

Aus der Klinik für Anästhesiologie m. S. operative Intensivmedizin  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Assoziation von Lagerungsdauer der transfundierten  
Erythrozytenkonzentrate und Outcome von Patientinnen und  
Patienten mit ARDS

Association of Red Cell Storage Duration and Outcome  
in Patients with ARDS

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Victoria Wenshan Bünger

aus Bonn

Datum der Promotion: 25.06.2023



## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	i
Tabellenverzeichnis.....	iii
Abbildungsverzeichnis.....	iv
Abkürzungsverzeichnis.....	v
Zusammenfassung .....	1
Abstract .....	3
1 Einleitung.....	5
1.1 Erythrozyten.....	5
1.1.1 Hämolysen und Abbauprodukte von Erythrozyten.....	6
1.2 Transfusion von Erythrozytenkonzentraten .....	7
1.2.1 Konservierung und Behandlung von Erythrozyten.....	8
1.2.2 Veränderungen von Erythrozytenkonzentraten über die Lagerungsdauer.....	9
1.3 Akutes Lungenversagen (ARDS).....	9
1.3.1 Pathophysiologie des ARDS .....	10
1.3.2 Therapie des ARDS .....	11
1.3.3 Transfusion von Erythrozytenkonzentraten bei ARDS.....	11
1.4 Stand der Forschung .....	12
1.5 Fragestellung .....	13
2 Methodik.....	14
2.1 Studienplanung .....	14
2.1.1 Studienpopulation.....	14
2.1.2 Endpunkte .....	15
2.2 Datenerhebung .....	15
2.2.1 Patientendaten .....	15
2.2.2 Beatmungs- und Laborparameter .....	16
2.2.3 Transfusionsdaten.....	16

---

2.3 Statistische Auswertung.....	16
3 Ergebnisse.....	18
3.1 Primäre und Sekundäre Endpunkte.....	23
3.1.1 28-Tage-Mortalität.....	23
3.1.2 Sekundäre Endpunkte.....	24
3.2 Gruppierung nach maximaler Lagerungsdauer .....	26
4 Diskussion .....	30
4.1 Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse.....	30
4.2 Interpretation der Ergebnisse.....	30
4.3 Einbettung der Ergebnisse in den bisherigen Forschungsstand.....	31
4.4 Limitationen.....	32
4.5 Implikationen für Praxis und/oder zukünftige Forschung .....	33
5 Schlussfolgerungen .....	34
Literaturverzeichnis .....	35
Eidesstattliche Versicherung .....	42
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen .....	43
Auszug aus der Journal Summary List.....	44
Druckexemplar der Publikation.....	47
Lebenslauf.....	59
Komplette Publikationsliste.....	60
Danksagung .....	61

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Patientencharakteristika (modifiziert nach <sup>69</sup> ). .....	19
Tabelle 2: Transfusionsparameter (modifiziert nach <sup>69</sup> ).....	21
Tabelle 3: Patientencharakteristika. Gruppierung nach maximaler Lagerungsdauer (modifiziert nach <sup>69</sup> ). .....	26
Tabelle 4: Transfusionsparameter. Gruppierung nach maximaler Lagerungsdauer (modifiziert nach <sup>69</sup> ). .....	28

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Flussdiagramm Patienteneinschluss (modifiziert nach <sup>69</sup> ).....	18
Abbildung 2: Transfusionscharakteristika der beiden Gruppen. A: Verteilung des Hämoglobinwerts bei ARDS-Beginn, B. durchschnittliche Transfusionstrigger, C. Zeit zwischen ARDS-Beginn und der ersten Transfusion, D. Transfusionsvolumen, E. Verteilung der durchschnittlichen Lagerungsdauer pro Patientin oder Patient in beiden Gruppen (modifiziert nach <sup>69</sup> ). .....	22
Abbildung 3: A. Primärer Endpunkt. B. Zensierte Patientinnen und Patienten der 28-Tage-Mortalität (modifiziert nach <sup>69</sup> ). .....	23
Abbildung 4: Sekundäre Endpunkte. A. Frei von invasiver Beatmung. B. Frei von Sedierung. C. Frei von Nierenersatzverfahren. D. Frei von Vasopressoren. E. Zensierte Patientinnen und Patienten des Ereignisses „Frei von Nierenersatzverfahren“ (modifiziert nach <sup>69</sup> ). .....	25

## Abkürzungsverzeichnis

EK	Erythrozytenkonzentrat
pH	<i>potentia hydrogenii</i> , negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
ATP	Adenosintriphosphat
2,3-BPG	2,3-Bisphosphoglycerat (auch 2,3-Diphosphoglycerat, 2,3-DPG genannt)
ROS	<i>reactive oxygen species</i>
NO	Stickstoffmonoxid
Hb	Hämoglobin
TRALI	<i>transfusion-related acute lung injury</i>
ARDS	<i>acute respiratory distress syndrome</i>
PEEP	<i>positive end-expiratory pressure</i>
PaO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
FiO <sub>2</sub>	inspiratorische Sauerstoffkonzentration
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	Oxygenierungsindex/"Horowitz-Index"
ECLS	<i>extracorporeal life support</i>
ECMO	<i>extracorporeal membrane oxygenation</i>
CCI	<i>Charlson Comorbidity Index</i>
HR	<i>hazard ratio</i>
SHR	<i>subdistribution hazard ratio</i>
95%-KI	95% Konfidenzintervall
BMI	Body-Mass-Index
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
SAPS II	<i>Simplified Acute Physiology Score II</i>
RASS	<i>Richmond Agitation-Sedation Scale</i>
CVVHD	<i>continuous venovenous hemofiltration</i>
iHD	<i>intermittent hemodialysis</i>
FFP	<i>Fresh Frozen Plasma</i>
LD	Lagerungsdauer
RRT	<i>renal replacement therapy</i>

## Zusammenfassung

**Hintergrund:** Während der Lagerung von Erythrozytenkonzentraten (EK) durchlaufen die Erythrozyten komplexe morphologische, biochemische und funktionelle Veränderungen, die insbesondere zum Ende der erlaubten Lagerungsdauer (LD) von 42 Tagen akkumulieren. Diese als „storage lesions“ bezeichneten Veränderungen führen zu einer verschlechterten Sauerstoffabgabe im Gewebe und einem kürzeren Verbleib der transfundierten Erythrozyten in der Blutbahn. Weiterhin können die durch Hämolyse entstehenden Abbauprodukte der Erythrozyten zu Schäden an Endorganen wie der Lunge oder den Nieren führen. In dieser Arbeit wurden die Auswirkungen der Transfusion von EKs aus dem letzten Drittel der erlaubten LD auf das klinische Outcome von Patientinnen und Patienten mit ARDS analysiert.

**Methodik:** Im Rahmen dieser retrospektiven Studie wurden 283 Patientinnen und Patienten mit einem ARDS, die zwischen 2007 und 2018 in der Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum aufgenommen wurden und keine Therapie mit einem Extrakorporalen Life Support System (ECLS) erhalten hatten, inkludiert. Entsprechend der durchschnittlichen LD der in den ersten 14 Tagen nach ARDS-Beginn transfundierten EKs wurden Morbidität und Mortalität einer Kohorte mit kurzer LD ( $\leq 28$  Tage) und einer Kohorte mit langer LD ( $> 28$  Tage) verglichen. Primärer Endpunkt war die 28-Tage-Mortalität, sekundäre Endpunkte die Entwöhnung von invasiver Beatmung, Sedierung, Nierenersatzverfahren und Vasopressorengabe innerhalb der ersten 28 Tage.

