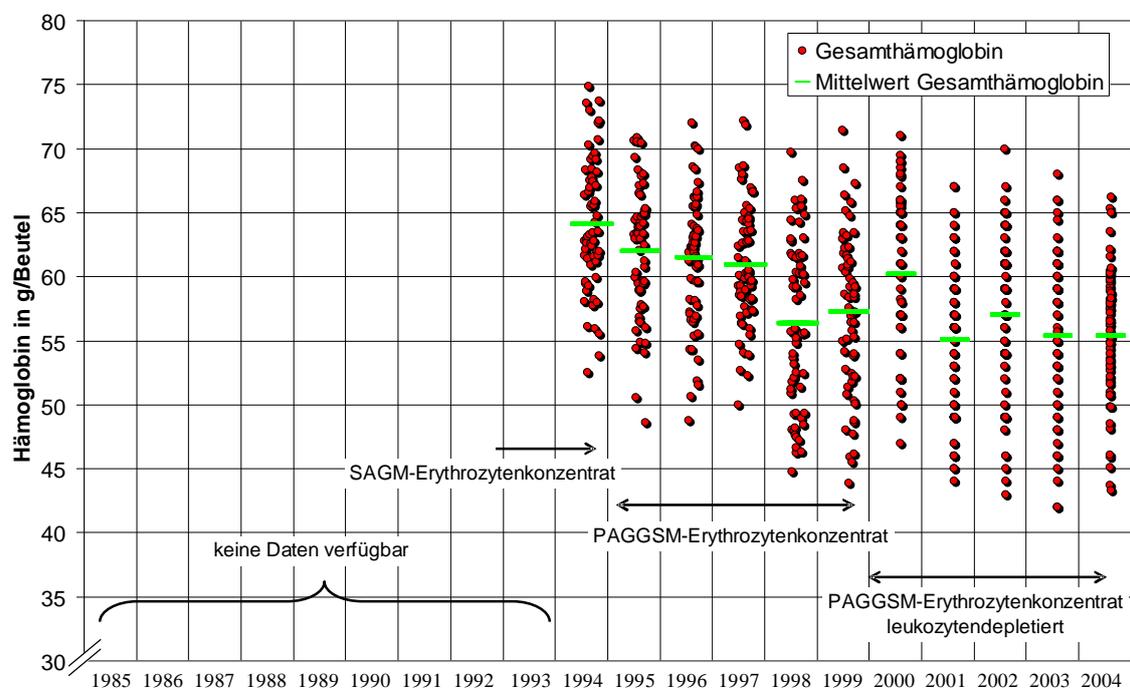


Abb. 3: Gesamthämoglobin der Erythrozytenkonzentrate in g/Einheit von 1994-2004

Daten waren erst seit 1994 verfügbar.

Bei Betrachtung der Mittelwerte fällt eine Abnahme des Gesamthämoglobins über die Jahre ins Auge.

Die für Erythrozytenkonzentrate in SAGM-Lösung vorliegenden Daten zeigen einen mittleren Gesamthämoglobingehalt von 64 g mit Schwankungen zwischen 55-75 g.

Die Abnahme des Gesamthämoglobins von Erythrozytenkonzentraten in SAGM-Lösung zu Erythrozytenkonzentraten in PAGGSM-Lösung wird im T-Test als nicht signifikant eingestuft.

Statistisch signifikant ist dagegen die Abnahme der Hämoglobinwerte nach Entfernen einer größeren Menge Buffy Coat ab 1998. Danach liegen die Hämoglobinwerte in einem Bereich zwischen 45-68 g mit im Mittel 57 g pro Präparat.

Die Einführung der Leukozytendepletion bedeutet einen allenfalls sehr kleinen Hämoglobinverlust, der statistisch im T-Test nicht signifikant ist. Der Mittelwert des Gesamthämoglobins liegt bei 55 g mit Abweichungen zwischen 43-67 g pro Beutel.

Statistisch signifikant abweichend wiederum sind die Werte im Jahr 2000, bedingt durch Verwendung anderer Beutel. Das Gesamthämoglobin beträgt im Mittel 60 g pro Präparat, die Streuungen liegen zwischen 47-70 g pro Beutel.

Das Gesamthämoglobin für die bestrahlten (und leukozytendepletierten) Erythrozytenkonzentrate liegt im Mittel bei 55 g mit Abweichungen zwischen 42-68 g. Die Daten wurden nicht extra dargestellt.

Der F-Test erkennt eine statistisch signifikante Zunahme der Streuung zwischen 1997 und 1998, nachdem eine größere Buffy Coat-Menge entfernt wird.

Auffallend ist die große Schwankungsbreite zwischen den niedrigen und den hohen Gesamthämoglobinmengen. Erythrozytenkonzentrate mit hohem Gesamthämoglobin enthalten bis zu ein Drittel mehr Hämoglobin als Erythrozytenkonzentrate mit niedrigem Gesamthämoglobingehalt.

### 3.4 freies Hämoglobin und Hämolyserate

Das freie Hämoglobin ist abhängig vom Gesamthämoglobingehalt der Erythrozyten und dessen Freisetzung in das Plasma.

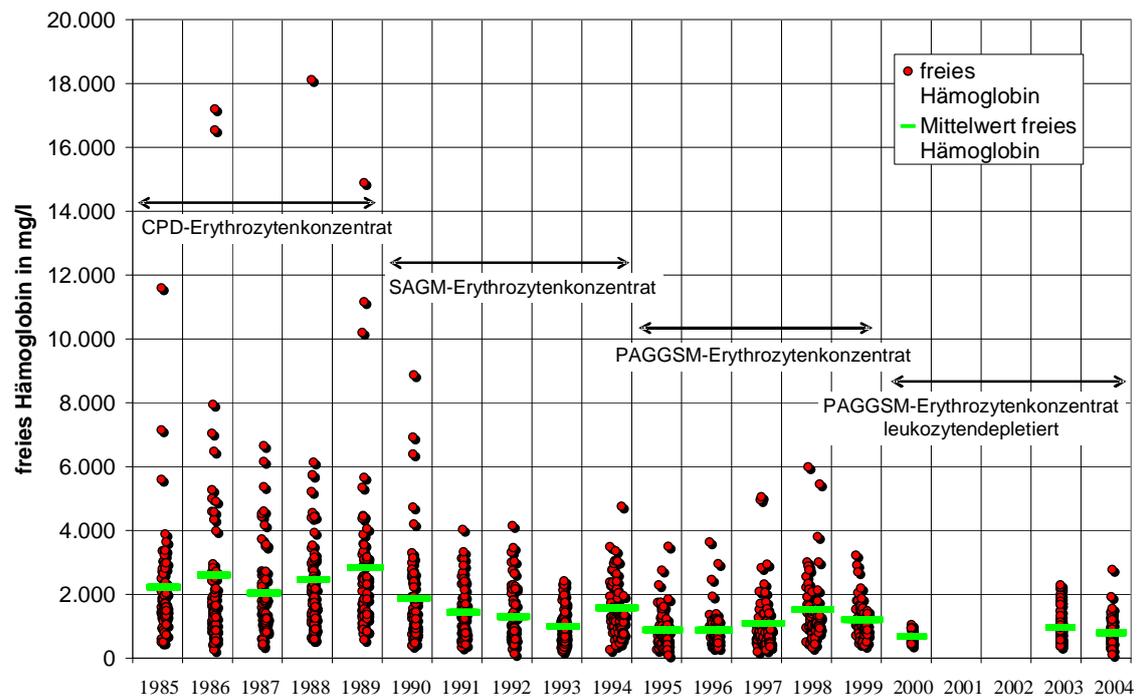


Abb. 4: freies Hämoglobin der Erythrozytenkonzentrate in mg/l Erythrozytenkonzentrat von 1985-2004

Bei Betrachtung der Mittelwerte fällt eine Abnahme des freien Hämoglobins über die Jahre auf, die aber überwiegend auf einer mangelnden Vergleichbarkeit der Präparate in Bezug auf diesen Parameter beruht. Die in den Jahren 1990/1991 auftretende Halbierung des Hämoglobins beruht auf einem Verdünnungseffekt. Das freie Hämoglobin wird im Überstand gemessen, der sich mit der Zugabe von Additivlösung etwa verdoppelt hat.

Für Erythrozytenkonzentrate in CPD-Plasma-Lösung liegt der Mittelwert des freien Hämoglobins nach 4 Wochen bei 2600 mg/l, für Erythrozytenkonzentrate in SAGM-Lösung nach 5 Wochen bei 1300 mg/l und für Erythrozytenkonzentrate in PAGGSM-Lösung nach 6 Wochen bei 1000 mg/l. Für leukozytendepletierte Präparate liegt das mittlere Hämoglobin bei 800 mg/l, ebenfalls nach 6 Wochen.

Statistisch signifikant im T-Test sind die Änderungen zwischen 1989 und 1990, also nach Einführung der Additivlösung. Die freien Hämoglobinwerte der Jahre 1994 und 2000 fallen statistisch signifikant aus den sie umgebenden Werten heraus. Für 1994 gibt es keine Erklärung, die Daten für 2000 sind nur eingeschränkt interpretierbar, da sie nur aus 18 Daten bestehen. (Von 2000 bis 2002 war die Hämolyserate archiviert, aber nicht das freie Hämoglobin. Für das Jahr 2000 wurden Daten aus Haltbarkeitsuntersuchungen hinzugezogen.)

Die Messwerte für die bestrahlten Erythrozytenkonzentrate wurden bereits 3-10 Tage nach der Blutgewinnung erhoben und weisen demzufolge niedrige Hämoglobinwerte mit im Mittel 200 mg/l auf (100-300 mg/l). Sie sind nicht extra dargestellt.

Auffallend sind einzelne hohe extrazelluläre Hämoglobinwerte der Erythrozytenkonzentrate in CPD-Plasma-Lösung, die das Doppelte bis Neunfache des Mittelwertes erreichen können. Solche „Ausreißer“ führen dazu, dass im F-Test keine signifikanten Änderungen der Streuung nachweisbar sind. Die Voraussetzung der Normalverteilung ist hierdurch nicht ausreichend gegeben, der F-Test aber ist empfindlich auf Abweichungen von Normalverteilungen.

Bei Erythrozytenkonzentraten in SAGM- und PAGGSM-Lösung liegen die freien Hämoglobinwerte fast immer unterhalb von 4000 mg/l, von wenigen „Ausreißern“ abgesehen. Die niedrigsten Werte liegen zwischen 100-500 mg/l, mit einer leichten Abnahme im Laufe der Jahre.

Die vorliegenden Hämoglobinwerte für leukozytendepletierte Erythrozytenkonzentrate zeigen eine Abnahme auf überwiegend unter 2000 mg/l.

Die Hämolyserate kann erst seit 1994 berechnet werden, da erst seit dieser Zeit die zur Berechnung benötigten Gesamthämoglobinwerte zur Verfügung stehen.

Die auf der folgenden Seite dargestellten Hämolysraten zeigen für Erythrozytenkonzentrate in SAGM-Lösung einen Mittelwert von 0,3%, für Erythrozytenkonzentrate in PAGGSM-Lösung und leukozytendepletierte Erythrozytenkonzentrate vorwiegend um 0,2%.

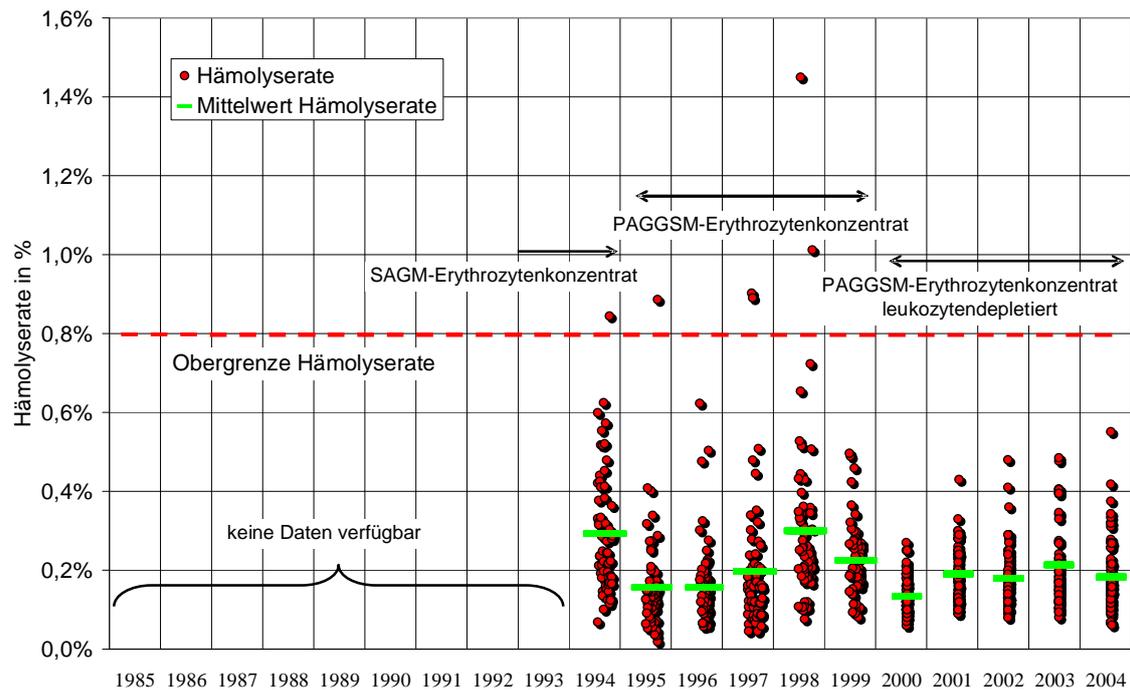


Abb. 5: Hämolyserate der Erythrozytenkonzentrate in % von 1994-2004

Statistisch signifikant sind die Änderungen zwischen den Jahren 1994 und 1995, also nach dem Wechsel von SAGM- zu PAGGSM-Lösung, und zwischen 1997 und 1998. Eine Erklärung für die augenscheinlich schlechteren Werte 1998 fand sich nicht.

Wieder statistisch heraus fallen die Werte des Jahres 2000, zurückzuführen auf die Verwendung anderer Beutelsysteme.

Nicht dargestellt sind die Hämolyseraten der bestrahlten Erythrozytenkonzentrate. Sie liegen nach 3-10 Tagen im Mittel bei 0,04% (0,02-0,12%).

Als rote Linie markiert ist die in den Richtlinien der Bundesärztekammer zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion vorgegebene maximale Hämolyserate von 0,8% (Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut). Bis 1998 liegen vereinzelt Werte darüber, seit dem Jahr 2000 gibt es nur noch einzelne Werte über 0,4%.

Der F-Test weist statistische Änderungen der Streuung nach zwischen den Jahren 1996 und 1997, sowie zwischen 1998, 1999, 2000 und 2001. Aufgrund einzelner „Ausreißer“ besteht hier wiederum das Problem, dass die vorausgesetzte Normalverteilung nicht gegeben ist.

### 3.5 Adenosintriphosphat (ATP)

ATP ist als intraerythrozytärer Energieträger abhängig von der Erythrozytenmenge.