**Ergebnisse:** Die durchschnittliche LD unterschied sich zwischen der Gruppe mit kurzer LD ( $n=89$ ) und der Gruppe mit langer LD ( $n=194$ ) um 12 Tage ( $20 \pm 5,4$  vs.  $32 \pm 3,1$  Tage, 95%-KI 11-13). Neben ähnlichen Basischarakteristika zeigte sich auch ein ähnliches Transfusionsvolumen (kurze LD: 5 EKs (IQR 3-10), lange LD: 4 EKs (2-8),  $P=0,14$ ). Die 28-Tage-Mortalität zwischen der Gruppe mit kurzer LD und der Gruppe mit langer LD zeigte keinen signifikanten Unterschied (HR 1,36, 95%-KI 0,84–2,21,  $P=0,21$ ). Auch für die Entwöhnung von der invasiven Beatmung, der Sedierung und der Vasopressorengabe konnten keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen beobachtet werden. In der Kohorte mit der langen LD konnte eine im Vergleich zu der Kohorte mit kurzer LD 75% niedrigere Wahrscheinlichkeit für die erfolgreiche Entwöhnung von Nierenersatzverfahren detektiert werden (SHR 0,24, 95%-KI 0,1-0,55,  $P<0,001$ ). Schon die Transfusion eines EKs mit langer LD wirkte sich negativ auf die Wahrscheinlichkeit einer Entwöhnung von Nierenersatzverfahren aus (SHR 0,5, 95%-KI 0,3-0,85,  $P=0,01$ ).

**Zusammenfassung:** Bei Patientinnen und Patienten mit ARDS ist die Transfusion von EKs aus dem letzten Drittel der erlaubten LD nicht mit einem signifikanten Anstieg der Mortalität assoziiert. Allerdings scheint ein Zusammenhang zwischen der Transfusion von EKs mit einer langen LD und einer längeren Abhängigkeit von Nierenersatzverfahren innerhalb der ersten 28 Tage nach ARDS-Beginn zu bestehen.

## Abstract

**Background:** Red blood cells undergo complex functional and morphologic changes during storage. These storage lesions accumulate towards the end of the allowed storage period of 42 days. The decline of form and function is followed by an impaired oxygen delivery and a shorter circulation time after transfusion. Additionally, the contents of hemolyzed red cells and their degradation products can cause damage in susceptible organs like lung and kidney. Short-term outcome after transfusion of packed red blood cells (PRBCs) with a focus on the last third of the recommended storage duration was analyzed in patients with Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS).

**Methods:** 283 ARDS patients admitted to the Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum between 2007 and 2018 who did not receive extracorporeal life support (ECLS) were included in this retrospective study. Patients were divided into two groups according to the mean storage duration of all PRBC units transfused in the first 14 days after ARDS onset, resulting in a comparison of morbidity and mortality of a short-term storage group ( $\leq 28$  days) with a long-term storage group ( $> 28$  days). Short-term mortality (within 28 days after ARDS onset) was chosen as primary endpoint. Secondary endpoints were the failure-free days composites free from mechanical ventilation, sedation, renal replacement therapy (RRT) and vasopressors assessed for the same 28 day period.

**Results:** The short-term storage group ( $n=89$ ) differed from the long-term storage group ( $n=194$ ) in the mean storage duration by 12 days ( $20 \pm 5.4$  vs.  $32 \pm 3.1$  days, 95%-CI 11-13). Baseline characteristics and transfusion volume were similar (short-term storage group: 5 units (IQR, 3-10), long-term storage group: 4 units (2-8),  $P=0.14$ ). No significant difference was detected in the primary endpoint of 28-day mortality between the short-term storage group and the long-term storage group (hazard ratio 1.36, 95% CI 0.84–2.21,  $P=0.21$ ). Additionally, no differences were observed between the groups for the secondary endpoints ventilator-free, sedation-free, and vasopressor-free days.

The secondary endpoint of successful weaning from RRT within 28 days after ARDS onset was met significantly less - with a 75% lower chance - by patients in the long-term storage group compared to the short-term storage group (subdistribution hazard ratio, 0.24, 95% CI 0.1-0.55,  $P<0.001$ ). Additional analysis suggested that even the transfusion of a single PRBC unit stored for a prolonged period of more than 28 days affects the chance for successful weaning from RRT (SHR 0.5, 95% CI 0.3-0.85,  $P=0.01$ ).

**Conclusions:** The transfusion of PRBCs stored for a prolonged period was not associated with a significantly higher mortality in adults with ARDS. Among the secondary endpoints, a significant association between PRBC storage time and a prolonged dependence on RRT was observed.

## 1 Einleitung

Einer der wichtigsten Stoffwechselprozesse menschlicher Zellen ist die aerobe Glykolyse. Durch eine Abfolge enzymatischer Reaktionen wird durch die aus den Substraten Glukose und Sauerstoff frei werdende chemische Energie Adenosintriphosphat (ATP) synthetisiert, welches als Energieträger in lebenswichtige zelluläre Stoffwechselprozesse eingebunden ist. Der dafür benötigte Sauerstoff wird über die Lunge aufgenommen, an das Hämoglobin im Erythrozyten gebunden und über den Blutkreislauf zu den Zellen transportiert.

Die Sauerstoffversorgung der Zellen kann auf multiplen Ebenen pathologisch gestört sein: Eine Störung des pulmonalen Gasaustauschs, eine Verringerung der Sauerstofftransportkapazität im Blut, ein eingeschränkter Blutfluss oder eine Störung des Sauerstofftransports in die Zelle hinein oder innerhalb der Atmungskette können zu einer kritischen Minderversorgung führen.

### 1.1 Erythrozyten

Die Hauptfunktionen der Erythrozyten sind der Sauerstofftransport von der Lunge in die Peripherie und der Rücktransport von Kohlenstoffdioxid. Darüber hinaus beteiligt sich das in den Erythrozyten enthaltene Hämoglobin auch an der pH-Regulierung des Blutes. Neben der Anzahl der Erythrozyten und ihrem Hämoglobingehalt hängt die Sauerstofftransportkapazität des Blutes auch von der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins ab. Die Sauerstoffaffinität ist vom Sauerstoffpartialdruck abhängig und wird über die Sauerstoffbindungskurve beschrieben. Eine sogenannte Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve, die eine erleichterte Sauerstoffaufnahme in der Lunge, aber gleichzeitig eine verschlechterte Abgabe des Sauerstoffs in der Peripherie zur Folge hat, kann durch eine Erhöhung des pH-Wertes des Blutes, eine Erniedrigung des arteriellen Kohlenstoffdioxidpartialdrucks ( $p\text{aCO}_2$ ) oder der Körpertemperatur sowie durch eine Abnahme der Konzentration von 2,3-Bisphosphoglycerat (2,3-BPG), welches über einen Nebenweg der Glykolyse in den Erythrozyten gebildet wird, verursacht werden. Physiologisch ermöglicht 2,3-BPG über die Stabilisierung des Oxyhämoglobins (Tense-Form) bei niedrigen Sauerstoffpartialdrücken eine erleichterte Sauerstoffabgabe in der Peripherie.<sup>1 2</sup>

### 1.1.1 Hämolysen und Abbauprodukte von Erythrozyten

Nach einer durchschnittlichen Lebensdauer von 120 Tagen werden 80-90% der Erythrozyten physiologisch über extravaskuläre Hämolysen im retikulären System von Milz, Knochenmark und Leber eliminiert.<sup>3</sup> Die übrigen 10-20% der Erythrozyten werden über die intravasale Hämolysen abgebaut, wobei eine Fragmentation durch Kontakt mit beeinträchtigtem Endothel, Fibrinbelägen oder durch erhöhten Scherstress als ursächlich angenommen wird.<sup>2</sup> Im Gegensatz zur extravasalen Hämolysen führt die intravasale Hämolysen zur Freisetzung des Zellinhalts der Erythrozyten in das Plasma. Unter anderem werden Kalium, Laktatdehydrogenase (LDH), Hämoglobin-Tetra- und -Dimere sowie Hämoglobin in Form von Mikropartikeln und die daraus folgenden Abbauprodukte Häm und Eisen, in die Blutbahn des Patienten freigesetzt und können dort toxische Nebenwirkungen entfalten.<sup>4,5</sup> Während intrazelluläres Hämoglobin kaum mit Strukturen jenseits der Endothelmembran interagieren kann, sind freies Hämoglobin und das aus ihm entstehende freie Häm hochreaktive Moleküle, die z.B. das Endothel durch oxidativen Stress schädigen können.<sup>6</sup> Mechanistisch geschieht dies über die Häm- und Eisen-katalysierte Bildung von reaktiven Sauerstoffradikalen (*reactive oxygen species*, ROS) in Fenton- und Haber-Weiss-Reaktionen.<sup>7,8</sup>