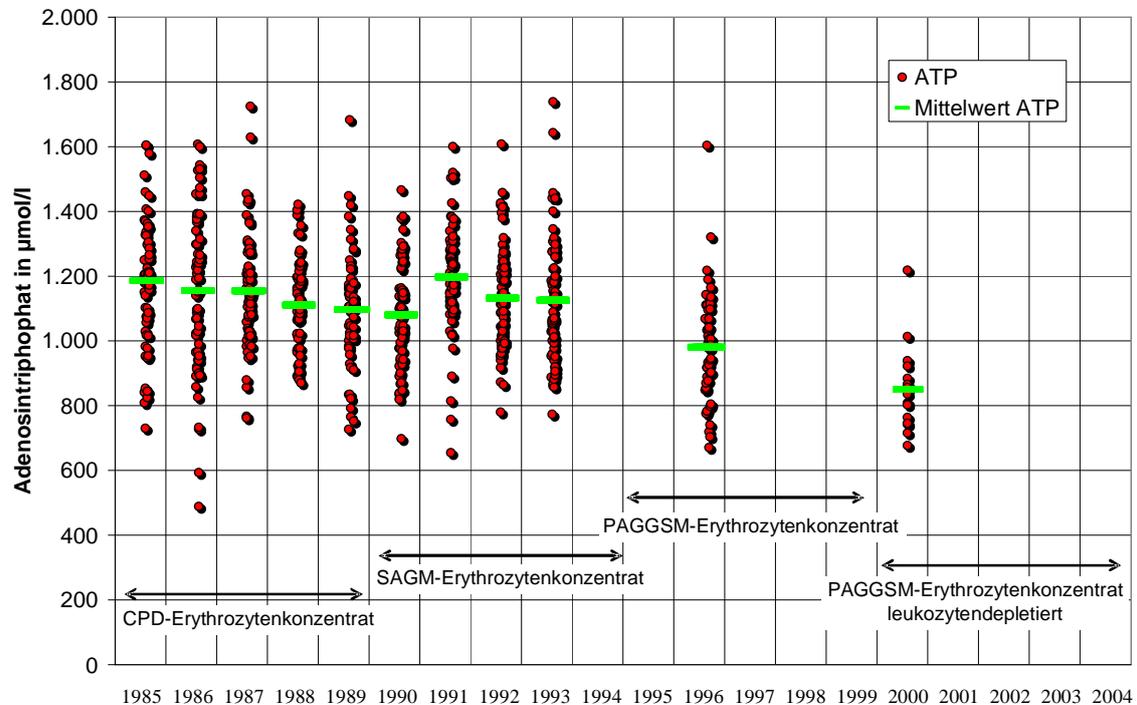


Abb. 6: Adenosintriphosphat der Erythrozytenkonzentrate in  $\mu\text{mol/l}$  von 1985-2000

ATP-Werte wurden im Rahmen der Qualitätskontrolle nur bis 1993 gemessen, für 1996 (48 Proben) und 2000 (18 Proben) wurden daher Daten aus Haltbarkeitsuntersuchungen für das Paul-Ehrlich-Institut hinzugezogen.

Nach 4 Wochen Lagerung unterscheiden sich die ATP-Werte von Erythrozytenkonzentraten in CPD-Plasma-Lösung nicht statistisch signifikant von Erythrozytenkonzentraten in SAGM-Lösung nach 5 Wochen und liegen in weitgestreuten Bereichen überwiegend zwischen  $700\text{-}1600\ \mu\text{mol/l}$ . Im T-Test als statistisch signifikant gilt allenfalls die Änderung zwischen 1990 und 1991, die wohl auf einen höheren Mittelwert im Jahr 1991 zurückzuführen ist.

Nach 6 Wochen Lagerung in PAGGSM-Lösung liegen die ATP-Werte der Erythrozytenkonzentrate etwas niedriger, überwiegend zwischen  $650\text{-}1200\ \mu\text{mol/l}$ , ebenso bei den leukozytendepletierten Erythrozytenkonzentraten. Die vorliegenden Mittelwerte

dieser beiden Gruppen sind jeweils statistisch signifikant erniedrigt im Vergleich zur Vorgruppe.

Die ATP-Werte der bestrahlten Erythrozytenkonzentrate liegen nach der kurzen Lagerung von 3-10 Tagen ungefähr zwischen 1000-1300  $\mu\text{mol/l}$ . Sie sind nicht extra dargestellt.

Im F-Test wird eine statistisch signifikante Minderung der Streuung bei den leukozyten-depletierten Erythrozytenkonzentraten erkannt, hier standen jedoch nur 18 Proben zur Verfügung.

### 3.6 Leukozytenkontamination

Die physiologischen Leukozytenwerte liegen zwischen 4-10 Milliarden pro Liter Blut (Bodemann, H. H. et al 1988), somit enthält eine Vollblutkonserve zwischen 2-5 Milliarden Leukozyten. Durch Zentrifugation mit Anreicherung im Buffy Coat soll diese Menge reduziert werden.

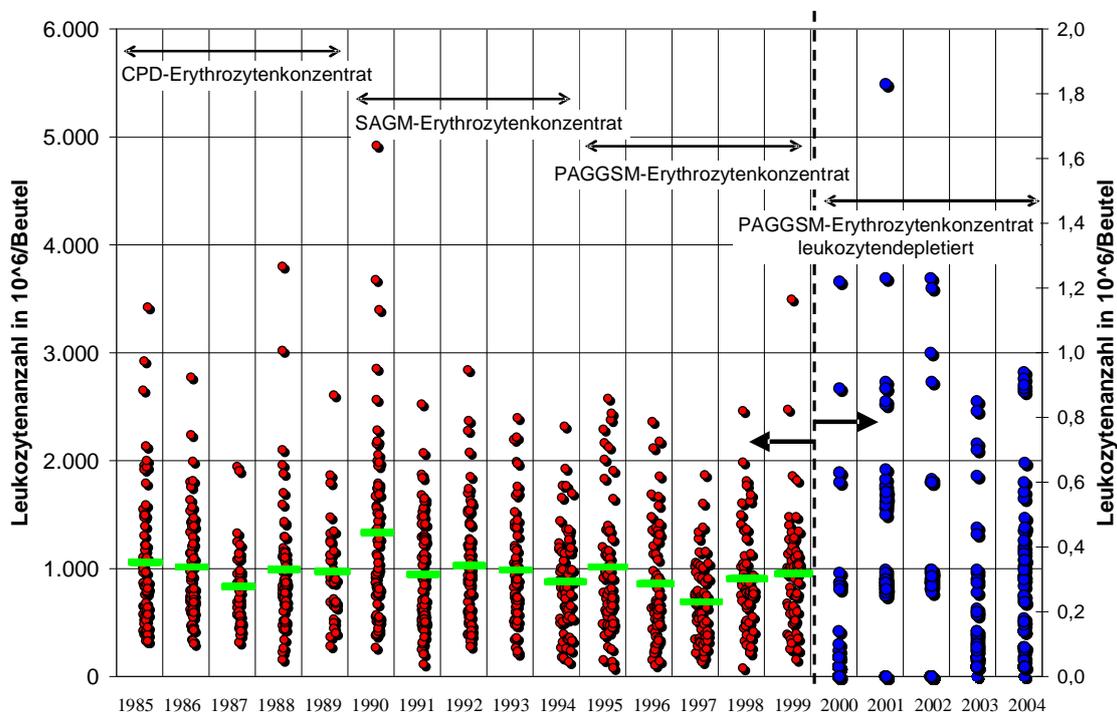


Abb. 7: Anzahl der Leukozyten pro Erythrozytenpräparat von 1985-2004

Auf der rechten Seite ist eine veränderte Skaleneinheit gewählt nach Einführung der Leukozytendepletion!

Bei Betrachtung der Mittelwerte sind bis 1999 keine wesentlichen Unterschiede über die Jahre erkennbar. Sie liegen etwa bei 1 Milliarde Leukozyten pro Präparat.

Auffallend sind große Schwankungsbreiten. Sie reichen von 0,3-3 Milliarden Leukozyten pro Präparat, wenn man einige „Ausreißer“ nicht berücksichtigt. Eine Senkung der Leukozyten gelingt im Laufe der Jahre allenfalls bei den hohen Werten. Die Entfernung der Leukozyten unterliegt großen Schwankungen, wenn man die starke Streuung im Endprodukt betrachtet. Die Leukozytenzahl im einzelnen Ausgangsprodukt ist nicht bekannt, aber niedrige Leukozytenwerte zeigen eine Leukozytenabscheidung auf ungefähr ein Zehntel, auch wenn niedrige Leukozytenzahlen im Ausgangsprodukt angenommen werden. Hohe Leukozytenwerte im Endprodukt kommen durch eine nur geringfügige Leukozytenabscheidung zustande.

Im T-Test statistisch signifikant erhöht ist der Mittelwert im Jahr 1990, eine Erklärung dafür gibt es nicht. Selbstverständlich ist die Leukozytenreduktion nach Einführung der Inline-Filtration statistisch signifikant.

Mit Einführung der generellen Leukozytenfiltration im Jahr 2000 gelingt eine Senkung der Leukozyten auf mehr als das Tausendfache. Nur noch einzelne „Ausreißer“ liegen oberhalb von 1 Million Leukozyten pro Erythrozytenpräparat. Dies ließe sich in der Abbildung nur logarithmisch darstellen, daher wurde eine andere Skaleneinheit gewählt.

Bedingt durch das Problem der „Ausreißer“, zeigt sich im F-Test in fast jedem Jahr statistische Signifikanz, die aber nicht relevant ist.

Die Leukozytenzahlen der bestrahlten (und leukozytengefilterten) Erythrozytenkonzentrate liegen ebenfalls unter 1 Million pro Präparat und wurden daher nicht extra dargestellt.

### 3.7 extrazelluläres Kalium

Kalium ist ein Qualitätsparameter für bestrahlte Erythrozytenkonzentrate.

Vergleichende Daten wurden aus Haltbarkeitsuntersuchungen herangezogen für Erythrozytenkonzentrate in PAGGSM-Lösung (48 Proben) und für leukozytendepletierte Erythrozytenkonzentrate (18 Proben).

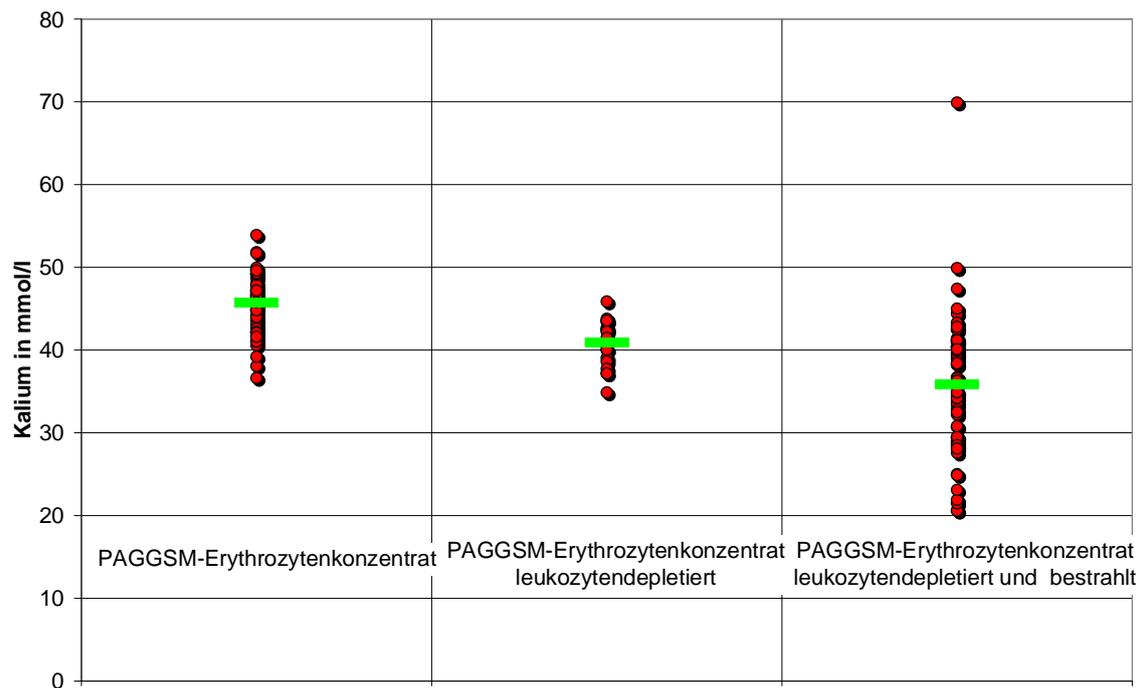


Abb. 8: extrazelluläres Kalium der Erythrozytenkonzentrate in mmol/l Erythrozytenkonzentrat

Hier nicht dargestellt, liegen zu Beginn der Lagerung die Kaliumwerte zwischen 4-6 mmol/l.

Am Ende der Lagerungszeit liegen die Kaliumwerte nach 6 Wochen bei Erythrozytenkonzentraten in PAGGSM-Lösung im Mittel bei 46 mmol/l, bei leukozytendepletierten Erythrozytenkonzentraten bei 41 mmol/l und bei bestrahlten Erythrozytenkonzentraten, gemessen nach 3-10 Tagen, bei 36 mmol/l. In allen Präparaten liegen die Werte in Bereichen zwischen 20-55 mmol/l, selten wurden Kaliumwerte oberhalb von 50 mmol/l gemessen.

Die Unterschiede sind sowohl im T-Test, als auch im F-Test signifikant.

### 3.8 pH-Wert nach Herstellung und am Ende der Lagerungszeit

Der physiologische pH-Wert von Blut ist leicht basisch und liegt zwischen 7,35-7,45 (Müller-Plathe, O. 1988). Bei der Herstellung eines Erythrozytenkonzentrates werden zweimal größere Mengen Wasserstoffionen, mit dem Stabilisator und der Additivlösung, zugeführt.

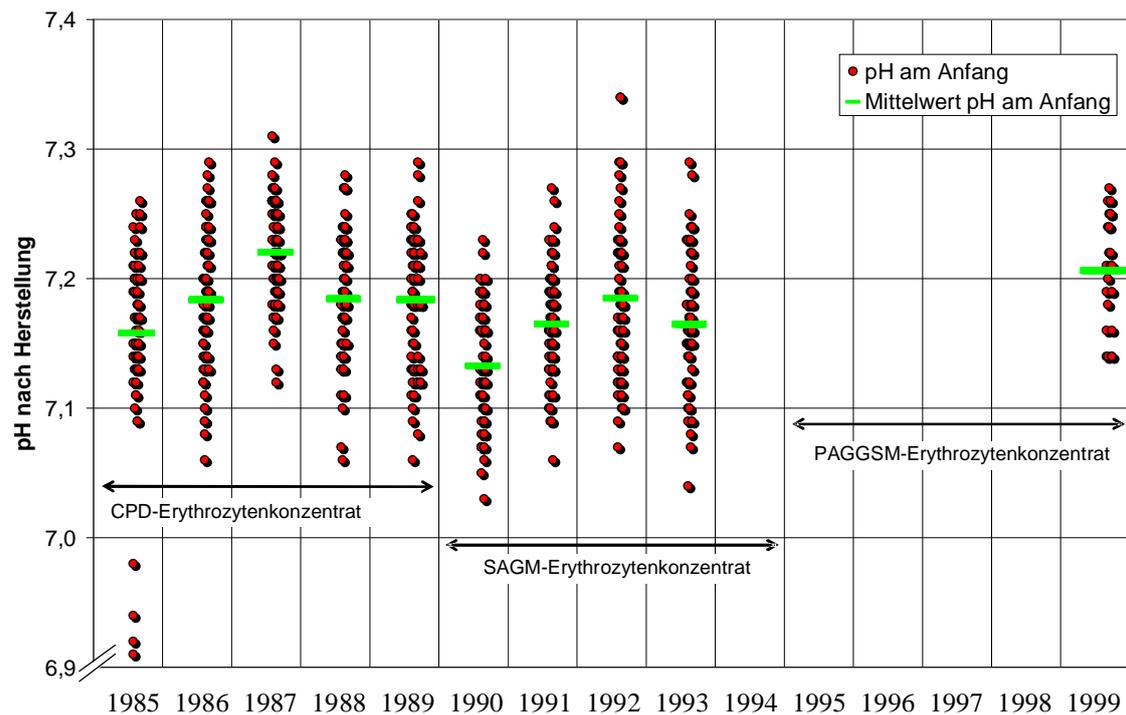


Abb. 9: pH-Werte der Erythrozytenkonzentrate von 1985-1999 nach Herstellung

Seit 1994 wurden keine pH-Werte mehr zu Beginn der Lagerung für die Qualitätskontrolle erhoben, für 1999 wurden 24 Daten aus Haltbarkeitsuntersuchungen für das Paul-Ehrlich-Institut eingefügt.

Direkt nach der Herstellung liegt der mittlere pH in allen Erythrozytenkonzentraten noch im leicht basischen Bereich bei 7,175. Bei Betrachtung der Einzelwerte liegen die pH-Werte zwischen 7,05-7,3. Diese Schwankungen ergeben sich aus der unterschiedlichen Menge von Erythrozytenvolumen und Plasma und aus der einsetzenden Pufferung. Insgesamt spiegeln sie aber die Spannweite des physiologischen engen pH-Bereichs wieder.

Statistisch signifikant erhöht oder erniedrigt, aber nicht herstellungsbedingt erklärbar, sind die pH-Werte der Jahre 1987 und 1990. Der mittlere pH-Wert des Erythrozytenkonzentrates in PAGGSM-Lösung gilt ebenfalls als statistisch signifikant erhöht.

Im F-Test gilt die Minderung der Streuung 1987 als statistisch signifikant, nicht jedoch die Minderung der Streuung der Erythrozytenkonzentrate in PAGGSM-Lösung, was auch an der verminderten Datenmenge liegen kann.

1985 wurde 4 mal hintereinander nach Herstellung ein pH unter 7 gemessen, dabei handelt es sich wahrscheinlich um Messfehler.

Nicht dargestellt sind die pH-Werte von 18 Proben aus Haltbarkeitsuntersuchungen von bestrahlten (und leukozytendepletierten) Erythrozytenkonzentraten. Sie liegen zwischen 7,15-7,25.

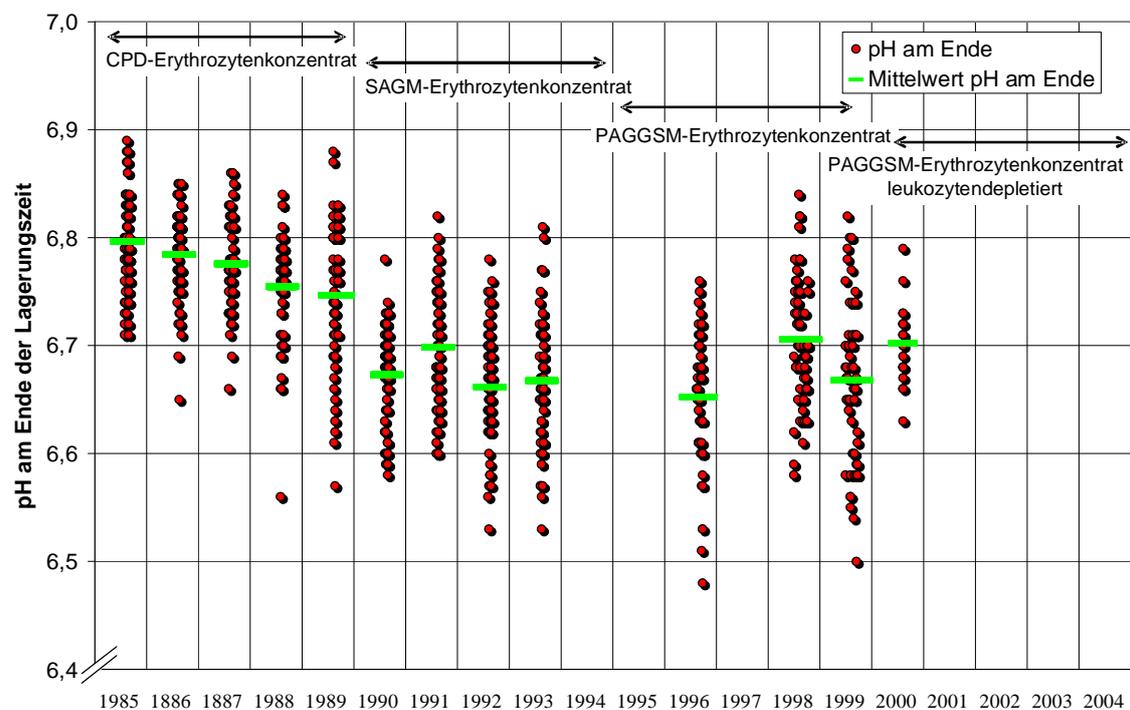


Abb. 10: pH-Werte der Erythrozytenkonzentrate von 1985-2000 nach Ende der zulässigen Lagerungszeit

Die pH-Werte am Ende der Lagerung wurden im Rahmen der Qualitätskontrolle nicht in allen Jahren erhoben, seit dem Jahr 2000 gar nicht mehr. Für das Jahr 2000 wurden 18 Kontrolldaten aus Haltbarkeitsmessungen für das Paul-Ehrlich-Institut verwendet.

Am Ende der Lagerung liegen die pH-Werte der Erythrozytenkonzentrate in CPD-Plasma-Lösung nach 4 Wochen zwischen 6,6-6,9. Die pH-Werte von Erythrozytenkonzentraten in SAGM-Lösung nach 5 Wochen und von Erythrozytenkonzentraten in PAGGSM-Lösung nach 6 Wochen liegen mit 6,5-6,8 etwas darunter. Diese Minderung ist statistisch signifikant. Die hier vorliegenden pH-Werte der leukozytendepletierten Erythrozytenpräparate (18 Proben aus Haltbarkeitsuntersuchungen) liegen zwischen 6,63-6,8. Eine statistisch signifikante Veränderung zur Gruppe der nicht leukozytendepletierten Erythrozytenkonzentrate besteht nicht.

Dagegen erkennt der T-Test als statistisch signifikant die pH-Änderung zwischen 1987 und 1988 und die pH-Änderung der Jahre 1991 und 1998.

Eine statistisch signifikante Änderung der Streuung zwischen den Gruppen gibt es nicht, aber die pH-Werte der Jahre 1989 und 1999 sind statistisch signifikant stärker gestreut.

Nicht dargestellt sind die Daten der bestrahlten Erythrozytenkonzentrate, bei denen der pH-Wert nach einer kurzen Lagerungszeit von 3-10 Tagen auf 6,8-6,91 mit im Mittel 6,89 abgefallen ist.

### **3.9 Thrombozytenkontamination**

Übliche Referenzwerte für Thrombozyten sind 140-220 Milliarden Thrombozyten/ Liter Blut (Bodemann, H. H. et al 1988), somit enthält eine entnommene Vollbluteinheit zwischen 70-110 Milliarden Thrombozyten. Die Schwankungsbreite im Ausgangsprodukt beträgt also bis zu 50%.

Zwischen 1994 und 1997, sowie seit dem Jahr 2000 wurden für die Qualitätskontrollen keine Messungen der Thrombozytenzahlen durchgeführt. Für das Jahr 2000 wurden 18 Daten aus Haltbarkeitsuntersuchungen für das Paul-Ehrlich-Institut ergänzt.

Zu Beginn der Untersuchungen liegen die Thrombozytenzahlen zwischen 6-100 Milliarden mit einem Mittelwert bei 29 Milliarden. Seit 1987 sinken die Mittelwerte statistisch signifikant ab auf 11-15 Milliarden für Erythrozytenkonzentrate in CPD-Plasma-Lösung und für Erythrozytenkonzentrate in SAGM-Lösung. Die hohen Thrombozytenzahlen sinken zunächst auf Werte unter 60 Milliarden, seit 1991 auf unter

30 Milliarden, wenn man einige „Ausreißer“ unberücksichtigt lässt. Im unteren Bereich liegen die Thrombozyten zunächst bei 6 Milliarden, seit 1987 zwischen 1-4 Milliarden. Die für Erythrozytenkonzentrate in PAGGSM-Lösung vorhandenen Werte zeigen eine statistisch signifikante Minderung der Thrombozytenzahlen, der Mittelwert liegt bei 3 Milliarden, die höchsten Werte reichen bis 20 Milliarden. Wenige Präparate haben unter 1 Milliarde Thrombozyten.

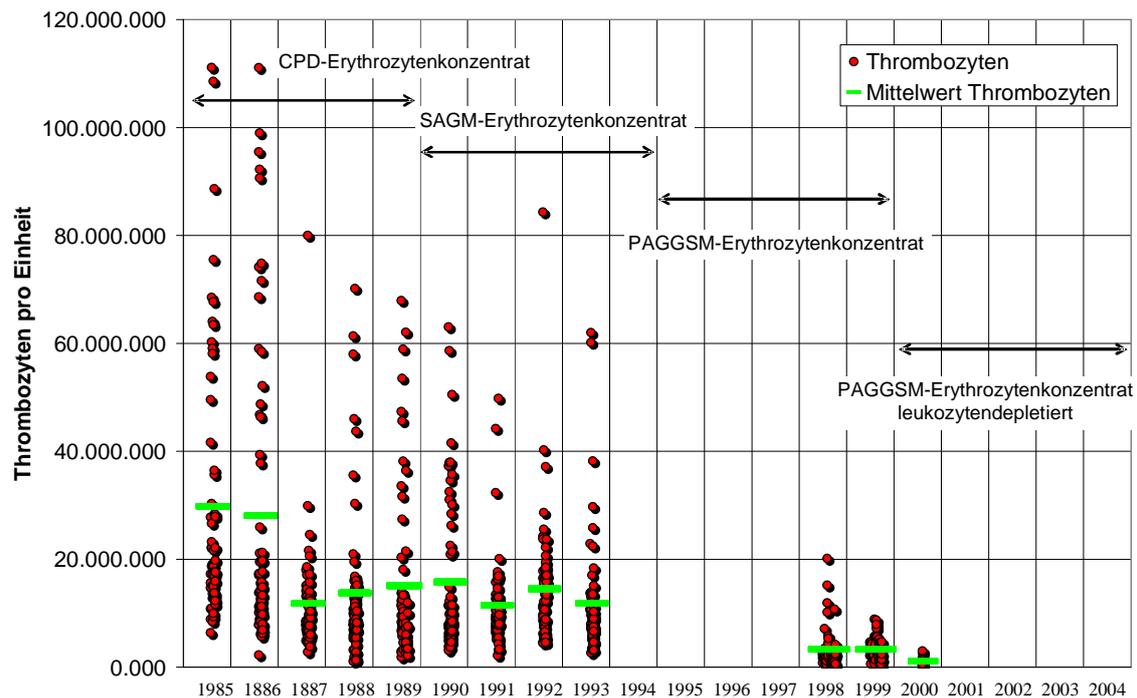


Abb. 11: Anzahl der Thrombozyten der Erythrozytenkonzentrate von 1985-2000.

Zwischen 1994 und 1997, sowie seit dem Jahr 2000 wurden für die Qualitätskontrollen keine Messungen der Thrombozytenzahlen durchgeführt. Für das Jahr 2000 wurden 18 Daten aus Haltbarkeitsuntersuchungen für das Paul-Ehrlich-Institut ergänzt.

Zu Beginn der Untersuchungen liegen die Thrombozytenzahlen zwischen 6-100 Milliarden mit einem Mittelwert bei 29 Milliarden. Seit 1987 sinken die Mittelwerte statistisch signifikant ab auf 11-15 Milliarden für Erythrozytenkonzentrate in CPD-Plasma-Lösung und für Erythrozytenkonzentrate in SAGM-Lösung. Die hohen Thrombozytenzahlen sinken zunächst auf Werte unter 60 Milliarden, seit 1991 auf unter 30 Milliarden, wenn man einige „Ausreißer“ unberücksichtigt lässt. Im unteren Bereich liegen die Thrombozyten zunächst bei 6 Milliarden, seit 1987 zwischen 1-4 Milliarden.

Die für Erythrozytenkonzentrate in PAGGSM-Lösung vorhandenen Werte zeigen eine statistisch signifikante Minderung der Thrombozytenzahlen, der Mittelwert liegt bei 3 Milliarden, die höchsten Werte reichen bis 20 Milliarden. Wenige Präparate haben unter 1 Milliarde Thrombozyten.

Ebenfalls statistisch signifikant ist der Abfall der Thrombozytenzahlen durch Leukozytendepletion. Die vorliegenden Werte liegen zwischen 0,3-3 Milliarden, der Mittelwert liegt bei 1 Milliarde Thrombozyten.

Im Endprodukt können die Schwankungsbreiten mehr als das Zehnfache betragen. Bedingt durch die starke Streuung in den oberen Bereichen in den ersten Jahren zeigt der F-Test statistisch signifikante Änderungen der Streuung in den Jahren 1987 und 1991 an, die nicht relevant sind.

Da die Thrombozytenanzahl im einzelnen Ausgangsprodukt nicht bekannt ist, kann eine Thrombozytenreduktion in Prozent nur in einem Bereich angegeben werden, ausgehend vom physiologischen Bereich. Die Thrombozytenreduktion liegt seit 1987 überwiegend zwischen 50-90%, allerdings wird in einigen Präparaten nicht einmal eine Halbierung der Thrombozyten erreicht. Bis 1987 liegen einige Thrombozytenmengen sogar im physiologischen Bereich des Vollbluts. In den folgenden Jahren gelingt eine Thrombozytenreduktion auf unter 20% der Ausgangsmenge.

In den Erythrozytenkonzentraten in PAGGSM-Lösung der Jahre 1998 und 1999 liegen die Thrombozyten größtenteils unter 10% der physiologischen Ausgangsmenge, bedingt durch Entfernen einer größeren Buffy Coat-Menge.

Nach Einführung der Inline-Filtration werden die Thrombozyten auf unter 5% der physiologischen Ausgangsmenge gesenkt.

## 4 Diskussion

Die retrospektive Darstellung der erhobenen Kontrolldaten erlaubt, Zusammenhänge zu bekannten Änderungen bei der Herstellung der Erythrozytenpräparate aufzuzeigen. Leider konnten rückwirkend nicht alle zugrunde liegenden Ursachen und Bedingungen geklärt werden. Zudem konnten nicht immer ausreichend viele Daten gefunden werden, um sichere vergleichende Aussagen treffen zu können. Dies fällt besonders da auf, wo die Qualitätsparameter nicht die Änderungen aufweisen, wie in der Literatur angegeben. Schwierigkeiten bei der Interpretation ergaben sich bei gleichzeitiger Änderung mehrerer Faktoren.

Interessanterweise änderten sich die Qualitätsparameter kaum durch vorgenommene Änderungen der Zentrifugationsbedingungen.

Die Entwicklung der Beutel von Einfach- zu Vierfach-Beuteln und zu Top&Bottom-Beuteln ergab ebenfalls keine relevanten Änderungen der dargestellten Lagerungsparameter. Einzig die vorübergehend im Jahr 2000 verwendeten Beutel der Firma Maco Pharma führten zu abweichenden Daten.

### 4.1 Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien

#### 4.1.1 Volumen

Das Volumen einer Konserve ist abhängig von Entnahmemenge und physiologischem Hämatokrit des entnommenen Vollbluts, der Präparationstechnik und der Menge der resuspendierten Nährlösung.

In den Empfehlungen des Europarates und der WHO zu Blut und Blutzubereitungen, herausgegeben vom Bundesministerium für Gesundheit, wird aus Gründen des Spenderschutzes die maximale Entnahme von 500 ml Vollblut empfohlen (Bundesministerium für Gesundheit 1993). Ferner muss bei der Auswahl der Präparationstechniken eine optimale Erythrozytenausbeute berücksichtigt werden. Die Menge an Stabilisator- und Additivlösung wird der geplanten Entnahmemenge angepasst, damit ein für die Erythrozytenlebensfähigkeit optimales Mischungsverhältnis eingehalten wird. Für Erythrozytenkonzentrate in Additivlösung geben dieselben Empfehlungen ein Volumen von

230-330 ml an, in den Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten der Bundesärztekammer werden 250-350 ml Füllungsvolumen für ein Erythrozytenkonzentrat, buffy coat-frei, in Additivlösung angegeben (Bundesärztekammer 1995). 80% der Erythrozytenmasse des Vollbluts sollen darin enthalten sein. Die entfernte Buffy Coat-Schicht soll laut Empfehlungen des Europarates zu Blut und Blutzubereitungen zwischen 40-60 ml liegen (Bundesministerium für Gesundheit 1993). Bis 1993 wurden am Zentrum für Transfusionsmedizin Münster 500 g Vollblut entnommen. Seit 1994 wurde ein Entnahmegewicht von 528 g (entsprechend 500 ml) festgelegt, mit einer erlaubten Abweichung von 10% (475-580 ml).

Die WHO gibt in ihren Empfehlungen zu Blut und Blutzubereitungen für buffy coat-depletierte Erythrozytenkonzentrate in Additivlösung einen Erythrozytenverlust von 10-15% an, der Europarat in demselben Werk einen Erythrozytenverlust von 20-30 ml (Bundesministerium für Gesundheit 1993).

Bis 1989 wurde zunächst von dem abzentrifugierten CPD-Plasma sparsam resuspendiert (bis zu 50 ml), die anfänglich größere Schwankungsbreite ergab sich durch unterschiedlich große Mengen der zugegebenen CPD-Plasma-Lösung.

Mit Einführung der Additivlösungen wurde zugunsten eines optimalen Hämatokrits die Menge der Resuspensionslösung (100 ml SAGM, 110 ml PAGGSM) und damit das Volumen erhöht.

1990-1994 wurden einzelne Erythrozytenkonzentrate gewonnen mit Volumina über 350 ml. Diese weisen durchweg niedrige Hämatokritwerte unter 0,6 l/l auf, dies kann nur so erklärt werden, dass nach der Zentrifugation eine größere Menge CPD-Plasma im Erythrozytenkonzentrat verblieb, bedingt durch Unregelmäßigkeiten des Zentrifugens.