Darüber hinaus reduziert das zweiwertige Eisen des Oxyhämoglobins in einer äquimolaren Reaktion Stickstoffmonoxid (NO) zu Nitrat, wobei es selbst zu dreiwertigem Eisen des Methämoglobins oxidiert wird.<sup>9</sup> Es wird angenommen, dass die daraus resultierende Depletion von endotheliale NO zu einer Vasokonstriktion mit nachfolgend verringertem Blutfluss, also einer Störung der Perfusion, und schließlich reduzierter Oxygenierung des Gewebes führt.<sup>10</sup> Dies kann z.B. über eine pulmonale Hypertonie oder eine Minderperfusion der Nieren zu Endorganschäden führen.<sup>11,12,13</sup> Die Nieren können über weitere pathophysiologische Mechanismen durch freies Hämoglobin geschädigt werden. Freies Hämoglobin kann eine direkte toxische Wirkung auf die proximalen Tubuluszellen der Niere entfalten, was eine proximale Tubuluszellnekrose zur Folge haben kann.<sup>13</sup> Ein Ausfällen des Hämoglobins im distalen Tubulus kann zudem zu Obstruktionen mit nachfolgendem Nierenversagen führen.<sup>14</sup>

## 1.2 Transfusion von Erythrozytenkonzentraten

Die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten zählt zu den häufigsten lebensrettenden medizinischen Prozeduren. Allein in Deutschland wurden in den Jahren 2007 bis 2018 jährlich zwischen 3,3 und 4,4 Millionen Erythrozytenkonzentrate aus Fremdblut verabreicht.<sup>15</sup> Die Hauptindikation für die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten ist die akute oder chronische Anämie, deren laborchemischer und physiologischer Ausprägungsgrad über den Zeitpunkt der Transfusion entscheidet.

Die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten ist multimodal und wurde im Laufe der letzten Jahre zunehmend restriktiver angesetzt.<sup>16</sup> Ein wichtiger laborchemischer Parameter, der zur Entscheidungsfindung genutzt wird, ist der Hämoglobinwert mit einem Normalbereich von 14-18 g/dl bei Männern und 12-16 g/dl bei Frauen. Bei Hämoglobinwerten zwischen 7 g/dl und 10 g/dl wird eine Transfusion von Erythrozytenkonzentraten individuell vom Vorhandensein „klinischer Hinweise auf eine manifeste anämische Hypoxie“,<sup>16</sup> auch physiologische Transfusionstrigger genannt, empfohlen. Diese umfassen kardio-pulmonale Symptome wie Tachykardie, Hypotension, Dyspnoe oder Blutdruckabfälle unklarer Genese, Zeichen für eine Hypoxie des Myokards wie ischämietypische EKG-Veränderungen wie neu aufgetretene ST-Strecken-Senkungen, -Hebungen oder Herzrhythmusstörungen oder neu aufgetretene regionale myokardiale Kontraktionsstörungen im Echokardiogramm. Darüber hinaus wird auch eine Veränderung der „Globale(n) Indices einer unzureichenden Sauerstoffversorgung“ unter bzw. über einen bestimmten Grenzwert als physiologischer Transfusionstrigger gewertet.<sup>16</sup> Zu diesen zählen eine gemischtvenöse O<sub>2</sub>-Sättigung <50%, eine zentralvenöse O<sub>2</sub>-Sättigung <65-70% und eine Laktatazidose mit einem Laktat >2 mmol/l und begleitender Azidose. Auch bei einer eingeschränkten physiologischen Kompensationsfähigkeit, zum Beispiel beim Vorhandensein von kardiovaskulären Risikofaktoren wie einer koronaren Herzerkrankung, einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit, einer zerebrovaskulären Gefäßerkrankung oder einer Herzinsuffizienz, wird eine Transfusion bei einem Hb zwischen 7 und 8 g/dl empfohlen.<sup>17</sup>

Vor der Transfusion von Erythrozytenkonzentraten sollte stets beachtet werden, dass die Übertragung von fremdem Blut auch Risiken birgt: Neben Elektrolytverschiebungen, transfusionsassoziierter Volumenüberladung (*transfusion-associated circulatory overload*, TACO) oder der Übertragung von Infektionskrankheiten (bspw. Hepatitis C-Virus,

Hepatitis B-Virus, Humanes Immundefizienz-Virus oder bakteriellen Infektionen) können auch immunologische Reaktionen wie u.a. eine hämolytische Transfusionsreaktion, eine akute allergische Transfusionsreaktion, eine nicht-hämolytische Transfusionsreaktion oder eine transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (*transfusion-related acute lung injury*, TRALI) ausgelöst werden.<sup>16</sup>

### 1.2.1 Konservierung und Behandlung von Erythrozyten

Heutzutage werden Erythrozytenkonzentrate aus Vollblutspenden hergestellt, leukozytendepletiert, mit Stabilisator- und Additivlösung versetzt und anschließend bei  $4\pm 2^\circ\text{C}$  gelagert. Die aktuell verwendeten Stabilisatorlösungen wie CPD (Citrat-Phosphat-Dextrose) enthalten einen Phosphat-Citrat-Puffer mit einem pH von 7,1-7,2. Darüber hinaus unterbindet das Citrat durch die Komplexbildung von Calcium die Gerinnung und die enthaltene Glucose dient als Substrat für die Erythrozyten.<sup>17</sup> Wahlweise wird auch Adenin zur Förderung der intraerythrozytären ATP- und 2,3-BPG-Bildung zugesetzt.<sup>18</sup>

Additivlösungen enthalten (in unterschiedlichen Konzentrationen) neben Glucose und Adenin (oder wahlweise Guanin) auch Natriumchlorid und Mannitol, welches zur besseren Verformbarkeit der Erythrozyten eingesetzt wird. Beispiele für solche Lösungen sind AD-SOL (Adenin, Glucose, Natriumchlorid, Mannitol), PAGGS-M (Phosphat, Adenin, Guanin, Glucose, Natriumchlorid, Mannitol) oder SAGM (Natriumchlorid, Adenin, Glucose, Mannitol).<sup>17</sup>

Aktuell beträgt die zugelassene maximale Lagerungsdauer von unbestrahlten Erythrozytenkonzentraten in der Regel 42 Tage. Für einige mit PAGGS-M versetzte Erythrozytenkonzentrate bestimmter Hersteller ist in Deutschland auch eine Lagerung von bis zu 49 Tagen möglich.<sup>19</sup> Im internationalen Vergleich ist eine maximale Lagerungsdauer von 42 Tagen (USA, Australien, Saudi-Arabien), teilweise aber auch bis zu 35 Tagen (Neuseeland, Großbritannien, Niederlande) üblich.<sup>20</sup> Für die Bestrahlung von Erythrozytenkonzentraten, die auch die Erythrozyten schädigt, dürfen nur Erythrozytenkonzentrate verwendet werden, die zum Zeitpunkt der Bestrahlung maximal 14 bzw 28 Tage lang gelagert wurden. Diese strahlungsinduzierten Schädigungen haben zur Folge, dass die bestrahlten Erythrozytenkonzentrate anschließend maximal weitere 14 Tage, allerdings auch nur bis zu einer maximalen Gesamtlagerungsdauer von 28 Tagen verwendet werden dürfen.<sup>21,22,23,24</sup>

### 1.2.2 Veränderungen von Erythrozytenkonzentraten über die Lagerungsdauer

Auch der Zusatz von Stabilisator- und Additivlösungen kann den Alterungsprozess der Erythrozyten nicht vollständig aufhalten. Die lagerungsassoziierten, degenerativen Veränderungen der Erythrozyten werden auch als „*storage lesion*“ bezeichnet. Erste degenerative Veränderungen von Form und Funktion, beispielsweise eine erniedrigte osmotische Stabilität, eine verringerte Verformbarkeit und Strukturänderungen zu Kugelzellen oder Echinozyten treten bereits in den ersten 14 Tagen der Lagerung auf und akkumulieren über die weitere Lagerungsdauer.<sup>25,26</sup> Auch die Depletion von 2,3-BPG findet fast vollständig in den ersten 14 Tagen statt und führt nach der Transfusion über eine Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve zu einer reduzierten peripheren Sauerstoffabgabe (s. 1.1 Erythrozyten).<sup>25</sup>

Weitere lagerungsassoziierte Veränderungen sind die Akkumulation von Chemokinen, Zytokinen und bioaktiven Lipiden, die mit systemischen Infektionen und inflammatorischen Reaktionen inklusive Endorganschäden wie zum Beispiel einem TRALI, assoziiert sind.<sup>27,28</sup> Darüber hinaus wurde von Blasi et al. eine stetige und ab der vierten Woche signifikant ansteigende Hämolyserate mit einhergehenden Konzentrationsanstiegen von Kalium, Laktat und freiem Hämoglobin im Erythrozytenkonzentrat beschrieben.<sup>26 29</sup>

Auch *in vivo* konnten bei längeren Lagerungsdauern eine erhöhte intra- und extravasale Hämolyse, ein kürzerer Verbleib der transfundierten Erythrozyten in der Blutbahn, ein geringeren Hb-Anstieg sowie ein signifikanter Abfall der NO-Konzentration im Blut beobachtet werden.<sup>30,31,32,33</sup>

### 1.3 Akutes Lungenversagen (ARDS)

Das akute Lungenversagen (*acute respiratory distress syndrome*, ARDS) wird nach der Berlin Definition (2012) über vier Kriterien definiert: (1) Der akute Beginn der Symptome/eine akute respiratorische Verschlechterung innerhalb von 7 Tagen; (2) bilaterale Verschattungen in der radiologischen Bildgebung (Röntgen- oder CT-Aufnahme des Thorax), die nicht gänzlich durch Pleuraergüsse, oder eine kollabierte Lunge/Lungenflügel oder Rundherde erklärt werden können; (3) die Ursache darf nicht ausschließlich auf kardiale Dekompensation oder Volumenüberladung zurückzuführen sein und (4) es muss

eine Oxygenierungsstörung vorliegen.<sup>34</sup> Über diese Oxygenierungsstörung wird der Schweregrad definiert: Beträgt bei einem endexpiratorischen Druck (PEEP, *positive end-expiratory pressure*) von mindestens 5 cmH<sub>2</sub>O der Oxygenierungsindex (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>) zwischen 300 mmHg und 200 mmHg, handelt es sich um ein mildes, bei einem Oxygenierungsindex zwischen 200 mmHg und 100 mmHg um ein moderates und bei einem Oxygenierungsindex unter 100 mmHg um ein schweres ARDS.<sup>35</sup>

Die Mortalität des ARDS wird von unterschiedlichen Faktoren beeinflusst, unter anderem von dem Schweregrad des ARDS und von den Grund- und Begleiterkrankungen der Patientinnen und Patienten.<sup>36</sup> So beträgt die Mortalität bei einem mildem ARDS 27-35%, bei einem mittelschweren ARDS 32-40% und bei einem schweren ARDS 45-46%.<sup>34,37</sup> Weiterhin konnte auch ein Zusammenhang zwischen der Mortalität und der Ätiologie des ARDS beobachtet werden.<sup>38</sup>

Die Ursachen für ein ARDS lassen sich grundsätzlich in pulmonale und nicht-pulmonale Ursachen unterteilen. Zu ersteren gehören u.a. virale, bakterielle und Aspirationspneumonien, Lungenkontusionen, Beinahe-Ertrinken und Inhalationstraumata, zu letzteren eine Sepsis nicht-pulmonaler Genese, eine Pankreatitis, Verbrennungen und (Poly-)Traumata.<sup>39,40</sup>

### 1.3.1 Pathophysiologie des ARDS

Durch die beschriebenen pulmonalen oder extrapulmonalen Ursachen kommt es zu einer diffusen Schädigung der alveolokapillären Einheit mit einer nachfolgenden Barrierestörung des Endothels, die zum Einstrom eines proteinreichen Ödems führt.<sup>41</sup> Dieses fördert inflammatorische Prozesse, die zu Nekrose, epithelialer Hyperplasie und Fibrosierung mit Abnahme der pulmonalen Compliance führen.<sup>42</sup> Auch der Übertritt von Erregern und inflammatorischen Zytokinen in den Kreislauf wird durch die Endothelschädigung ermöglicht. Das alveoläre Ödem erhöht zudem die Diffusionsstrecke und behindert die Diffusion von Sauerstoff und Kohlendioxid über die alveoläre Membran.

Auch die Auskleidung der Alveolen mit Surfactant (*surface active agent*) wird durch das Ödem und die direkte Schädigung der Typ-II-Pneumozyten beeinträchtigt und führt über die erhöhte Oberflächenspannung zu einem endexpiratorischen Kollaps der Alveolen.<sup>43</sup> Die darauffolgende Bildung von minderbelüfteten Lungenarealen mit Atelektasen wirkt sich über eine Störung des Perfusions-Ventilations-Verhältnisses und die hypoxische-

pulmonale Vasokonstriktion (Euler-Liljestrand-Mechanismus) auf die Bildung von transpulmonalen Shunts aus.<sup>44</sup> Dies führt zusammen mit einer lokalen Mikrothrombenbildung durch die inflammatorische Aktivierung der Gerinnungskaskade in den pulmonalen Gefäßen zu einer pulmonalarteriellen Hypertonie.<sup>45</sup> Letztlich kann durch eine verringerte Gasaustauschfläche, erhöhte Diffusionsstrecke und Ventilationsstörung eine lebensbedrohliche Hypoxie mit Hyperkapnie entstehen.

### 1.3.2 Therapie des ARDS

Die Entlastung und Regeneration des geschädigten Lungengewebes bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung einer suffizienten Oxygenierung wird durch diverse Therapiemaßnahmen angestrebt: Eine lungenprotektive Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina bei hohem PEEP und einem möglichst niedrigen *driving pressure*, eine Erhöhung der inspiratorischen Sauerstofffraktion und alveoläre Recruitmentmanöver. Die lungenprotektive Beatmung wirkt über den erhöhten PEEP dem endexpiratorischen Kollaps der Alveolen entgegen und vermindert über einen niedrigen *driving pressure* sowie niedrige Tidalvolumina den Scherstress, dem die Lunge durch die mechanische Beatmung ausgesetzt ist.<sup>46,47</sup> Bei einem schweren ARDS sind als Rescue-Verfahren zur Verbesserung des pulmonalen Gasaustausches die Bauchlagerung, eine selektive pulmonale Vasodilatation mit inhalativem NO zur Optimierung des Ventilations-Perfusions-Verhältnisses sowie die Verwendung einer extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) mögliche letzte Therapieoptionen.<sup>48,49</sup>

### 1.3.3 Transfusion von Erythrozytenkonzentraten bei ARDS

Die Anämie ist ein häufiges Krankheitsbild bei kritisch kranken Patientinnen und Patienten. Neben einer verminderten Blutbildung, z.B. durch Eisenmangel, Mangelernährung oder Knochenmarkinsuffizienz, einem erhöhten Abbau durch Hämolyse z.B. im Rahmen einer zu Grunde liegenden Erkrankung wie der Malaria, Thalassämien, einer Infektionen mit hämolysierenden Erregern oder im Rahmen der Sepsis, kann auch ein erhöhter Blutverlust durch offene oder okkulte Blutungen, operative Eingriffe oder auch durch repetitive und häufige diagnostisch notwendige Blutentnahmen ursächlich sein.<sup>50,51</sup>

Patientinnen und Patienten mit einem ARDS sind oft in mehrfacher Hinsicht von den oben genannten Risikofaktoren betroffen und benötigen bei verminderten physiologischen Kompensationsmechanismen und zur Aufrechterhaltung eines suffizienten arteriellen

Sauerstoffangebots häufig eine Transfusion von Erythrozytenkonzentraten. Wurde eine Therapie mit einem ECLS wie einer venovenösen ECMO notwendig, konnte neben einer höheren Krankheitsschwere auch eine vermehrte Hämolyse, die vor allem vom Zustand des ECLS-Systems sowie dessen Einstellungen beeinflusst wird, sowie das Auftreten von Blutungen unter therapeutischer Antikoagulation, mit konsekutiv erhöhtem Transfusionsbedarf beobachtet werden.<sup>52,53,54</sup>