Im Jahr 1998 wurde das Compomatenprogramm geändert. Beim Abpressvorgang wurde eine größere Buffy Coat-Schicht entfernt, somit das Erythrozytenvolumen verkleinert. Dieses reduzierte sich um circa 20 ml.

Mit Einsatz der Leukozytenfilter geht eine weitere Verringerung des Beutelvolumens um circa 5%, bezogen auf das Ausgangsvolumen, einher, sowohl durch die Filterbenetzung mit Additivlösung, als auch durch Erythrozytenverlust im Filter. Erythrozyten zeigen an den Faserflächen der Leukozytenfilter von allen Blutzellen das

größte Haftungsvermögen. In der Literatur werden Volumenverluste durch Leukozytenfilter zwischen 5-15% angeben (Müller, N. 1996).

#### 4.1.2 Hämatokrit

Der Hämatokrit entspricht dem Volumenanteil der Erythrozyten, die den überwiegenden Zellanteil im Vollblut ausmachen, circa 96% (Bodemann, H. H. et al 1988). Im Erythrozytenkonzentrat wird er neben dem vorgegebenen physiologischen Wert im bereitgestellten Vollblut durch die Zentrifugation (verbliebenes Restplasma) und die Menge der resuspendierten Stabilisator- und Additivlösung bestimmt.

Die physiologischen Werte im Vollblut schwanken bei Frauen zwischen 0,35-0,47 l/l, bei Männern zwischen 0,40-0,52 l/l (Bodemann, H. H. et al 1988).

Bis 1989 lag der Hämatokrit direkt nach der Zentrifugation über 0,95 l/l und es wurden nur geringe Mengen CPD-Plasma resuspendiert (bis zu 50 ml), dadurch lag der Hämatokrit des gewonnenen Endprodukts zwischen 0,7-0,9 l/l. Da die zugegebene Menge schwankend war, ist die Schwankungsbreite (Differenz zwischen kleinen und hohen Werten) höher als in späteren Jahren. Die Erythrozytenkonzentrate mit einem Hämatokrit um 0,9 l/l weisen niedrige Volumina auf, bei ihnen wurde weniger als 50 ml CPD-Plasma resuspendiert. Bei zwei „Ausreißern“ im Jahr 1988 mit einem Hämatokrit von 0,95 l/l wurde offensichtlich gar nicht resuspendiert.

Nachweislich korrelierten hohe Hämatokritwerte mit hohen extrazellulären Hämoglobinwerten als Ausdruck der Hämolyse. Eine erniedrigte Überlebenszeit der Erythrozyten wurde darauf zurückgeführt, dass zu wenig Nährlösung zur Verfügung stand (Högman, C. F. 1982). Dagegen konnte Högman in weiteren Studien nachweisen, dass ein niedriger Hämatokrit einen Schutz gegen mechanische Traumen in vitro darstellt (Högman, C. F. et al 1981). Zudem nimmt bei einem Hämatokrit über 0,7 l/l die Viskosität überproportional zu, mit schlechten Fließeigenschaften (Enzmann, V. et al 1984).

WHO und Europarat geben daher in ihren Empfehlungen zu Blut und Blutzubereitungen für buffy coat-arme Erythrozytenkonzentrate in Additivlösung einen Hämatokritbereich zwischen 0,65-0,75 l/l an (Bundesministerium für Gesundheit 1993), die Bundesärztekammer in den Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion von 0,5-0,7 l/l (Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut 1996).

Dieser Hämatokritbereich wird seit Einführung der Additivlösungen eingehalten. Seit 1990 lagen die Hämatokritwerte direkt nach der Zentrifugation im Mittel bei 0,9 l/l. Bedingt durch die fixe Zugabe an Additivlösung, nimmt seit 1990 die Schwankungsbreite ab.

Der Hämatokritanstieg seit 1995 auf Mittelwerte um 0,65 l/l kam durch eine Erhöhung der Entnahmemenge zustande. Warum dies 1994 nicht darstellbar ist, ließ sich nicht klären.

1996 wurde die Zentrifugengeschwindigkeit geändert. Die Zentrifugengeschwindigkeit wurde erhöht, die Zentrifugenzeit verlängert. Dies hatte eine signifikante Verkleinerung der Schwankungsbreite, besonders im unteren Bereich, zur Folge.

Durch die Vergrößerung des entfernten Buffy Coat 1997 wurde das gewonnene Erythrozytenvolumen vor Zugabe der Additivlösung verkleinert. Die anschließende Resuspension der gleichbleibenden Menge an Additivlösung senkt den Hämatokrit.

Die Senkung der Hämatokritwerte seit dem Jahr 2001 ist erheblich. Hier addieren sich zwei Effekte. Zum einen wird der Hämatokrit nun durch Impedanzmessung im Counter bestimmt. Bei der zuvor angewandten Kapillarhämatokritmethode wurden durch den Einschluss kleiner Flüssigkeitsmengen im Erythrozytenvolumen höhere Werte gemessen. Üblicherweise gelten Abweichungen von 2%, bezogen auf das Gesamtvolumen, als normal (Bodemann, H. H. et al 1988). Zum anderen kann der Erythrozytenverlust im Filter den Flüssigkeitsverlust durch die Filterspülung überwiegen, was den Hämatokrit absenkt. Tatsächlich liegen die rechnerisch ermittelten Werte nach Abzug von 2% und der im Filter verlorengegangenen Erythrozytenmasse von 10-15 ml in diesem Bereich.

### **4.1.3 Gesamthämoglobin**

Das Gesamthämoglobin korreliert mit der Erythrozytenmenge und ist somit ein Qualitätsmarker für die Erythrozytenpräparation.

Bereits im Ausgangsprodukt unterliegt es großen physiologischen Schwankungen. Der Referenzbereich liegt zwischen 11,7-17,7 g/dl, nimmt man den niedrigsten Wert bei den Frauen und den höchsten Wert bei den Männern (Bodemann, H. H. et al 1988). In diesem Bereich liegen 68% der Individuen (2s-Bereich). Bereits im Ausgangsprodukt

liegt die Differenz zwischen niedrigem und hohem Gesamthämoglobin somit bei einem Drittel und mehr. Diese Differenz blieb im Endprodukt trotz der wechselnden Präparationstechniken in all den Jahren erhalten.

Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion werden nur Blutspender zur Blutspende zugelassen mit einem Gesamthämoglobin über 12,5 g/dl (Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut 1996), somit wären, die oben genannten Referenzwerte vorausgesetzt, rechnerisch 62-89 g Gesamthämoglobin in einer entnommenen Vollblutmenge zu erwarten. Hiervon soll im Endprodukt möglichst viel erhalten bleiben. Seit 1995 wird in den Empfehlungen des Europarates zu Zubereitung, Anwendung und Qualitätssicherung von Blutbestandteilen für buffy coat-reduzierte Erythrozytenkonzentrate eine Gesamthämoglobinmenge von mindestens 43 g angegeben (Bundesministerium für Gesundheit 1995), die Bundesärztekammer gibt in den Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion für leukozytendepletierte buffy coat-reduzierte Erythrozytenkonzentrate ein Gesamthämoglobingewicht von mindestens 40 g an (Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut 2000). Diese Vorgaben wurden im gesamten Erhebungszeitraum eingehalten. Während der Präparationsschritte zu Erythrozytenkonzentraten in SAGM- und PAGGSM-Lösung gehen 10-20% des Gesamthämoglobins aus dem Vollblut verloren. Seit 1998 wurde die Menge des entfernten Buffy Coat-Volumens vergrößert, hierdurch wurde eine weitere Senkung der Gesamthämoglobinmenge um circa 10% in Kauf genommen. Durch Einführung der Leukozytenfiltration geht ein eher geringer Verlust an Gesamthämoglobin einher. Für leukozytendepletierte bestrahlte und unbestrahlte Erythrozytenkonzentrate liegt der Gesamthämoglobinverlust bei circa einem Drittel, bezogen auf die physiologische Ausgangsmenge .

#### **4.1.4 Freies Hämoglobin und Hämolyserate**

Mit zunehmender Lagerung tritt freies Hämoglobin aus den Erythrozyten in das Plasma aus. Der Anstieg steigt linear zur Lagerungszeit, aber nicht zum Absterben der Zellen (Högman, C. F. et al 1981).

Hämoglobinwerte oberhalb der üblichen Werte gelten als Ausdruck der Schädigung von Erythrozytenkonzentraten durch unsachgemäße Verarbeitung oder Lagerung.

Verschiedene Schweregrade der Membranschädigung führen in vitro zur Hämoglobinfreisetzung. Eine Erythrozytenschwellung in Suspensionslösungen geht einher mit erhöhten Hämoglobinwerten, sodass eine Freisetzung durch vergrößerte Poren der gedehnten Membran der Erythrozyten postuliert wurde (Sümpelmann, R., Zander, R. 2001). Eine Erythrozytenschwellung soll in SAGM-Lösung stärker auftreten als in PAGGSM-Lösung, der zur Senkung des osmotischen Gradienten eine größere Menge Mannitol zugegeben wurde (Zilow, E. P. et al 1996). Vorwiegend freigesetzt wird Hämoglobin durch Membranperforation und durch komplette Zerstörung aus fragmentierten Erythrozyten mit zurückbleibender leerer Zellhülle. Bei den heutigen Präparationsmethoden spielt die Hämoglobinfreisetzung durch fragmentierte Erythrozyten jedoch kaum noch eine Rolle.

Die beiden erstgenannten Formen der Erythrozytenschädigung können nach der Bluttransfusion reversibel sein (Erythrozytenschwellung, Membranperforation), hingegen kann eine irreversible Membranschädigung eine intravasale Hämolyse nach der Transfusion bewirken, die durch die gemessenen Lagerungsparameter nicht erkannt wurde.

Ursachen der Membranschädigung sind mechanische Belastungen nach Verlassen des Blutkreislaufs, beispielsweise durch Aufprall auf Fremdoberflächen, Druck oder Hitze einwirkung. Nachgewiesenermaßen ist die mechanische Hämolyse sehr viel höher bei hohem Hämatokrit (Högman, C. F. 1982), daher wurde ein optimaler Hämatokritbereich definiert (Bundesministerium für Gesundheit 1993). Des Weiteren spielen osmotische Vorgänge eine Rolle und Membranschädigungen durch Säurebelastung, sowie biochemische Eigenschaften der Erythrozytensuspensionen.

Das freie Hämoglobin ist, da es im Extrazellulärraum gemessen wird, abhängig vom Hämatokrit. Zudem ist es abhängig von der Ausgangsmenge des Gesamthämoglobins, welches erhebliche Schwankungen aufweist. Daher führte man die Hämolyserate ein, in die diese Faktoren einberechnet werden.

Die im Vergleich von Erythrozytenkonzentraten in CPD-Plasma-Gemisch mit Erythrozytenkonzentraten in Additivlösung halbierten Hämoglobinwerte beruhen also zunächst auf einem Verdünnungseffekt. Demgegenüber ist das mit dem resuspendierten Plasma zugeführte extrazelluläre Hämoglobin zu vernachlässigen.

Die seit 1994 vorliegenden Hämolyseraten deuten auf eine Verbesserung der Hämolyse-  
rate von SAGM- zu PAGGSM-Erythrozytenkonzentrat hin. Seit Einführung der Leuko-  
zytendepletion im Jahr 2000 fällt eine Abnahme bei den hohen Werten auf. Seit 1999  
liegen alle Werte unterhalb von 0,6%.

In frischem Vollblut liegt die Hämolyserate unter 0,02% und steigt nach der  
Zentrifugation und Bearbeitung auf Werte knapp unter 0,1% an (Högman, C. F. et al  
1981). Durch Zugabe der Additivlösungen wurde die Hämolyserate gemindert, ebenso  
durch die Beigabe von Mannitol. Högman wies eine Besserung der extrazellulären  
Hämoglobinwerte durch Entfernen des Buffy Coat nach und postulierte einen  
ungünstigen Effekt von proteolytischen Leukozytenenzymen (Högman, C. F. et al  
1978). Dieser Effekt wurde durch eine Reihe von Untersuchungen an leukozyten-  
depletierten Präparaten bestätigt (Müller, N. 2003). Die hier dargestellten Werte zeigen  
eine Besserung der extrazellulären Hämoglobinwerte im oberen Bereich, nicht so  
deutlich bei der Hämolyserate. Dies erklärt sich durch einen gleichzeitig in dieser Zeit  
auftretenden niedrigeren Hämatokrit, methodisch bedingt. Rechnerisch werden hier-  
durch die geminderten Hämoglobinwerte wieder aufgehoben. Daher sind die Hämolyse-  
raten aus der Zeit vor und nach 2000 nur eingeschränkt vergleichbar.

Seit Jahren wird gefordert, dass am Ende der Lagerung ein Wert von 0,8% bei mehr als  
90% der Erythrozytenkonzentrate nicht überschritten werden sollte (Bundesministe-  
rium für Gesundheit 1993). Das gelang zuverlässig. Mittlerweile gibt es kaum noch  
Werte oberhalb von 0,4%.

#### **4.1.5 Adenosintri-phosphat (ATP)**

ATP ist in den Erythrozyten der wichtigste Energielieferant für die meisten bio-  
chemischen Reaktionen zum Erhalt der Zellfunktionen, namentlich der Transport-  
funktionen an der Membran (zum Beispiel Natrium-Kalium-Gleichgewicht) und der  
Zellgestalt und -verformbarkeit

Es ist ein Purinnukleotid, das in den Erythrozyten vorwiegend durch anaerobe Glyko-  
lyse aufgebaut wird, die eine geringe Energiebilanz liefert. 1 Glukosemolekül ergibt 2  
Moleküle ATP durch Phosphoryllierung aus ADP (Adenosindiphosphat). Nach der  
Energieabgabe entsteht wiederum ADP.

Während der Lagerung wird ATP (Adenosintri-phosphat) in den Erythrozyten verbraucht und über ADP (Adenosindiphosphat), AMP (Adenosinmonophosphat) und IMP (Inosinmonophosphat) zum irreversiblen Abbauprodukt Hypoxanthin abgebaut (Sibrowski, W., Cassens, U. 1998).

Durch Zusatz von Adenin in der Stabilisator- oder Additivlösung wird der ATP-Spiegel während der Lagerung länger aufrecht erhalten. Hohe Zugaben von Adenin mindern allerdings den 2,3-DPG-Aufbau (Diphosphoglycerat), zudem werden 10% des Adenins zu 2,8-Dihydroxyadenin abgebaut, wenn es in den Körper gelangt. Dieses kann in den Nierentubuli präzipitieren und zu Nierenschädigungen führen bei mehr als 15 mg/kg Körpergewicht (Högman, C. F. 1982). In den derzeit üblichen Additivlösungen soll dies etwa 120 Erythrozytenkonzentraten entsprechen.

ATP gilt als Faktor der Funktionsfähigkeit der Erythrozyten. Es gibt eine bekannte Assoziation zwischen ATP-Gehalt und posttransfusioneller Überlebensrate der Erythrozyten. Der ATP-Abfall geht einher mit einem Lipidverlust der Zellmembran und einer Änderung der Zellform. Es kommt zu Sphärozytose (Kugelform), einer energieärmeren Zellform, zu Mikrovesikelbildung und zur Zunahme der Rigidität (Mollison, P. L. et al 1993; Pindur, G. et al 2001). Die Veränderung der Verformbarkeit zeigt eine Relation zur verminderten Überlebenszeit in vivo. Die Assoziation ist nicht sehr eng, da weitere Faktoren für die Erythrozytenvitalität bedeutsam sind, z.B. 2,3-DPG und pH. So weiß man, dass höhere pH-Werte einen rascheren ATP-Abfall bewirken, gleichzeitig wird aber 2,3-DPG vermehrt aufgebaut über den Rapoport-Luebering-Zyklus, einen Nebenweg der anaeroben Glykolyse. Bei Lagerungstemperaturen um 4°C bleibt ATP in einem pH-Bereich zwischen 6,8-7,2 stabil.

Die Resuspension der Erythrozyten in ein adeninreiches Medium bewirkt zunächst einen ATP-Anstieg, dieser ist bis zum 7.-14. Tag nachweisbar (Fagiolo, E. et al 1987; Mansouri Taleghani, B. et al 2001), dann kommt es zu einem kontinuierlichen Abfall. Am Ende der Lagerungszeit liegen normalerweise noch Werte von über 50% der Ausgangswerte vor (Kretschmer, V. et al 1988; Mansouri Taleghani, B. et al 1996; Högman, C. F. et al 1985). Das gilt für Erythrozytenkonzentrate in SAGM- und PAGGSM-Lösung und für leukozytendepletiertes Vollblut.