#### 1.4 Stand der Forschung

Bisherige Studien zu einer Assoziation von Lagerungsdauer von Erythrozytenkonzentraten und klinischem Outcome kamen zu keinem einheitlichen Ergebnis. Während einige retrospektive Studien sowie eine prospektive Studie einen Zusammenhang zwischen der Lagerungsdauer von Erythrozytenkonzentraten und der Mortalität bei traumatologischen, kardiochirurgischen und Intensivpatientinnen und -patienten beobachten konnten, wurde in vier großen randomisierten kontrollierten Studien keine Assoziation zwischen der Lagerungsdauer von Erythrozytenkonzentraten und der Mortalität und Morbidität dieser Patientinnen und Patienten festgestellt.<sup>55,56,57,58</sup> Dabei wurde jeweils eine Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer (durchschnittliche Erythrozytenkonzentrat-Lagerungsdauern: 6 bis 13 Tage) mit einer Gruppe mit langer Lagerungsdauer (durchschnittliche Erythrozytenkonzentrat-Lagerungsdauern: 20 bis 24 Tage) verglichen.<sup>20,59, 60,61</sup> Es handelte sich demnach um einen Vergleich zwischen Patientinnen und Patienten, die Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten erhielten, die sich im ersten und im mittleren Drittel der erlaubten Lagerungsdauer befanden. Anhand dieser Studien können dementsprechend keine Aussagen über die Effekte von Erythrozytenkonzentraten getroffen werden, die sich im letzten Drittel ihrer erlaubten Lagerungsdauer befinden und von einer ausgeprägten *storage lesion* betroffen sein sollten (s. 1.2.2 Veränderungen von Erythrozytenkonzentraten über die Lagerungsdauer).

In kleineren prospektiven Studien konnte an Kollektiven von polytraumatisierten Patientinnen und Patienten eine Assoziation zwischen der Transfusion von Erythrozytenkonzentraten mit einer Lagerungsdauer von über 21 Tagen und Multiorganversagen, Infektionen und anderen unerwünschten Effekten beobachtet werden.<sup>11,62,63</sup> Leal-Noval et al. beschrieben in einer weiteren prospektiven Studie an kardiochirurgischen Patientinnen und Patienten ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Komplikationen und der Lagerungsdauer des ältesten transfundierten Erythrozytenkonzentrats: mit jedem

Lagerungstag stieg das Risiko für eine postoperative Pneumonie an, wobei die maximale Sensitivität und Spezifität bei einer Lagerungsdauer von 28 Tagen erreicht wurde.<sup>64</sup>

Bei Intensivpatientinnen und -patienten mit Sepsis konnte eine Assoziation zwischen der Lagerungsdauer transfundierter Erythrozytenkonzentrate und der Entwicklung eines ARDS beobachtet werden.<sup>65,66</sup> Der Einfluss der Lagerungsdauer auf das Outcome von Patientinnen und Patienten mit ARDS wurde bisher nicht untersucht.<sup>67</sup>

## 1.5 Fragestellung

Der Einfluss der Transfusion von Erythrozytenkonzentraten mit einer Lagerungsdauer von über 28 Tagen, der Zeitraum, der nachweisliche mit den meisten akkumulierten *storage lesions* und der meisten Hämolyse assoziiert ist, wurde bzgl. seiner Bedeutung für das Outcome von Patientinnen und Patienten mit ARDS bisher nicht erforscht.

In dieser Studie sollten folgende Hypothesen untersucht werden:

Hypothese 1: Es gibt eine Assoziation zwischen der Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten aus dem letzten Drittel der erlaubten Lagerungsdauer (>28 von 42 Tagen) und der 28-Tage-Mortalität von Patientinnen und Patienten mit einem ARDS.

Hypothese 2: Es gibt eine Assoziation zwischen der Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten aus dem letzten Drittel der erlaubten Lagerungsdauer (>28 von 42 Tagen) und der Erholung von verschiedenen Organfunktionsstörungen/-versagen wie der Lungen-, ZNS-, Nieren- oder Herzkreislauffunktion bei kritisch kranken Patientinnen und Patienten mit einem ARDS.

Hypothese 3: Eine Assoziation mit den oben genannten Outcomes tritt bereits bei der Transfusion eines einzigen Erythrozytenkonzentrats aus dem letzten Drittel der erlaubten Lagerungsdauer (>28 von 42 Tagen Lagerungsdauer) auf.

## 2 Methodik

### 2.1 Studienplanung

Der für diese retrospektive Kohortenstudie verwendete Datensatz entstammt den klinischen Routinedaten der SAP- und COPRA-Patientendatenmanagementsystems der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin am Campus Virchow-Klinikum der Charité-Universitätsmedizin Berlin. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin genehmigt (EA1/018/19).

#### 2.1.1 Studienpopulation

Eingeschlossen wurden alle erwachsenen Patientinnen und Patienten, die mit der Diagnose ARDS zwischen dem 01.01.2007 und dem 31.12.2018 in der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin am Campus Virchow-Klinikum der Charité-Universitätsmedizin Berlin aufgenommen wurden und innerhalb der ersten vierzehn Tage nach ARDS-Beginn mit Erythrozytenkonzentraten transfundiert wurden. Patientinnen und Patienten, die in diesen 14 Tagen keine Transfusion erhielten oder deren Transfusionsdaten fehlten, wurden ausgeschlossen. Alle Patientinnen und Patienten, die eine Therapie mit einem ECLS (s. 1.3.3 Transfusion von Erythrozytenkonzentraten bei ARDS), die eine Transfusion mit mindestens einem bestrahlten Erythrozytenkonzentrat oder mit mindestens einem Erythrozytenkonzentrat mit einer Lagerungsdauer von über 42 Tagen (s. 1.2.1 Konservierung und Behandlung von Erythrozyten) erhielten, wurden ebenfalls aus der Studie ausgeschlossen. Ein weiteres Ausschlusskriterium war ein Versterben innerhalb der ersten sechs Stunden nach Aufnahme.

Die Gruppierung erfolgte anhand des Mittelwertes der Lagerungsdauer der im Betrachtungszeitraum transfundierten Erythrozytenkonzentrate. Betrug die mittlere Lagerungsdauer der verwendeten Erythrozytenkonzentrate weniger oder gleich 28 Tage, wurde die Patientin oder der Patient der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer zugeteilt; lag die mittlere Lagerungsdauer zwischen 28 und 42 Tagen, erfolgte die Einteilung in die Gruppe mit langer Lagerungsdauer. Für die Analysen zur Hypothese 3 (s. 1.5 Fragestellung, Hypothese 3) wurden die Patientinnen und Patienten nach der Lagerungsdauer des ältesten transfundierten Erythrozytenkonzentrats gruppiert - betrug diese unter oder gleich 28 Tage, wurden sie der jungen, betrug diese über 28 Tage, wurden sie in die ältere Gruppe eingeteilt.

### 2.1.2 Endpunkte

Als primärer Endpunkt dieser Studie wurde die Mortalität innerhalb von 28 Tagen nach ARDS-Beginn (28-Tage-Mortalität) definiert. Als zusätzliche sekundäre Endpunkte wurde die erfolgreiche Erholung folgender Körperfunktionen (failure-free days) über einen Zeitraum von 28 Tagen betrachtet: „Frei von invasiver Beatmung“ (erreicht bei erfolgreichen Extubation ohne Reintubation innerhalb von 48h oder bei der Beatmung über ein Tracheostoma >48h ohne PEEP), „Frei von Sedierung“ (erreicht bei einem RASS von 0 oder -1), „Frei von Nierenersatzverfahren“ (erreicht bei Beendigung von Nierenersatzverfahren wie iHD und CVVHD ohne Wiederbeginn der Therapie bis Tag 28) und „Frei von Vasopressoren“ (erreicht bei Beendigung Vasopressorengabe).

Das alternative Outcome des Versterbens, auch das konkurrierende Risiko genannt, wurde wie folgt berücksichtigt: Auch wenn das erwünschte Ereignis erreicht wird, aber der Patient innerhalb des Betrachtungszeitraums verstirbt, wird der Wert gleich Null gesetzt und der Patient an Tag 28 zensiert– es entsteht also ein Parameter, der sowohl die (Erholung einer) Organfunktion als auch die Mortalität beschreibt.<sup>68</sup>

## 2.2 Datenerhebung

### 2.2.1 Patientendaten

Die Behandlungsdiagnosen und demographischen Basisdaten wurden aus dem Routinedatensatz des SAP-Systems (SAP NetWeaver, SAP Deutschland AG & Co. KG, 69190 Walldorf) der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin der Charité-Universitätsmedizin Berlin extrahiert. Die routinemäßig erhobenen Scores (SOFA, RASS, SAPS II) wurden aus dem Patientendatenmanagementsystem COPRA 5 (COPRA System GmbH, Sasbachwalden) automatisiert extrahiert. Weiterhin wurden aus beiden Datenbanken folgende Parameter manuell erhoben: ARDS-Schweregrad nach den Berlin-Kriterien (s. 1.2 ARDS), ARDS-Ätiologie (s. 1.2 ARDS), Vorerkrankungen, Charlson Comorbidity Index (CCI), Immunstatus, Gabe von inhalativem Stickstoffmonoxid (NO), invasive Beatmung sowie Tage ohne invasive Beatmung (*ventilator-free days*, VFD), Intubationen und erfolgreiche Extubationen (ohne Reintubation innerhalb von 48h/bei Tracheostoma 48h durchgängig nicht-invasive Beatmung (*non-invasive ventilation*, NIV)), Beginn und Ende von Nierenersatzverfahren wie einer kontinuierlichen venösen Hämofiltration (*continuous venovenous hemofiltration*, CVVHD) oder

intermittierenden Hämodialyse (*intermittent hemodialysis*, iHD), die tägliche Gabe von Vasopressoren und Sedativa sowie die Durchführung von Bauchlagen (über mindestens 16 Stunden).

### 2.2.2 Beatmungs- und Laborparameter

Beatmungsdaten und Laborparameter wurden ebenfalls automatisiert aus dem Patientendatenmanagementsystem COPRA 5 der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin der Charité-Universitätsmedizin Berlin extrahiert und manuell plausibilisiert und validiert. Es wurde für jeden Patienten retrospektiv der durchschnittliche Transfusionstrigger in den ersten 14 Tagen nach ARDS-Beginn entsprechend der von Hunsicker et al. beschriebenen Methode gebildet.<sup>53</sup> Dabei wurde der jeweils niedrigste Hämoglobinwert innerhalb von 6 Stunden vor einer jeden Transfusion zur Ermittlung des Transfusionstriggers herangezogen.

### 2.2.3 Transfusionsdaten

Die verwendeten Transfusionsdaten (Herstellungsdatum, Ausgabedatum, Produktart, Produkt) entstammen dem Routinedatensatz des Instituts für Transfusionsmedizin der Charité-Universitätsmedizin Berlin. Im betrachteten Zeitraum von 2007 bis 2018 wurden die Additivlösungen ADSOL, PAGGS-M und SAGM verwendet. Die vorliegende Arbeit bezieht sich zur besseren Vergleichbarkeit ausschließlich auf unbestrahlte Erythrozytenkonzentrate mit einer Lagerungsdauer zwischen 0 und 42 Tagen.

## 2.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm R (Version 3.6.1). Die Verteilung der Daten wurde über Histogramme und QQ-Plots geprüft. Kontinuierliche Daten wurden entsprechend ihrer Wahrscheinlichkeitsverteilung mit dem t-Test bzw. dem exakten Mann-Whitney-U-Test verglichen. Frequenzen und Häufigkeiten wurden mit dem exakten Fisher-Test verglichen. Ein zweiseitiger P-Wert  $\leq 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet. Für kontinuierliche Variablen wurden je nach Wahrscheinlichkeitsverteilung der Median sowie die 25%- und 75%-Quartilen oder der Mittelwert (arithmetisches Mittel, im Folgenden auch Durchschnitt genannt) und die Standardabweichung (SD) berechnet. Für kategorielle Variablen wurden die Anzahl (n) und relative Häufigkeiten in Prozent (%) angegeben.

Für den primären Endpunkt der 28-Tage-Mortalität wurde die Hazard Ratio über eine Cox-Regressionsanalyse bestimmt. Die Annahme proportionaler Hazards wurde durch skalierte Schönfeld-Residuen und die Betrachtung der graphischen Darstellung der Hazard Ratios überprüft. Die Überlebenszeiten wurden mit dem Log-rank-Test verglichen. Differenzen der Gruppencharakteristika wurden mit einer multiplen Regressionsanalyse überprüft. Die Darstellung der kumulativen Mortalität über 28 Tage erfolgte über Kaplan-Meier-Kurven, die Anzahl der Patientinnen und Patienten unter Risiko (*patients at risk*) zu den Zeitpunkten 7, 14, 21 und 28 Tage nach ARDS Beginn wurde tabellarisch unterhalb der Graphen aufgelistet.

Für die sekundären Endpunkte wurde das Versterben als konkurrierendes Risiko angesehen und über Regression die Subdistribution Hazard Ratio für die kumulative Inzidenz des primären Ereignisses (die gesetzten Endpunkte „Frei von invasiver Beatmung“, „Frei von Sedierung“, „Frei von Nierenersatzverfahren“ und „Frei von Vasopressoren“) berechnet. Für das Eintreten des jeweiligen Ereignisses innerhalb von 28 Tagen wurden kumulative Inzidenzkurven erstellt und die Anzahl der Patientinnen und Patienten unter Risiko angegeben. Die gleichmäßige Zensierung der verstorbenen Patientinnen und Patienten an Tag 28 wurde überprüft. Aufgrund der explorativen und retrospektiven Datenanalyse wurde auf eine Post-hoc-Poweranalyse verzichtet.

### 3 Ergebnisse

Im betrachteten Zeitraum vom 01.01.2007 bis zum 31.12.2018 wurden 1044 Patientinnen und Patienten in der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin am Campus Virchow-Klinikum der Charité-Universitätsmedizin Berlin aufgenommen, die die ARDS-Kriterien erfüllten. Die Abbildung 1 zeigt den Patienteneinschluss als Flussdiagramm.