Frische Zellen enthalten zunächst 3-5  $\mu\text{mol}$  ATP/g Hämoglobin (Valeri, C. R. et al 1988; Högman, C. F. et al 1981). Man geht davon aus, dass bei ATP-Konzentrationen

unter 1,5  $\mu\text{mol/g}$  Hämoglobin eine eingeschränkte Überlebensfähigkeit der Erythrozyten zu erwarten ist.

Verschiedentlich wurden zu Lagerungsbeginn höhere ATP-Werte (Adenosintriphosphat) in unfiltriertem im Vergleich mit leukozytendepletiertem Vollblut und in Vollblut im Vergleich mit Erythrozytenkonzentraten beobachtet und hieraus auf eine ATP-Freisetzung aus zerfallenden Leukozyten und Thrombozyten geschlossen (Mansouri Taleghani, B. et al 2001; Walther-Wenke, G., Walker, W. H. 2002).

Leukozyten und Thrombozyten haben im Vergleich zu Erythrozyten einen gesteigerten ATP-Stoffwechsel, der aerob abläuft, aber auch einen hohen ATP-Verbrauch. Daher wird häufig eine Besserung der ATP-Werte durch Leukozytendepletion angegeben (Müller, N. 2003). Dies lässt sich mit den hier vorliegenden Werten nicht darstellen.

Zu genaueren Vergleichen und einer Beurteilung hinsichtlich der Qualität unterschiedlicher Präparationsmethoden eignet sich ATP nur bedingt, die Literaturangaben über die ATP-Menge sind sehr schwankend. Außer von der Erythrozytenmenge ist ATP abhängig von der Qualität der Messmethode. Trifft die obengenannte Annahme zu, dass ein Teil des gemessenen ATPs aus Leukozyten oder Thrombozyten stammt, ist es zudem für die Erythrozyten wertlos. Außerhalb der Zellen ist ATP instabil, es zerfällt den Angaben der Hersteller der Testkits zufolge um 5-80% in 24 Stunden. Besser geeignet ist wahrscheinlich der „Adenylate energy charge“, der sich aus ATP-, ADP- (Adenosindiphosphat) und AMP-Konzentrationen (Adenosinmonophosphat) errechnet (Sibrowski, W., Cassens, U. 1998).

#### **4.1.6 Leukozytenkontamination**

Leukozyten wurden in Blutkonserven immer als Verunreinigung angesehen, ohne Nutzen für den Patienten, aber als Urheber einer Reihe von Nebenwirkungen.

Je nach Präparationstechnik können unterschiedliche Reduktionen der Leukozytenzahlen erreicht werden. Die hochoptimierte Zentrifugation zur Herstellung von buffy coat-armen Erythrozytenkonzentraten galt lange Zeit als effektivste Methode, um Leukozyten aus Erythrozyten und Plasma zu entfernen. Sie werden in der Buffy Coat-Schicht zwischen Erythrozyten und Plasma angereichert, zusammen mit Thrombozyten und Retikulozyten. Hierdurch sollte eine Reduktion auf 10-20% der ursprünglichen

Leukozytenmenge möglich sein. In einer Reihe von Untersuchungen wurde hierdurch eine Verbesserung von Lagerungsparametern, z.B. weniger freies Hämoglobin und höhere ATP-Werte (Adenosintriphosphat) am Ende der Lagerungszeit nachgewiesen (Kretschmer, V. et al 1988). Daraus schloss man auf einen hämolytischen Effekt von Leukozytenenzymen. Högman führte den Nachweis, dass nach Transfusion mit buffy coat-reduzierten Erythrozytenkonzentraten im Vergleich zur Vollblutgabe oder Erythrozytenkonzentraten aus anderen Präparationsverfahren weniger Transfusionsnebenwirkungen auftraten und Fieberreaktionen seltener waren (Högman, C. F. et al 1983).

Der Europarat erwartet in seinen Empfehlungen zu Blut und Blutzubereitungen für buffy coat-reduzierte Erythrozytenkonzentrate eine Abnahme der Leukozyten auf 30-50%, was einer Leukozytenmenge von 0,66-2,5 Milliarden entspräche. 75% der hergestellten Erythrozytenkonzentrate sollten eine Leukozytenreduktion auf unter 1,2 Milliarden aufweisen (Bundesministerium für Gesundheit 1993, 1995).

Vor der Ära der Leukozytendepletion konnten die hier hergestellten Erythrozytenkonzentrate wohl in Einzelfällen eine Leukozytenreduktion auf ein Zehntel aufweisen, es waren aber auch Leukozytenwerte möglich, die nicht einmal auf eine Halbierung schließen lassen, wenn man von physiologischen Ausgangswerten ausgeht.

Erst moderne Filtertechniken erlaubten eine Leukozytenreduktion auf unter 1 Million Leukozyten pro Präparat, das entspricht der Entfernung von 99,90-99,99% der ursprünglich im Vollblut vorhandenen Leukozyten.

Indikationsbezogen war die Leukozytendepletion bereits seit Jahren ein gängiges Verfahren, häufig durchgeführt während der Transfusion, somit wurde der günstigste Filtrationszeitpunkt verpasst. Nach heftigen Debatten fiel die Entscheidung zugunsten einer generellen Leukozytendepletion, das Paul-Ehrlich-Institut als die für die Bluttransfusionen zuständige Oberbehörde ordnete die generelle Einführung der Leukozytendepletion für das Jahr 2001 in Deutschland an. Trotz der geschätzten Mehrkosten versprach man sich hiervon eine weitere Verbesserung der Qualität und Sicherheit von Bluttransfusionen (Stellungnahme des Arbeitskreises Blut vom 16.9.1998).

Durch Leukozytendepletion sollen sowohl Transfusionsnebenwirkungen verringert, als auch die Lagerungsqualität verbessert werden, wobei letzteres in der Literatur durchaus nicht einheitlich bewertet wird. Mansouri Taleghani wies bei buffy coat-reduzierten Erythrozytenkonzentraten in SAGM-Lösung durch Leukozytendepletion eher eine

geringfügige Besserung der Qualitätsmerkmale nach, hingegen profitierte Vollblut in seiner Untersuchung deutlich von der Leukozytendepletion (Mansouri Taleghani, B. et al 2001). Möglicherweise ist der Effekt in buffy coat-reduzierten Erythrozytenkonzentraten nicht so ausgeprägt (Müller-Steinhardt, M. et al 1997).

Einige Wirkungen der Inline-Filtration sind noch unklar. Diskutiert wird, ob besonders die älteren rigiden Erythrozyten in den Filtern zurückgehalten werden (Matthes, G. et al 1994; Müller, N. 2003). In Vergleichen zwischen ungefilterten und gefilterten Erythrozytenkonzentraten konnte eine erleichterte Sauerstoffabgabe trotz niedrigen 2,3-DPG-Gehaltes (Diphosphoglycerat) nachgewiesen werden (Matthes, G. et al 1994).

Auch der Filtereffekt ist noch nicht genau aufgeklärt. Eine Rolle spielen mechanischer Siebeffekt und elektrostatische Interaktionen, sowie Adhäsion der Leukozyten an den Filterfasern und an den den Filterfasern anhaftenden Thrombozyten.

Die Effektivität der Filtration ist abhängig vom Zeitpunkt der Verarbeitung (Lagerdauer), Filtrationsdauer (Fließgeschwindigkeit), Raumtemperatur und Leukozytenmenge im Ausgangsprodukt (Riggert, J. 2000).

Die Leukozytendepletion kann an verschiedenen Stellen des Herstellungsprozesses erfolgen. Als optimaler Zeitpunkt der Filtration gilt die Leukozytenentfernung vor der Lagerung, aber nach der phagozytischen Aktivität der weißen Blutkörperchen mit Aufnahme von Bakterien und Viren und vor dem Leukozytenzerfall mit unerwünschter Freisetzung von Zytokinen, Leukotrienen, Serotonin, Histamin und weiteren proteolytischen Enzymen.

#### **4.1.7 extrazelluläres Kalium**

Mit zunehmender Lagerung nimmt der Kaliumaustritt aus den Erythrozyten zu (Sachs, V. 1984; Dörner, R. 1990). Als Ursache des lagerungsbedingten Kaliumaustritts werden mehrere Mechanismen diskutiert. Bei sorgfältiger Lagerung wird durch Hämolyse nur der kleinste Teil freigesetzt. Eine Schwellung der Erythrozyten in der Lagerungslösung geht einher mit Vergrößerung der Poren und verstärktem Kaliumaustritt (Zilow, E. P. et al 1996). Dieser Effekt wäre bedeutsam für in SAGM-Lösung gelagerte Erythrozytenkonzentrate, in PAGGSM-Lösung tritt eine Erythrozytenschwellung kaum auf. Auch wahrscheinlich ist ein Austausch gegen Natrium aus der natriumreichen Umgebungs-

suspension (SAGM enthält doppelt soviel Natrium wie PAGGSM) oder die Diffusion aus der Zelle in eine kaliumarme Umgebung.. Ersteres deckt sich mit der Beobachtung, dass Natrium im Plasma mit zunehmender Lagerung abnimmt (Fagiolo, E. et al 1987), sowie mit Untersuchungen, die einen Natriumeinstrom in die Zelle nachweisen (Högman, C. F. et al 1985). Ebenfalls möglich ist ein Erlahmen der Natrium-Kalium-Pumpe bei ATP-Verarmung (Adenosintriphosphat), da die Einschleusung von Kalium in die Zelle gegen Natrium in den Extrazellulärraum Energie verbraucht.

Durch Gamma-Bestrahlung wird der Kaliumausstrom verstärkt. Eine Verdoppelung der extrazellulären Kaliumwerte zu jedem Untersuchungszeitpunkt konnte bei bestrahlten Erythrozytenkonzentraten nachgewiesen werden (Walther-Wenke, G. et al 2001). Da alle anderen Lagerungsparameter nach der Bestrahlung unverändert bleiben, wird ein Effekt an der Erythrozytenmembran vermutet, der bisher unbekannt ist. Denkbar ist eine Störung der Ionenpumpe.

Für bestrahlte Erythrozytenkonzentrate werden daher verkürzte Lagerungszeiten empfohlen, zudem sollten die Kaliumwerte im Rahmen der Qualitätskontrolle gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion überwacht werden (Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut 1996).

Entscheidend sind möglichst kurze Lagerungszeiten nach der Bestrahlung (Harbrecht, U. et al 2005), Lagerungszeiten vor der Bestrahlung von bis zu 28 Tagen sind wohl nicht mit massiv höheren Kaliumwerten verbunden.

Kalium ist das Hauptkation des Intrazellulärraumes, circa 98% der Gesamtkaliummenge entfallen auf diesen Bereich. Der Konzentrationsgradient extra-/intrazellulär wird normalerweise aufrechterhalten von der Natrium-Kalium-Pumpe. Die Kaliummenge in den Erythrozyten ist 25 mal höher als im Plasma. Hier beträgt der Gehalt physiologisch 3,6-4,8 mmol/l (Walb, D., Thomas, L. 1988).

Die hier angeführten Kaliumwerte liegen zwischen 30-55 mmol/l. Ähnliche Werte werden in der Literatur für Erythrozytenpräparate in additiver Lösung beschrieben (Högman, C. F. et al 1978; Sipurzynski-Budraß, S. et al 2001; Fagiolo, E. et al 1987).

Ein günstiger Effekt der Leukozytendepletion mit niedrigeren Kaliumwerten am Ende der Lagerung, wie verschiedentlich dargestellt und begründet mit einer geringeren Hämolyse (Müller, N. 2003), kann anhand der verfügbaren Daten nicht gezeigt werden.

Vergleichsdaten zu Erythrozytenkonzentraten in CPD-Plasma-Gemisch und zu Erythrozytenpräparaten in SAGM-Lösung konnten leider nicht herangezogen werden.

#### 4.1.8 pH-Wert

Ein etwas saureres Milieu kurz unterhalb des physiologischen Blut-pHs gilt als günstig für die Überlebensfähigkeit der Erythrozyten, daher werden Stabilisator- und Additivlösung angesäuert. Damit liegen zu Beginn der Herstellung die pH-Werte noch im basischen Bereich (Högman, C. F. et al 1985; Kretschmer, V. et al 1988). In Übereinstimmung mit der Literatur liegt in allen hier verwendeten Lagerungslösungen der pH der Blutkonserven zwischen 7,05-7,3.

Die während der Lagerung zunehmende Azidose wird durch die Milchsäure als Stoffwechselendprodukt der anaeroben Glykolyse verursacht (Mansouri Taleghani, B. et al 2001). Glukose wird unter Mitwirkung von ATP (Adenosintriphosphat) zu Milchsäure abgebaut, die wiederum in Laktat und Wasserstoff zerfällt (Lachtermann, E., Zander, R. 2001; Zander, R., Sümpelmann, R. 2001). Milchsäure ist ungleich in Erythrozyten und Umgebungsmilieu verteilt, circa 40% verbleibt in den Erythrozyten.

Als Toleranzbereich für Erythrozytenkonzentrate gilt ein pH oberhalb von 6,5 (Mansouri Taleghani, B. et al 2001). Bis zum Ende der Lagerung kann dieser pH-Bereich mit den angewandten Lagerungslösungen eingehalten werden.

Ein starker pH-Abfall wird zum einen durch den gedrosselten Stoffwechsel bei 4°C verhindert, zum anderen durch Pufferung. In vivo wird der physiologische Blut-pH durch Pufferung in engen Grenzen zwischen 7,35-7,45 gehalten, wobei Kohlensäure/Bikarbonat, Plasma- und Zellproteine, besonders Hämoglobin, sowie der Austausch von Wasserstoff gegen Kalium extra-/intrazellulär eine Rolle spielen. Neben der natürlichen Pufferung sollen die der Additivlösung zugegebenen Phosphate pH-stabilisierend wirken (nur in PAGGSM-Lösung).

Besonders stark ist der pH-Abfall in den ersten 2 Wochen.

Ein geringerer pH-Abfall nach Leukozytendepletion wurde in Vollblut nachgewiesen, dieser Effekt war aber in Erythrozytenkonzentraten nicht ausgeprägt. Diskutiert wird ein additiver Effekt der stoffwechselaktiven Leukozyten und Thrombozyten (Mansouri Taleghani, B. et al 2001; Müller, N. 2003). Ein geringerer pH-Abfall soll bereits durch

die Entfernung des Buffy Coats verursacht sein. Anhand der geringen vorliegenden Datenzahl lässt sich eine pH-Stabilisierung durch Leukozytendepletion nicht belegen. Die Molekülform von Proteinen und die optimale Wirkung von Enzymen ist stark pH-abhängig. Bei niedrigem pH werden die Zellmembranen und die aktiven Transportmechanismen der Zellen geschädigt, es kommt zur Enzymfreisetzung. Die Hexokinase wird bereits bei einem pH unterhalb von 7,2 gehemmt, sodass die Glykolyse abnimmt (Mansouri Taleghani, B. et al 2001). Die DPG-Mutase (Diphosphoglycerat) wird bei pH-Werten unterhalb von 6,8 gehemmt, sodass kein 2,3-DPG mehr aufgebaut wird (Matthes, G. et al 1994). ATP (Adenosintriphosphat) bleibt bei den üblichen Lagerungstemperaturen um 4°C stabil zwischen 6,8-7,2 (Zander, R., Sümpelmann, R. 2001). Bei einem höheren pH setzt der Rapoport-Luebering-Zyklus verstärkt ein, ein Nebenweg der anaeroben Glykolyse, mit besserer 2,3-DPG-Neusynthese bei gleichzeitig herabgesetzter ATP-Synthese (Fagiolo, E. et al 1987).

Wegen der Schwierigkeiten beim Erfassen von exakten Absolutwerten, z. B. durch den zeitabhängigen pH-Anstieg durch Entweichen von Kohlendioxid vor der Messung und Ungenauigkeit an den pH-Elektroden durch konzentrierte Proteinlösungen, eignet sich der pH-Wert nur bedingt als Qualitätskontrollparameter. Bei korrekter Mischung von Vollblut und Stabilisator- und Additivlösung und korrekter Lagerung (Einhalten der Kühlkette) kann man aber, wie die hier dargestellten pH-Werte zeigen, davon ausgehen, dass der pH-Bereich in den erforderlichen Grenzen eingehalten wird.