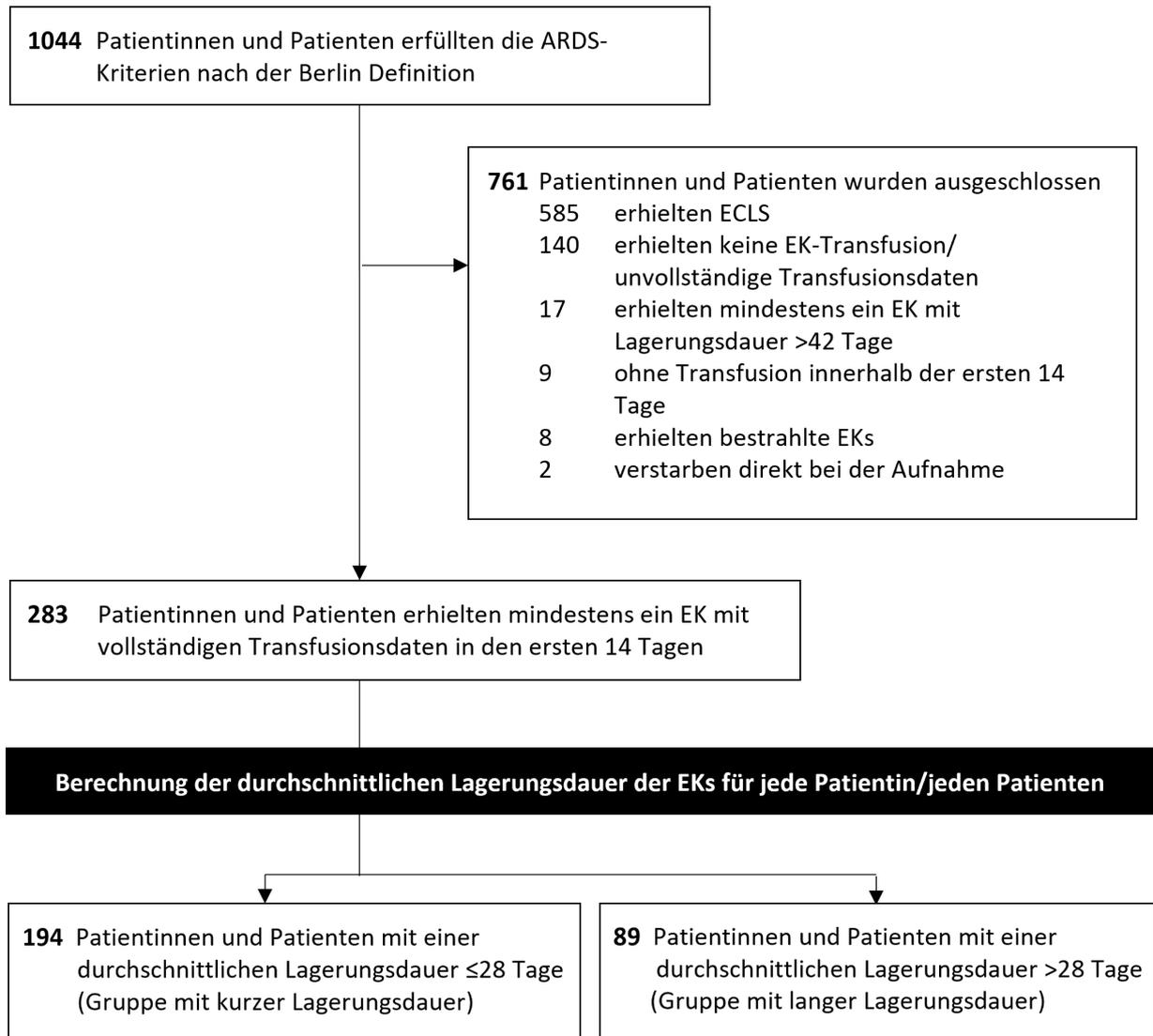


Abbildung 1: Flussdiagramm Patienteneinschluss (modifiziert nach <sup>69</sup>).

Ausgeschlossen wurden n=585 Patientinnen und Patienten, die mit ECLS therapiert wurden. Weiterhin wurden n=9 Patientinnen und Patienten ohne Transfusion in den ersten 14 Tagen und n=141 Patientinnen und Patienten, die während des gesamten Aufenthalts keine Transfusion erhalten hatten oder deren Transfusionsdaten nicht vorhanden waren,

ausgeschlossen. Dies betraf auch n=17 Patientinnen und Patienten, die mit mindestens einem Erythrozytenkonzentrat mit einer Lagerungsdauer von über 42 Tagen und n=8 Patientinnen und Patienten, die mit mindestens einem bestrahlten Erythrozytenkonzentrat (n=8) transfundiert wurden. Zudem wurden zwei Patienten ausgeschlossen, die bei der Aufnahme (innerhalb der ersten sechs Stunden) verstarben. Schließlich konnte ein Patientenkollektiv von insgesamt 283 Patientinnen und Patienten eingeschlossen werden. Der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer ( $\leq 28$  Tage) wurden 194 Patientinnen und Patienten und der Gruppe mit langer Lagerungsdauer ( $>28$  Tage) 89 Patientinnen und Patienten zugeordnet (s. Abb. 1 Flussdiagramm Patienteneinschluss).

Die Patientencharakteristika beider Gruppen sind in Tabelle 1 dargestellt. Es zeigte sich, dass sich die Gruppen in demographischen Basisparameter wie Alter, Geschlecht und BMI oder ihrer Komorbiditäten (dargestellt durch den CCI) nicht signifikant unterschieden. Es zeigten sich keine signifikanten Differenzen zwischen beiden Gruppen in den Werten der SOFA-, SAPS II- und RASS-Scores bei ARDS-Beginn, dem ARDS-Schweregrad, der Häufigkeit eines septischen Schocks, dem durchschnittlichen Laktat und auch der Dauer der invasiven Beatmung vor Aufnahme.

Tabelle 1: Patientencharakteristika (modifiziert nach <sup>69</sup>).

Charakteristika	Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer (n=194)	Gruppe mit langer Lagerungsdauer (n=89)	P-Wert
Alter (Jahre)	55,50 [42,25, 66,00]	57,00 [47,00, 69,00]	0,248
Männliches Geschlecht, n (%)	120 (61,9)	56 (62,9)	0,968
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,78 [24,39, 32,65]	26,73 [23,67, 31,37]	0,212
Charlson Comorbidity Index	3,00 [1,00, 5,00]	3,00 [1,00, 6,00]	0,430
Chronische Nierenerkrankung, n (%)	19 (9,8)	16 (18,0)	0,081
Immunkompromittiert, n (%)	44 (22,7)	22 (24,7)	0,822
SOFA bei ARDS-Beginn	11,00 [8,25, 14,00]	12,00 [8,00, 14,00]	0,669
SAPS II bei ARDS-Beginn	50,00 [38,00, 64,00]	55,00 [38,00, 70,00]	0,320
RASS bei ARDS-Beginn	-5,00 [-5,00, -4,00]	-5,00 [-5,00, -4,00]	0,719
Chronische Lungenerkrankung, n (%)	39 (20,1)	24 (27,0)	0,256
Invasive Beatmung vor Aufnahme (Tage)	1,00 [0,00, 4,00]	1,00 [0,00, 4,00]	0,523
ARDS Schweregrad, n (%)			0,618
Mild	10 (5,2)	7 (7,9)	
Mittelschwer	47 (24,2)	19 (21,3)	
Schwer	137 (70,6)	63 (70,8)	

Charakteristika	Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer (n=194)	Gruppe mit langer Lagerungsdauer (n=89)	P-Wert
ARDS Ätiologie, n (%)			0,495
Pneumonie (viral, bakteriell)	102 (52,6)	51 (57,3)	
Aspirationspneumonie	44 (22,7)	17 (19,1)	
Sepsis	15 (7,7)	11 (12,4)	
Pankreatitis	6 (3,1)	2 (2,2)	
Andere	27 (13,9)	8 (9,0)	
Ventilationsparameter nach initialer Optimierung			
PaO <sub>2</sub> :FiO <sub>2</sub> (mmHg)	157,37 [109,17, 214,44]	164,47 [111,25, 228,05]	0,401
Oxygenierungsindex	15,19 [9,56, 22,57]	14,35 [8,88, 21,36]	0,244
PEEP (cmH <sub>2</sub> O)	16,60 [14,00, 20,00]	16,00 [13,25, 18,02]	0,075
Driving pressure (cmH <sub>2</sub> O)	15,52 [13,00, 18,00]	15,29 [11,85, 18,84]	0,771
Tidalvolumen (ml/kg PBW)	6,86 [5,74, 7,76]	6,07 [5,48, 7,05]	0,016
Atemfrequenz (Atemzüge/min)	20,00 [18,00, 24,00]	21,00 [20,00, 25,00]	0,306
Compliance (ml/cmH <sub>2</sub> O)	36,40 [27,45, 47,15]	33,85 [26,98, 49,30]	0,735
Rescue-Therapie			
Inhalatives NO, n (%)	131 (67,5)	57 (64,0)	0,660
Bauchlagerung, n (%)	132 (68,0)	52 (58,4)	0,150
Septischer Schock, n (%)	83 (43,2)	37 (42,5)	0,999
Laktat (mg/dl)	16,00 [10,00, 30,00]	16,00 [10,00, 31,00]	0,742
Nierenersatzverfahren, n (%)	120 (61,9)	50 (56,2)	0,439

Angabe der Charakteristika nach Median [25%, 75% Quartilen] oder Häufigkeiten (%). Die Berechnung der P-Werte erfolgte über den exakten Wilcoxon-Mann-Whitney-Test oder den exakten Fisher-Test. BMI: Body-Mass-Index, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, SAPS II: Simplified Acute Physiology Score II, RASS: Richmond Agitation-Sedation Scale, PEEP: Positiver endexpiratorischer Druck, positive endexpiratory pressure, NO: Stickstoffmonoxid.

Die Ventilationsparameter nach initialer Optimierung unterschieden sich im Median der Tidalvolumina (6,86 [5,74, 7,76] ml/kg PBW bei der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer und 6,07 [5,48, 7,05] ml/kg PBW bei der Gruppe mit langer Lagerungsdauer, P=0,016).

Die Häufigkeit einer Therapie mit inhalativem NO war in beiden Gruppen vergleichbar (kurze Lagerungsdauer: 67,5% vs. lange Lagerungsdauer: 64,0%, P=0,660). Die Anzahl der Patientinnen und Patienten, die eine oder mehrere Bauchlagerungen erhielten war zwischen den beiden Gruppe ebenfalls nicht verschieden (kurze Lagerungsdauer: 68,0%

vs. lange Lagerungsdauer: 58,4%,  $P=0,150$ ). Auch in der Anzahl der Patientinnen und Patienten, die eine Therapie mit einem Nierenersatzverfahren erhielten, ergab sich zwischen den beiden Gruppe keine signifikante Differenz (kurze Lagerungsdauer: 61,9% vs. lange Lagerungsdauer: 56,2%,  $P=0,439$ ).