Für genauere Fragestellungen gilt dieser Wert als zu ungenau, dafür ist der Base-Excess (Zander, R., Sümpelmann, R. 2001) oder der intrazellulär gemessene pH-Wert aussagekräftiger (Mansouri Taleghani, B. et al 2001).

#### **4.1.9 Thrombozytenkontamination**

Die Zentrifugation zur Herstellung von buffy coat-armen Erythrozytenkonzentraten galt als günstigste Methode zum Entfernen von Thrombozyten aus Erythrozyten und Plasma. Gleichzeitig konnte aus dem Buffy Coat in einer 2. Zentrifugation mit Abtrennung von Leukozyten und Erythrozyten ein gepooltes Thrombozytenkonzentrat gewonnen werden. Bis zu 90% der Thrombozyten sollten auf diese Weise entfernt werden bei einem Erythrozytenverlust von circa 10%, was einer verbleibenden

Thrombozytenmenge von 7-11 Milliarden entsprechen würde. Kretschmer gab eine Reduktion der Thrombozyten auf 1,7-4,5 Milliarden an (Kretschmer, V. et al 1988). Der Europarat gibt in seinen Empfehlungen zu Blut und Blutprodukten eine Thrombozytenreduktion für buffy coat-freie Erythrozytenkonzentrate auf unter 10 Milliarden pro Einheit, seit 1999 eine Reduktion auf unter 20 Milliarden an (Bundesministerium für Gesundheit 1993; Council of Europe 1999).

Diese optimistischen Werte konnten für Erythrozytenkonzentrate in CPD-Plasma-Gemisch und Erythrozytenkonzentrate in SAGM-Lösung nur bei einem kleinen Teil der Präparate erzielt werden, die Entfernung im Buffy Coat unterlag einer großen Variationsbreite. Erst bei der Herstellung von Erythrozytenkonzentraten in PAGGSM-Lösung konnten die empfohlenen Werte erreicht werden, nachdem eine größere Buffy Coat-Menge entfernt wurde, dies war allerdings verbunden mit einem Verlust an Gesamthämoglobin.

Durch Leukozytenfilter werden auch Thrombozyten reduziert, da diese ebenfalls an den Fasern haften bleiben. (Müller, N. 2003). Die hier vorliegenden Daten bestätigen dies. Eine Beeinträchtigung der Qualität von gelagerten Blutprodukten durch Thrombozyten wird in der Literatur immer wieder erwähnt, so soll durch den additiven Stoffwechsel der pH-Wert stärker sinken, eine Abgrenzung zu den Leukozyten wird jedoch selten gemacht.

## **4.2 Klinische Bedeutung**

Die Qualität von Erythrozytenkonzentraten zeigt sich nach der Bluttransfusion. Sie bedeutet im Endeffekt Wirksamkeit als Sauerstoffträger bei Verträglichkeit und Ausbleiben von Nebenwirkungen, also Infektionssicherheit, niedrige metabolische und immunologische Transfusionsrisiken.

Seitdem gespendetes Blut lagerungsfähig aufbereitet werden kann, rückten Lagerungsschäden und Nebenwirkungen durch Lagerungseffekte in den Blickpunkt.

Mit Einführung der Blutkomponententherapie konnten einige dieser Nebenwirkungen gemindert werden. So verringerte die Entfernung des größten Teils des Plasma-Stabilisator-Gemisches die Zitratbelastung und die Überempfindlichkeit gegen Plasma-eiweiße.

Ein Teil der Nebenwirkungen ist bei sorgfältiger Anwendung und Beobachtung vermeidbar. Durch sorgfältige Überwachung können Anzeichen rechtzeitig erkannt und nötige Gegenmaßnahmen ergriffen werden.

Nebenwirkungen durch Lagerungseffekte sind kaum ein Problem bei Regeltransfusionen mit normaler Transfusionsgeschwindigkeit, möglicherweise aber bei Massivtransfusionen, da sich hier die Effekte addieren können und die zugeführte Blutmenge die eigene Blutmenge übersteigen kann.

#### **4.2.1 Volumen**

Die Hypervolämie als Nebenwirkung der Transfusion ist wahrscheinlich ein recht häufiges Ereignis. Geschätzte Zahlen gehen von 1 auf 700 bis 1 auf 3000 Transfusionen aus, bei hoher Dunkelziffer. Die Blutkomponententherapie brachte eine deutliche Senkung dieser Ereignisse. Erythrozytenkonzentrate enthalten bei reduziertem Volumen die annähernd gleiche Erythrozytenmenge wie Vollblut. Aufgrund der kurzen Verweildauer der Additivlösung in der Blutbahn stellt diese keine Volumenbelastung dar. Die geringere Volumenbelastung ermöglicht die Zufuhr größerer Mengen der benötigten Bestandteile.

Als gefährdet gelten Kinder und Ältere am Rand der Kreislaufdekompensation, aber auch Patienten mit chronischer Anämie, die kompensatorisch ein erhöhtes Plasmavolumen aufweisen. Die Hypervolämie ist weniger ein Problem der Transfusionsmenge, als vielmehr der Transfusionsgeschwindigkeit.

Bei auftretenden Symptomen des erhöhten zentralvenösen Druckes wie Husten, Dyspnoe oder Halsvenenstauung können Diuretika gegeben werden, die Flüssigkeitszufuhr sollte möglichst eingeschränkt werden. Letzteres sollte bei gefährdeten Personen bereits vor einer Transfusion berücksichtigt werden. Eventuell kann die Messung des zentralvenösen Druckes sinnvoll sein. Zur Vermeidung der Volumenüberladung wird eine Transfusionsgeschwindigkeit von 2-4 ml/ kg Körpergewicht/ Stunde empfohlen, bei gefährdeten Personen die langsame Infusion (1 ml/ kg Körpergewicht/ Stunde) (Kiefel, V. 2004).

### 4.2.2 Hämatokrit

Die Viskosität von Erythrozytenkonzentraten nimmt mit der Erhöhung des Hämatokrits überproportional zu. Bei der Bluttransfusion führt ein hoher Hämatokrit zu schlechten Fließeigenschaften.

Kompensatorisch wurde in der Vergangenheit häufig Kochsalzlösung aus eigens dafür vorgesehenen Beuteln zugefügt, was erhöhte Kosten und erhöhtes Kontaminationsrisiko bedeutete, sowie eine erhöhte Fehlerrate aufgrund der zusätzlichen Manipulation (Enzmann, V. et al 1984). Verzicht auf Verdünnung konnte zu Problemen während der Transfusion führen, wie langsame Einlaufgeschwindigkeit und Verstopfen der Filter.

### 4.2.3 Hämolyse in vitro

Freies Hämoglobin tritt bei sorgfältiger Konservierung und Lagerung nicht in schädigenden Mengen in Blutkonserven auf. Eine in-vitro-Hämolyse gilt somit als Ausdruck unsachgemäßer Handhabung und kann mechanisch durch Druck oder Wärme- oder Kälteeinwirkung verursacht werden, aber auch durch Zusatz von hypo- oder hypertonen Lösungen (Zusatz von Medikamenten).

Seit dem Jahr 2000 empfehlen die Richtlinien der Bundesärztekammer zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion vor Ausgabe und Gebrauch von Erythrozytenkonzentraten die visuelle Kontrolle im Überstand auf sichtbare Hämolyse (Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut 2000).

Intravasal wird freies Hämoglobin an Haptoglobin gebunden, in das Retikuloendotheliale System transportiert und dort abgebaut mit Bilirubin als Endprodukt. Bei Hämoglobinwerten über 1000 mg/l ist die Haptoglobin-Transportkapazität jedoch erschöpft, freies Hämoglobin tritt auf und wird nierengängig. Es dissoziiert zum Teil in seine 2 Dimere. Nierenschädigungen sind möglich durch Durchblutungsstörungen (Thomas, L. 1988).

#### 4.2.4 Leukozytenkontamination

Leukozyten gelten als häufigste Ursache unerwünschter Nebenwirkungen, sie mindern die Qualität der Erythrozytenkonzentrate durch immunologische, rheologische und infektiöse Nebenwirkungen.

In den ersten Stunden nach der Vollblutentnahme ist die Phagozytosefunktion der weißen Blutkörperchen erwünscht. Bei Temperaturen um 4°C haben Leukozyten jedoch eine kurze Lebenszeit und sterben innerhalb der ersten Stunden bis Tage ab.

Häufigste Nebenwirkungen der Leukozyten bei Transfusionen sind die nicht-hämolytische, febrile Transfusionsreaktion, die ausgelöst wird von aus Granulozyten freigesetzten Zytokinen, die Immunisierung gegen HLA-Antigene (Alloimmunisierung) durch antigenpräsentierende Zellen im Spenderblut (Monozyten, B-Lymphozyten), sowie die Übertragung leukotroper Viren, insbesondere des Zytomegalievirus (Lefevre, H. et al 1999).

Belegt ist auch eine immunsuppressive Wirkung. Der Mechanismus der transfusionsassoziierten Immunmodulation ist bisher jedoch nicht ausreichend verstanden (Riggert, J. 2000), die Datenlage ist uneinheitlich und zum Teil widersprüchlich. Zahlreiche Veröffentlichungen belegen immunologische Wirkungen von Transfusionen, z. B. ein längeres Überleben von Nierentransplantaten, aber auch unerwünschte Wirkungen, z. B. häufigere postoperative Infektionen und Wundheilungsstörungen, sowie erhöhte Rezidivraten nach operativen Tumorsektionen. Ob sie durch Leukozyten oder durch veränderte Erythrozyten ausgelöst werden, ist noch nicht abschließend geklärt. Wahrscheinlich sind hieran Komplement, Lymphokine, Chemokine, Zytokine und andere immunregulatorische Proteine beteiligt, in Wechselwirkung mit Endothelzellen, Leukozyten und Erythrozyten. Dabei haben der durch die aktivierte Phagozytose sezernierte Tumornekrosefaktor (TNF) und freigesetzte Interleukine eventuell additive oder verstärkende Wirkung. Durch Leukozytenfilterung vor der Lagerung werden diese Stoffe reduziert (Mynster, T., Nielsen, H. J. 2000).

Inwieweit durch Leukozytendepletion eine signifikante Reduktion von Morbidität und Mortalität möglich ist, ist umstritten. Anerkannt ist mittlerweile die Reduktion von febrilen, nicht-hämolytischen Transfusionsreaktionen (Bordin, J. O. et al 1994) und HLA-Immunisierung (Andreu, G., Dewailly, J. 1994).

Im Versorgungsbereich des Zentrums für Transfusionsmedizin Münster ließ sich eine Änderung der Häufigkeit von transfusionsbedingten Nebenwirkungen im Laufe der Jahre nicht feststellen, auch nicht von der am häufigsten gemeldeten febrilen, nicht-hämolytischen Transfusionsreaktion. Analysen der seit 1988 gemeldeten Fälle weisen allerdings auf eine hohe Dunkelziffer bei den Meldungen hin (Myritz, H.-D. 2005).

Spekulativ ist bisher die Behauptung, die neue Variante der Creutzfeld-Jakob-Krankheit könne durch Leukozytendepletion verhindert werden. Seit ihrem Auftreten in Großbritannien verdichten sich allerdings Hinweise darauf, dass die Prionen als auslösendes Agens im Blut über die menschlichen Lymphozyten übertragen werden können (Offergeld, R. et al 2005). Angaben zur „Wirkungsmenge“ können bisher nicht gemacht werden.

#### **4.2.5 Hyperkaliämie**

Die Kaliumwerte der Erythrozytenkonzentrate am Ende der Lagerungszeiten liegen zwischen 30-55 mmol/l. Unter der Voraussetzung, dass ein Erythrozytenkonzentrat circa 130 ml Flüssigkeit enthält, ist diese Menge in etwa 8 Erythrozytenkonzentraten enthalten. Im Umkehrschluss enthält ein Erythrozytenkonzentrat etwa ein Achtel dieser Kaliummenge. Diese pro Erythrozytenkonzentrat zugeführte Menge liegt weit unter dem täglichen Kaliumbedarf, da die Kalium-Aufnahme und -Ausscheidung zwischen 75-100 mmol pro Tag liegt (Walb, D., Thomas, L. 1988).

Der Körper besitzt eine ganze Reihe von Kompensationsmechanismen, um Kalium in physiologischen Grenzen zu halten. Hierzu gehören die Regulation in den distalen Tubuli und Sammelrohren der Nieren, beeinflussende Mineralokortikoide, Regulation im Säure-Basen-Status und Einschleusung von Kalium in die Zelle (Natrium-Kalium-Pumpe). Diese setzen verzögert ein, sodass es nach Transfusionen zu reaktiven Hypokaliämien kommen kann.

Auch bei fortgeschrittener Niereninsuffizienz treten kaum Hyperkaliämien auf, da kompensatorisch die intestinale Kalium-Ausscheidung gesteigert wird.

Bei Regeltransfusionen mit normalen Transfusionsgeschwindigkeiten von 3-5 ml/min Erythrozytenkonzentrat gibt es keine kaliumbedingten Komplikationen, da Umverteilungsmechanismen im Extrazellulärraum, renale Ausscheidung und Wiederaufnahme in

die Erythrozyten ausreichend wirksam sind. Allenfalls vorübergehende Hyperkaliämien wurden beobachtet bei Transfusionsmengen von mehr als 20 ml/min Erythrozytenkonzentrat (Kretschmer, V., Weippert-Kretschmer, M. 2004).

Bei Massivtransfusionen mit schneller Transfusion von mehr als 60 ml/min Erythrozytenkonzentrat (1 ml/ min/ kg Körpergewicht) und bei stark eingeschränkter Nierenfunktion kann es zur Hyperkaliämie kommen mit klinischen Symptomen bis hin zu Herzrhythmusstörungen (EKG-Überwachung). Verstärkend können Schock, Azidose oder Gewebsuntergang sein.

Bedeutsam ist die zunehmende Kaliummenge bei bestrahlten Erythrozytenkonzentraten, die aus diesem Grund sofort nach der Bestrahlung angewendet werden sollten (Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut 1996).

Eine erhöhte Kaliummenge kann bei einer durch unsachgemäße Handhabung ausgelösten Hämolyse auftreten.

Kalium ist beteiligt an allen elektrophysiologischen Vorgängen, bei einer Erhöhung im Extrazellulärraum kommt es zur Destabilisierung des Membranpotentials, was sich klinisch in neuromuskulären Symptomen und am Herzmuskel in malignen Extrasystolien äußern kann. Die klinischen Symptome, wie Muskelschwäche, schlaffe Lähmung, Parästhesien, sind uncharakteristisch. Eindeutige Zeichen im EKG sind eine zeltförmig erhöhte T-Welle und verbreiteter QRS-Komplex.

#### **4.2.6 Störungen des Säuregleichgewichts**

Die Gabe gelagerter Blutkonserven stellt für den Körper eine Säurebelastung dar (Lachtermann, E., Zander, R. 2001). Auch bei korrekter Lagerung fällt mit den derzeit üblichen Stabilisator- und Additivlösungen der pH-Wert am Ende der Lagerung bis auf 6,5 ab.

Eine Transfusionsazidose kann bei Massivtransfusionen auftreten, wenn die Leber des Patienten erheblich geschädigt ist und bei Transfusionsgeschwindigkeiten für Erythrozytenkonzentrate über 1,6 ml/ min/ kg Körpergewicht (Kretschmer, V., Weippert-Kretschmer, M. 2004), wobei Schock und Hypothermie verstärkend wirken.

Während eine intakte Leber die zugeführten Säuren in wenigen Stunden metabolisiert, benötigen intakte Nieren hierzu einen Tag. Neben der Metabolisierung werden die

Säuren auch abgeatmet (respiratorische Kompensation), da ein Teil aus der Kohlendioxid-Akkumulation stammt, da Kohlendioxid aus den Beuteln nicht entweichen kann. Eine Reboundalkalose kann auftreten, wenn eine Transfusionsazidose zu stark korrigiert wird, z. B. durch Gabe von Bikarbonat, während die Leberfunktion wieder einsetzt. Daher wird eher abgeraten, eine transfusionsbedingte Azidose durch Natriumbikarbonatgabe zu behandeln.

Die sogenannte Posttransfusionsalkalose kann auftreten nach Gabe von in Zitrat gelagerten Blutkonserven, da die Leber während des Zitrat-Abbaus pro mol Zitrat 3 mol Wasserstoff verbraucht (Zander, R., Sümpelmann, R. 2001).

#### **4.2.7 Thrombozytenkontamination**

Die Bedeutung der Thrombozyten mit ihren vielfältigen Stoffwechselprodukten und ihrer Beeinträchtigung der gelagerten Blutpräparate wird erst langsam verstanden. Ihre Erforschung erweist sich als schwierig. Aufgrund der bisher bekannten Vorgänge der Gerinnungsaktivierung und der Bildung von Zytokinen werden thrombozytenbedingte immunmodulatorische und rheologische Nebenwirkungen neben Beeinträchtigungen der Qualität angenommen. Als Bestandteil von Mikroaggregaten sind Thrombozyten seit langem bekannt (Klose, R. et al 1981). Dass sie in Wechselwirkungen mit Leukozyten, Erythrozyten und Endothelzellen stehen, gilt als sicher.

Inwieweit durch eine Senkung der Thrombozytenzahlen unerwünschte Transfusionswirkungen gemindert werden können, ist bisher nicht bekannt, zumal dies eher seltene Ereignisse sind.

Wahrscheinlich geht ein Teil der febrilen nicht-hämolytischen Reaktionen auf Alloantikörperbildung gegen Thrombozyten zurück (Kiefel, V. 2004).

Durch thrombozytenspezifische Alloantikörper kann die posttransfusionelle Purpura auch durch Gabe von Erythrozytenkonzentraten ausgelöst werden, ein sehr seltenes Ereignis, das jedoch lebensbedrohlich werden kann. Circa 1 Woche nach der Transfusion kommt es zu einem reversiblen Abfall der Thrombozyten mit entsprechendem Blutungsrisiko. Die Pathogenese ist bisher nicht befriedigend geklärt. Überwiegend betroffen sind Frauen, meistens mit Schwangerschaften und Bluttransfusionen in der Anamnese. Offensichtlich werden im Empfänger Antikörper

gegen transfundierte Thrombozytenantigene gebildet, die auch gegen die körpereigenen Thrombozyten wirken.

Die passive alloimmune Thrombozytopenie wird dagegen durch Alloantikörper im Plasma von Blutprodukten, auch von Erythrozytenkonzentraten, gegen Antigene auf Empfängerthrombozyten ausgelöst. Sie führt zu einer sofortigen reversiblen Thrombozytopenie. Aufgrund der selten dokumentierten Fälle gibt es bisher keine Hinweise darauf, ob solche Ereignisse durch Thrombozytenreduktion in Erythrozytenkonzentraten vermeidbar sind.

### **4.3 Weitere Nebenwirkungen durch Lagerungseffekte**

Außerhalb des Organismus kommt es zu komplexen Veränderungen der Erythrozyten, die aber zumeist innerhalb von 24-48 Stunden nach der Transfusion reversibel sein sollen (Mollison, P. L. et al 1993). Biochemische und metabolische Veränderungen führen zu Formveränderungen und in der Folge zu Störungen der rheologischen Eigenschaften (Mansouri Taleghani, B. et al 1996). Mittlerweile geht man davon aus, dass diese vorwiegend Alterungsschäden sind (Kleine, N. 1988).

Neben den bereits beschriebenen gibt es weitere Beeinträchtigungen, die nur aufwendig messbar sind und sich daher der routinemäßigen Überprüfung entziehen.

#### **4.3.1 Rheologische Veränderungen**

Eine Reihe von rheologischen Veränderungen in vitro sind bekannt, die Auswirkungen im Empfänger sind mit den bisherigen Messmethoden jedoch in vivo schwer nachweisbar, aber nicht auszuschließen. Rheologische Untersuchungen sind methodisch besonders aufwendig, daher ist der Einfluss auf die Klinik wenig untersucht. Bisher konnten nach der Transfusion keine Unterschiede von rheologischen Parametern durch Erythrozytenkonzentrate in verschiedenen Additivlösungen gefunden werden, auch nicht im Vergleich zu Nichttransfundierte (Mörsdorf, S. et al 2001).

Die Erythrozytenrigidität ist erhöht, das heißt, die Erythrozytenverformbarkeit nimmt ab, die klinische Bedeutung ist jedoch nicht geklärt (Mansouri Taleghani, B. et al 1996; Zilow, E. P. et al 1996). In Versuchen wurde in Messkapillaren eine verlängerte

Passagezeit nachgewiesen, woraus man auf eine verlängerte Kapillarpassage auch in vivo schließt mit einer hierdurch verschlechterten Gewebeversorgung (Pindur, G. et al 2001; Jung, F., Kiesewetter, H. 1995). Bekannt ist, dass eine mangelnde Erythrozytenverformbarkeit zur vorzeitigen Zellaussortierung im Empfänger führt (Mollison, P. L. et al 1993). Aufgrund vielschichtiger Wechselwirkungen in der Mikrozirkulation besteht jedoch nur eine lockere Beziehung zwischen in vitro-Messungen und dem Fließverhalten in vivo.

### **4.3.2 Mikroaggregate**

Mit zunehmender Lagerungsdauer nehmen Mikroaggregate mit Durchmessern von 10-170  $\mu\text{m}$  zu (Jung, F., Kiesewetter, H. 1995). Diese können sowohl Mikroaggregatfilter verstopfen und zu einer verlängerten Einlaufgeschwindigkeit führen (Napier, J. A. F. et al 1985), als auch durch die Poren der herkömmlichen Standardfilter mit Porengröße 170-230  $\mu\text{m}$  gelangen und die Strombahnen blockieren.

Mikroaggregate bestehen aus abgestorbenen Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten, die Zytokine und andere vasoaktiv schädigende Stoffe freisetzen.

In Messkapillaren können Mikroaggregate zu irreversiblen Blockierungen führen (Pindur, G. et al 2001). Die Bedeutung der Mikroaggregate ist nicht abschließend geklärt, vorwiegend waren sie ein Problem bei Vollblutgabe. Nachweislich verursachten sie Störungen der Mikrozirkulation in der Lunge (Transfusionslunge), aber auch in Gehirn, Milz, Leber und Niere (Mörsdorf, S. et al 2001). Zu ihrer Vermeidung wurden Mikrofilter empfohlen mit 10-40  $\mu\text{m}$  Porengröße. Diese führen jedoch zu einer verlangsamten Fließgeschwindigkeit, das Hämolyserisiko ist zudem erhöht.

Durch buffy coat-freie Präparation gelingt bereits eine signifikante Reduktion der Mikroaggregate und eine Minderung ihrer Transfusionsnebenwirkungen (Pindur, G. et al 2001), Problem sind allerdings hohe Schwankungen mit großen verbleibenden Restmengen im Einzelfall (Klose, R. et al 1981). Die Senkung der Mikroaggregate durch Leukozytendepletion ist in buffy coat-reduzierten Erythrozytenkonzentraten nicht so eindrucksvoll gebessert wie in Vollblut (Mansouri Taleghani, B. et al 2001).

### 4.3.3 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG)

2,3-DPG fällt bereits nach 2-3 Wochen Lagerung stark ab, auch in den derzeit verfügbaren Additivlösungen (Högman, C. F. et al 1985; Mansouri Taleghani, B. et al 2001; Hasibeder, W. et al 1988). Bisher gibt es keine akzeptablen, in der Routine anwendbaren Methoden, 2,3-DPG über mehrere Wochen zu erhalten (Matthes, G. et al 1994). Die Zugabe von Purinen und Nukleosiden, insbesondere von Guanosin, bewirkt allenfalls eine initiale 2,3-DPG-Erhöhung, eine zu hohe Adeninmenge mindert 2,3-DPG (Högman, C. F. 1982).

2,3-DPG wird in Erythrozyten in größeren Mengen als in anderen Zellen gebildet. Es ist als Cofaktor an der anaeroben Glykolyse beteiligt, dient der Stabilisierung des Hämoglobins und fördert die Sauerstoffabgabe.

2,3-DPG bindet reversibel zwischen den Betaketten des sauerstofffreien Hämoglobins, wodurch die Sauerstoffbindung am Hämoglobin gelockert wird. Sauerstoff wird dadurch leichter in das Gewebe abgegeben. 2,3-DPG liegt normalerweise in der gleichen Menge wie Hämoglobin vor, normal sind 13-15  $\mu\text{mol/g}$  Hämoglobin (Mollison, P. L. et al 1993).

Die für den Aufbau zuständige DPG-Mutase ist bei pH-Werten über 6,8 aktiv, während bei niedrigeren pH-Werten die für den Abbau zuständige 2,3-DPG-Phosphatase aktiviert wird, folglich kommt es bei pH-Werten unter 6,8 zu einem starken 2,3-DPG-Abfall. Die Halbwertszeit der Synthese beträgt 6 Stunden.

Ein 2,3-DPG-Verlust führt zu einer festeren Sauerstoffbindung an das Hämoglobin (höhere Sauerstoffaffinität), Sauerstoff wird schlechter in das Gewebe abgegeben. Dieser Effekt wird durch Hypothermie durch viele gekühlte Erythrozytenpräparate noch verstärkt.

Welche Rolle 2,3-DPG-verarmte Erythrozyten im Empfängerkreislauf wirklich spielen, ist noch nicht hinreichend geklärt, da es im Körper eine Reihe von Kompensationsmechanismen gibt. Denkbar wäre aber eine Beeinträchtigung bei Erschöpfung der Kompensationsmechanismen. Ein Zusammenhang wurde nachgewiesen bei eingeschränkter kardialer Leistungsbreite und Massivtransfusionen (Kretschmer, V., Weippert-Kretschmer, M. 2004).

Bereits 24 Stunden nach der Transfusion liegen 50-70% der Normalwerte vor, nach einer Woche ist 2,3-DPG wieder normalisiert (Sachs, U., Bux, J. 2004).

Durch Inline-Filtration wird eine Entkoppelung des 2,3-DPG-Gehaltes vom Halbsättigungsdruck des Hämoglobins bewirkt, dieser steigt an (Matthes, G. et al 1994). Wahrscheinlich beeinflussen weitere Faktoren die Hämoglobin-Sauerstoff-Affinität (Hasibeder, W. et al 1988). Bekannt ist ein Effekt von ATP (Adenosintriphosphat), vermutet wird ein Einfluss von Weichmachern aus den Kunststoffbeuteln, die in gelöster Form von den Erythrozyten aufgenommen werden.

#### **4.4 Lagerungszeit als Qualitätskriterium**

Die erforderlichen Qualitätsnormen können mit den heutigen Konservierungsmethoden auch nach langen Lagerungszeiten erfüllt werden. Durch Standardisierung der Herstellungsabläufe ist eine gleichbleibende Qualität von Blutprodukten zu erreichen. Dennoch gibt es in der Literatur immer wieder die Empfehlung, Erythrozytenpräparate mit kurzen Lagerungszeiten zu verwenden.

Patienten mit chronischer Anämie oder mit Niereninsuffizienz sollten kurz gelagerte Blutkonserven erhalten, um längere Transfusionsintervalle zu erzielen (Walther-Wenke, G. et al 2001), gleichzeitig wird die Kaliumbelastung gemindert.

Bestrahlte Präparate werden nach kurzer Lagerungszeit angewendet wegen der strahlungsbedingten extrazellulären Kaliumerhöhung (Bundesministerium für Gesundheit 1993).

Für Massivtransfusionen werden frische Erythrozytenkonzentrate empfohlen, um die Säurebelastung zu verringern und wegen der 2,3-DPG-Verarmung (Diphosphoglycerat) mit dadurch verzögerter Sauerstoffabgabe (Lachtermann, E., Zander, R. 2001; Zander, R., Sumpelmann, R. 2001). Dies mindert gleichzeitig die Kaliumzufuhr.

Die Transfusion nach kurzer Lagerungszeit ist ein Qualitätskriterium, welches mit den heutigen Möglichkeiten der Logistik zwischen Produkthersteller und Krankenhaus als Anwender angestrebt werden sollte. Wünschenswert sind Organisationsstrukturen, die kurze Lagerungszeiten ermöglichen. Die heutigen technischen Möglichkeiten können so genutzt werden, um Erythrozytenpräparate mit längerer Lebensfähigkeit und besserer Funktion bereitstellen zu können.

Das Gesamthämoglobin repräsentiert die therapeutische Dosis, jedoch nur im lebensfähigen Erythrozyten. Die Lebensfähigkeit der gesunden Erythrozyten beträgt in vivo

120 Tage. Sie wird durch Kühlung und Lagerung in Additivlösung nicht wesentlich verlängert. Rechnerisch bedeutet das einen Erythrozytenverlust pro Lagerungstag von fast 1%, sodass am Ende der Lagerungszeit rechnerisch schon 2 Erythrozytenkonzentrate transfundiert werden müssten, um diesen Erythrozytenverlust auszugleichen.

Inwieweit nicht-lebensfähige Erythrozyten im Empfänger Nachteile bewirken, ist bisher nicht untersucht. Man weiß, dass die in der Konserve vorhandenen abgestorbenen oder lädierten Erythrozyten in den ersten 24 Stunden nach der Transfusion im Empfängerorganismus abgebaut werden (Sachs, U., Bux, J. 2004). Starke Normabweichungen von der Erythrozytenverformbarkeit führen ebenfalls zur Zellaussortierung im Empfänger (Mollison, P. L. et al 1993). Dies passiert vorwiegend extravasal im RES (retikuloendotheliales System = Milz, Leber, Knochenmark) durch Makrophagen und Monozyten, circa 10-20% der Erythrozyten werden durch intravasale Hämolyse mit Freisetzen des Hämoglobins abgebaut. Die restlichen Erythrozyten rekonstituieren sich in dieser Zeit und altern normal. Daher wird gefordert, dass mehr als 75% der transfundierten Erythrozyten nach 24 Stunden im Empfängerkreislauf vorhanden sein müssen (Bundesministerium für Gesundheit 1995).

## 5 Zusammenfassung

Ausgewertet wurden die im Rahmen der Qualitätskontrolle am Zentrum für Transfusions-medicin Münster archivierten Daten von Erythrozytenkonzentraten der Jahre 1985-2004 (Volumen, Hämatokrit, Gesamthämoglobin, extrazelluläres Hämoglobin, Hämolyserate, Adenosintriphosphat, Leukozyten, Kaliumkonzentration, pH-Wert und Thrombozyten) unter besonderer Berücksichtigung der zeitlichen Zusammenhänge zu veränderten Aufbereitungsmethoden.

Zunächst wurden Erythrozytenkonzentrate bis zu 4 Wochen in CPD-Plasma-Lösung gelagert, mit der Einführung der Additivlösungen SAGM und PAGGSM wurden günstige Hämatokritwerte unter 0,7 l/l erreicht und längere Lagerungszeiten bis zu 5, beziehungsweise 6 Wochen ermöglicht.

Während eine Reduktion der Thrombozytenkontamination durch Abreicherung im Buffy Coat zunehmend auf unter 10% der Ausgangsmenge möglich war, gelang eine signifikante Leukozytenreduktion erst durch Einführung von Inline-Filtern. Eine in der Literatur hierdurch postulierte günstige Beeinflussung anderer Qualitätsparameter konnte nicht überzeugend dargestellt werden.

Bei integrierender Betrachtung der erhobenen Qualitätsdaten über die Jahre bleibt festzuhalten, dass eine ausreichende Menge überwiegend voll funktionsfähiger Erythrozyten jeweils zur Verfügung stand. Änderungen der Herstellungsverfahren hatten letztlich Änderungen unterschiedlicher Gehalte an Plasma, Leukozyten, Thrombozyten oder der Lagerungslösung zur Folge. Ermöglicht werden längere Lagerungszeiten. Die Anforderungen an die Erythrozytenqualität werden mit den heutigen technischen Möglichkeiten auch bei längeren Lagerungszeiten erfüllt.

Mögliche Bedeutungen und klinische Auswirkungen, wie in der Literatur beschrieben, wurden diskutiert. Berücksichtigt man bekannte Lagerungsschäden und ihre Nebenwirkungen, ist eine Qualitätssteigerung möglich durch Erythrozytengabe nach möglichst kurzen Lagerungszeiten.

## 6 Literaturverzeichnis

- (1) Andreu, G., Dewailly, J. (1994): Prevention of HLA alloimmunisation by using leucocyte-depleted components, *Curr. Stud. Hematol. Blood Transfus.* 60, p. 29
- (2) Benedum, J. (2000): Geschichte der Bluttransfusion  
In: Müller-Eckhardt, C., Kiefel, V. (Hrsg.): *Transfusionsmedizin*  
3. überarbeitete Auflage; S. 4-16., Berlin: Springer Verlag
- (3) Bodemann, H. H., Bross, K., Löhr, G. W. (1988): Blutbild  
In: Thomas, L. (Hrsg.): *Labor und Diagnose*  
3. Auflage; S. 531-586., Marburg: Medizinische Verlagsgesellschaft
- (4) Bordin, J. O., Heddle, N. M. (1994): Biologic effects of leucocytes present in transfused cellular blood products, *Blood* 84, pp. 703-721
- (5) Bronstein, I. N., Semendjajew, K. A. (1983): *Taschenbuch der Mathematik*  
Nachdruck der 20. Auflage, herausgegeben von Grosche, G., Ziegler, V.; S. 715-732  
Verlag Harri Deutsch, Thun und Frankfurt/Main
- (6) Bundesärztekammer, Wissenschaftlicher Beirat und Paul-Ehrlich-Institut (1996, 2000, 2003): *Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion (Hämotherapie)* Köln: Deutscher Ärzteverlag
- (7) Bundesärztekammer, Vorstand und wissenschaftlicher Beirat (1995, 2001, 2003): *Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten*  
Köln: Deutscher Ärzteverlag
- (8) Bundesministerium für Gesundheit: *Empfehlungen des Europarates und der Weltgesundheitsorganisation zu Blut und Blutzubereitungen* (1993, 1995)  
Köln: Bundesanzeiger Verlag

- (9) Council of Europe: Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components  
4<sup>th</sup> (1998), 5<sup>th</sup> (1999) and 6<sup>th</sup> (2000) edition, Straßburg: Council of Europe Press
- (10) Dörner, R. (1990): Gezielte Hämotherapie unter besonderer Berücksichtigung der zellulären Bestandteile Dtsch. med. Wschr. 115, S. 1066-1072
- (11) Enzmann, V., Nowak, W., Sarubin, J. (1984): Erythrozytenkonzentrate statt Vollblutkonserven auch in der operativen Medizin, Anästh. Intensivmed., 25, S. 149-162
- (12) Fagiolo, E., Littaru, G. P., Lippa, S., Pelliccetti, A., Meres, N. (1987): Biochemistry of packed red blood cell concentrates stored in PAGGS-sorbitol solution for 42 days, Vox. Sang. 52, pp. 301-304
- (13) Harbrecht, U., Hanfland, E., Hanfland, P., Hoch, J. (2005): On the timing of gamma-irradiation of RBC, Transfus. Med. Hemoth. 32, (suppl. 1), pp. 1-92
- (14) Hasibeder, W., Hönlinger, M., Schobersberger, W. (1988): Sauerstofftransportfunktion in Erythrozytenkonzentraten: ein Vergleich zwischen in CPDA-1 und in PAGGS-Sorbit gelagerten Erythrozyten, Beitr. Infusionsther. 21 S. 49-52
- (15) Högman, C. F., Hedlund, K., Akerblom, O., Venge, P. (1978): Red blood cell preservation in protein-poor media. 1. Leucocyte enzymes as a cause of hemolysis Transfusion 18, pp. 233-241
- (16) Högman, C. F., Hedlund, K., Sahleström, Y. (1981): Red cell preservation in protein-poor media. 3. Protection against in vitro hemolysis Vox. Sang. 41, pp. 274-281

- (17) Högman, C. F. (1982): Anticoagulants and additives, *Biotest. Bulletin* 2, pp. 99-105
- (18) Högman, C. F., Akerblom, O., Hedlund, K., Rosen, I., Wiklund, L. (1983): Red cell suspensions in SAGM-Medium, *Vox. Sang.* 45, pp. 217-223
- (19) Högman, C. F., de Verdier, C.-H., Ericson, A., Hedlund, K., Sandhagen, B. (1985): Studies on the mechanism of human red cell loss of viability during storage at 4°C, in vitro *Vox. Sang.* 48, pp. 257-268
- (20) Högman, C. F., Meryman, H. T. (1999): Storage parameters affecting red blood cell survival and function after transfusion, *Transfus. Med. Rev.* 13, pp. 275-296
- (21) Jung, F., Kiesewetter, H. (1995): Qualität von Erythrozytenkonzentraten aus rheologischer Sicht, *Infusionsth. Infusionsmed.* 22 (Suppl. 1), S. 51-53
- (22) Kiefel, V. (2004): Nichtinfektiöse unerwünschte Wirkungen  
In: Müller-Eckhardt, C., Kiefel, V. (Hrsg.): *Transfusionsmedizin*  
3. überarbeitete Auflage; S. 580-596, Springer Verlag Berlin
- (23) Kleine, N. (1988): Möglichkeiten und Grenzen der Rejuvenation zur Verlängerung der Lagerungszeit bzw. Qualitätssteigerung von Blutkonserven, *Beitr. Infusionsther.* 21, S. 68-73
- (24) Klose, R., Czaika, A., Müller, A. (1981): Mikroaggregate in buffy coat-freien Erythrozyten-konzentraten, *Anaesthesist* 30, pp. 415-420
- (25) Kretschmer, V., Khan-Blouky, K., Biermann, E. Söhngen, D., Eckle, R. (1988): Improvement of blood component quality-automatic separation of blood components in a new bag system, *Infusionstherapie* 15, pp. 232-239

- (26) Kretschmer, V., Weippert-Kretschmer, M. (2004): Notfall- und Massivtransfusion  
In: Müller-Eckhardt, C., Kiefel, V. (Hrsg.): Transfusionsmedizin. 3. überarbeitete  
Auflage, S. 478-488. Berlin: Springer Verlag
- (27) Lachtermann, E., Zander, R. (2001): Milchsäure-Bildung und Verteilung in  
Erythrozytenkonzentraten, Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther. 36,  
(Suppl. 1), S. 31-33
- (28) Lefevre, H., Walther-Wenke, G., Burkhard, J. (1999): Leukozytendepletion  
Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz 42, S. 121-131
- (29) Leikola, J. (1996): Die Geschichte der Bluttransfusion  
In: Strengers, P. W., van Aken, W. G. (Hrsg): Blut - von der Magie zur  
Wissenschaft  
S. 1-18. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag
- (30) Mansouri Taleghani, B., Großmann, R., Waltenberger, G., Geise, W., Langer, R.,  
Henrich, H. A., Wiebecke, D. (1996): Lagerungsbedingte rheologische und bio-  
chemische Veränderungen von Erythrozytenkonzentraten in additiver Lösung und  
deren mögliche Zusammenhänge  
Beitr. Infusionsther. Transfusionsmed. 33, S. 141-144
- (31) Mansouri Taleghani, B., Langer, R., Großmann, R., Opitz, A., Halbsguth, U.,  
Buchheister, A., Schuler, S., Bachthaler, R., Wiebecke, D. (2001): Verbesserung der  
biochemischen und rheologischen Qualität von Vollblut und  
Erythrozytenkonzentraten durch Leukozytendepletion vor Lagerung, Anästhesiol.  
Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther. 36 (Suppl. 1), S. 11-19
- (32) Matthes, G., Richter, E., Tofote, U., Kucera, W., Lerche, D. (1994): Metabolische  
und rheologische Veränderungen bei der hypothermen Langzeitlagerung von  
Erythrozytenkonzentraten über 15 Wochen, Beitr. Infusionsther. Transfusionsmed.  
32, S. 34-40

- (33) Matthes, G., Bäumler, H., Krause, K. P., Tofote, U., Knippel, W., Budde, A., Donath, A., Kiewewetter, H. (1996): Mechanismen der metabolischen Veränderungen nach einer In-Line-Filtration von roten Blutzellen, Beitr. Infusionsther. Transfusionsmed. 33, S. 130-135
- (34) Mollison, P. L., Engelfriet, C. P., Contreras, M. (1993): Blood transfusion in clinical medicine  
Ninth Edition; Oxford: Blackwell Scientific Publications
- (35) Mörsdorf, S., Fritsch, E., Schenk, J. F., Meiss, C., Pindur, G., Seyfert, U. T. (2001): Klinische hämorheologische Daten von Erythrozyten-Konzentraten in additiver Lösung in vivo, Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther. 36 (Suppl. 1), S. 42-44
- (36) Müller, N. (1996): In-line filtration of SAG-M red cell concentrates prepared in top/ bottom or conventional bag systems, Beitr. Infusionsther. Transfusionsmed. 33, pp. 121-124
- (37) Müller, N. (2003): Pathophysiology of leuco-depleted blood components: metabolic aspects.  
In: Rossi, U., Garcia de Villaescusa, R. (Eds.): Universal leucodepletion: the european experience, pp. 117-124, Milano: Edizioni SIMTI
- (38) Müller-Plathe, O. (1988): Säure-Basen-Gleichgewicht und Blutgase  
In: Thomas, L. (Hrsg): Labor und Diagnostik,  
3. Auflage; S. 296-316. Marburg: Medizinische Verlagsgesellschaft
- (39) Müller-Steinhardt, M., Janetzko, K., Kirchner, H., Klüter, H. (1997): Einfluss von Vollblutpräparation und Leukozytenfiltration auf die Lagerung von Erythrozytenkonzentraten über 42 Tage, Beitr. Infusionsther. Transfusionsmed. 34, S. 53-57

- (40) Mynster, T., Nielsen, H. J. (2000): Prestorage leucofiltration of red blood cell suspensions modulates storage time-dependent suppression of in vitro cytokine release, *Infus. Ther. Transfus. Med.* 27, pp. 244-249
- (41) Myritz, H.-D. (2005): Risikokommunikation- Analyse von Transfusionsreaktionen nach Ursachen, Schweregraden und Verlauf über einen Beobachtungszeitraum von 14 Jahren  
Inaugural-Dissertation der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen
- (42) Napier, J. A. F., Ashford, P. R., Hayward, M. M. (1985): What is the „optimum“ optimal additive solution?, *Vox. Sang.* 49, pp. 315-318
- (43) Offergeld, R., Pauli, G., Burger, R. (2005): Variante der Creutzfeld-Jakob-Erkrankung (vCJK) und Transfusionsmedizin, *Hämotherapie* 4, S. 40-51
- (44) Pindur, G., Seiffge, D., Franke, R. P., Seyfert, U. T., Jung, F. (2001): Qualität von Erythrozytenkonzentraten in Additivlösungen - Evaluierung mit Hilfe hämorrheologischer Messmethoden, *Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 36, (Suppl. 1), S. 6-10
- (45) Riggert, J. (2000): Nutzen der Leukozytendepletion von Blutprodukten  
In: DRK-Blutspendedienst Nordrhein-Westfalen (Hrsg): Beiträge zur Transfusionsmedizin, S. 13-23, Heft 19
- (46) Sachs, U., Bux, J. (2004): Gewinnung, Herstellung und Lagerung von Blut und Blutkomponenten  
In: Müller-Eckhardt, C., Kiefel, V. (Hrsg.): Transfusionsmedizin, 3. überarbeitete Auflage, S. 247-270, Berlin: Springer Verlag
- (47) Sachs, V. (1984): Hämotherapie - ein Leitfaden, *Ärztl. Lab.* 30, S. 204-220

- (48) Sibrowski, W., Cassens, U. (1998): Einfluss von Lagerung und Konservierung auf die Qualität von Blutzellen, *Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 33, S. 673-675
- (49) Sipurzynski-Budraß, S., Helmberg, W., Lanzer, G. (2001): Bestimmung der Lagerungsparameter von Erythrozytenkonzentraten mit einem Multiparameter-Elektroden-Mess-System, *Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 36, (Suppl. 1), S. 51-54
- (50) Spielmann, W., Seidl, S. (1974): Summary of clinical experiences in Germany with preservative-anticoagulant solutions with new additives  
In: Greenwalt, T. J., Jamiesson, G. A. (Eds.), *The human red cell in vitro*, pp. 281-321, New York: Grune and Stratton
- (51) Stellungnahme des Arbeitskreises Blut des Bundesgesundheitsministers für Gesundheit (1999)  
*Gesundheitsforsch. – Gesundheitsschutz* 42, S. 89-92
- (52) Sümpelmann, R., Zander, R. (2001): Gelatine schützt Erythrozyten in vitro und in vivo vor mechanischer Belastung, *Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.* 36, (Suppl. 1), S. 61-67
- (53) Thomas, L. (1988): Plasmaproteine und "passenger" proteins  
In: Thomas, L. (Hrsg.): *Labor und Diagnose*  
S. 652-713, Marburg: Medizinische Verlagsgesellschaft
- (54) Valeri, C. R., Pivacek L. E., Palter, M., Dennis, R. C., Yeston, N., Emerson, C. P., Altschule, M. D. (1988): A clinical experience with Adsol preserved erythrocytes, *Surg. Gyn. Obst.* 166, pp. 33-46

- (55) Walb, D., Thomas, L. (1988): Wasser- und Elektrolythaushalt,  
In: Thomas, L. (Hrsg.): Labor und Diagnose,  
S. 257-294. Marburg: Medizinische Verlagsgesellschaft
- (56) Walther-Wenke, G., Oehler, M., Böcker, W. (2001): Extrazelluläres Kalium in  
filtrierten und bestrahlten Erythrozytenkonzentraten- Messwerte und ihre Bedeutung  
Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther. 36 (Suppl. 1), S. 20-24
- (57) Walther-Wenke, G., Walker, W. H. (2002): Etablierung der leukozytendepletierten  
autologen Vollblutkonserve, Notfallmed. Schmerzther. 37, S. 686-688
- (58) Zander, R., Sumpelmann, R. (2001): Säure-Basen-Status gelagerter und  
gewaschener Erythrozyten, Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther. 36  
(Suppl. 1), S. 25-30
- (59) Zilow, E. P., Zilow, G., Ruef, P., Linderkamp, O. (1996): Rheologische  
Veränderungen gelagerter Erythrozytenkonzentrate, Beitr. Infusionsther.  
Transfusionsmed. 33, S. 136-140

## Danksagung

Ein wichtiges Anliegen ist mir, all jenen zu danken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Zunächst möchte ich Frau Dr. Gabriele Walther-Wenke vom Zentrum für Transfusionsmedizin Münster des DRK-Blutspendedienstes West für die Themenstellung und die Durchsicht dieser Arbeit danken. Herrn Professor Dr. Norbert Müller vom Institut für Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums in Essen danke ich für die freundliche Betreuung und inhaltlichen Anregungen. Herrn Priv.-Doz. Dr. J. Dürig danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Frau Öhler und Frau Brüning vom Zentrum für Transfusionsmedizin Münster für Rat und Zeit bei der Beschaffung der notwendigen Unterlagen.

Ein großes Lob möchte ich meinen Kindern Fabian und Sarah zollen, die mir ohne zu murren die notwendige Zeit ließen und die mich mit Tee und Keksen, wann immer nötig, versorgten. Danke für eure große Geduld und euer großes Verständnis.

Ein ganz besonderes Dankeschön gilt meinen 3 Brüdern, die jederzeit trotz der großen räumlichen Entfernungen, für Rat und Tat zu beinahe jeder Tages- und Nachtzeit im Umgang mit den Tücken der Hard- und Software (3 Totalabstürze!) zur Verfügung standen. Meinen Eltern bin ich dankbar für die stetige Ermutigung und die Schaffung der notwendigen Freiräume.

Birgit Voges-Hage,

Bad Pyrmont im Mai 2007

## Lebenslauf

Birgit Voges-Hage

Bad Pyrmont

Allgemein	Geb. 17.2.61 in Göttingen Familienstand verwitwet, 2 Kinder Staatsangehörigkeit deutsch
Schulbildung	1967-1971 Grundschule Bad Pyrmont 1971-1980 Humboldt-Gymnasium Bad Pyrmont
Studium	1980/81 Zwei Semester Sozialwissenschaften in Göttingen 1981/82 Beginn des Studiums der Medizin in Göttingen 1987/88 Praktisches Jahr in Westerstede mit den Fächern Innere Medizin, Chirurgie und Neurologie 05/88 Beendigung des Studiums der Medizin mit dem 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Berufspraxis	10/88-07/91 Assistenzärztin an der Fachklinik Friedrichshöhe der Landesversicherungsanstalt Hannover in Bad Pyrmont 08/91-01/92 Assistenzärztin an der Klinik „Der Fürstenhof“, Klinik für Stoffwechselkrankheiten des Skelettsystems, Endokrinologie, Orthopädie und Gynäkologie in Bad Pyrmont 07/92-09/93 Assistenzärztin an der Rose Klinik, Orthopädische Rehabilitationsklinik in Bad Meinberg 09/93-12/97 Erziehungsurlaub seit 1/98 Entnahmeärztin beim DRK-Blutspendedienst West, Zentrum für Transfusionsmedizin Münster