Insgesamt wurden 1954 Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten im Betrachtungszeitraum ausgewertet. Eine Zusammenfassung der erfassten Transfusionsparameter befindet sich in Tabelle 2 mit einer komplementären Visualisierung ausgewählter Parameter in Abbildung 2A-D. Der Hämoglobinwert bei ARDS-Beginn, der durchschnittliche über den Betrachtungszeitraum gebildete Transfusionstrigger, die Zeit bis zur ersten Transfusion eines Erythrozytenkonzentrats, das Transfusionsvolumen innerhalb der ersten 14 Tage bzw. 28 Tage unterschied sich nicht signifikant (s. Tabelle 2, s. Abb. 2A-D).

Tabelle 2: Transfusionsparameter (modifiziert nach <sup>69</sup>).

Charakteristika	Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer (n=194)	Gruppe mit langer Lagerungsdauer (n=89)	P-Wert
Hämoglobin bei ARDS-Beginn (g/dl)	10,30 [9,22, 11,80]	10,20 [9,30, 12,00]	0,647
Transfusionstrigger (g/dl)	8,22 [7,59, 9,20]	8,20 [7,60, 8,65]	0,171
Transfundierte EKs pro Patient innerhalb der ersten 14 Tage (Anzahl)	5,00 [3,00, 9,75]	4,00 [2,00, 8,00]	0,143
Transfundierte EKs pro Patient innerhalb der ersten 28 Tage (Anzahl)	6,00 [2,25, 10,00]	4,00 [2,00, 9,50]	0,193
Durchschnittliche EK-Lagerungsdauer pro Patient (Tage)	20,23 ( $\pm 5,38$ )	32,26 ( $\pm 3,10$ )	<0,001
Ältestes transfundiertes EK pro Patient (Tage)	27,81 ( $\pm 8,13$ )	37,49 ( $\pm 3,31$ )	<0,001
Zeit bis zur ersten EK-Transfusion (Stunden)	15,90 [11,63, 19,20]	16,08 [12,83, 19,40]	0,657
Anzahl der Patienten, die weitere Blutprodukte erhalten haben, n (%)			
Thrombozytenkonzentrate	137 (70,6)	57 (64,0)	0,333
FFP	53 (27,3)	22 (24,7)	0,753

Angabe der Charakteristika nach Mittelwert ( $\pm$ Standardabweichung), Median [25%, 75% Quartilen] oder Häufigkeiten (%). Die Berechnung der P-Werte erfolgte über den t-test, den exakten Wilcoxon-Mann-Whitney-Test oder den exakten Fisher-Test.

EK: Erythrozytenkonzentrat, FFP: Fresh Frozen Plasma.

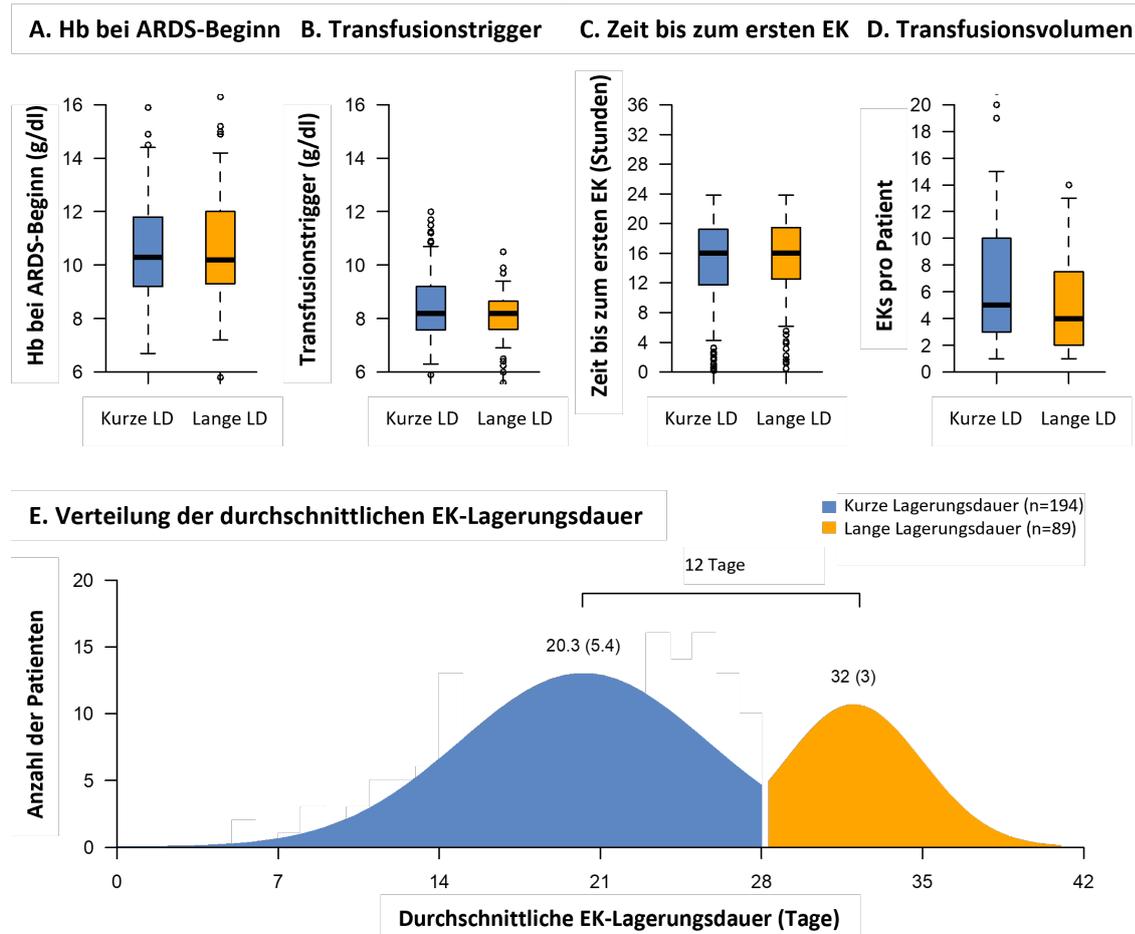


Abbildung 2: Transfusionscharakteristika der beiden Gruppen. A: Verteilung des Hämoglobinswerts bei ARDS-Beginn, B. durchschnittliche Transfusionstrigger, C. Zeit zwischen ARDS-Beginn und der ersten Transfusion, D. Transfusionsvolumen, E. Verteilung der durchschnittlichen Lagerungsdauer (LD) pro Patientin oder Patient in beiden Gruppen (modifiziert nach <sup>69</sup>).

Die Verteilung der durchschnittlichen Erythrozytenkonzentrat-Lagerungsdauer pro Patient und Gruppe ist in Abbildung 2E aufgetragen. Die durchschnittliche Lagerungsdauer beider Gruppen unterschied sich um 12 Tage (95%-KI 11-13 Tage). In der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer betrug sie 20.3 ( $\pm$ 5.4) Tage, in der Gruppe mit langer Lagerungsdauer 32.0 ( $\pm$ 3.1) Tage ( $P < 0.001$ ).

### 3.1 Primäre und Sekundäre Endpunkte

#### 3.1.1 28-Tage-Mortalität

Die Analyse des primären Endpunkts der 28-Tage-Mortalität ergab mit einer Hazard Ratio von 1,36 (95%-KI 0,84-2,21) und einem P-Wert von 0,21 keinen signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe mit kurzer und der Gruppe mit langer Lagerungsdauer. Auch nach der Adjustierung der Analyse für das zwischen beiden Gruppen signifikant unterschiedliche Tidalvolumen (siehe Tabelle 1) ergab sich kein signifikanter Unterschied bzgl. der 28-Tage-Mortalität zwischen beiden Gruppen (HR 1,29, 95%-KI 0,72-2,31, P=0,38).

Der zeitliche Verlauf der Mortalität ist in den Kaplan-Meier-Kurven in Abb. 3A dargestellt. Die Anzahl der Patientinnen und Patienten unter Risiko zu den entsprechenden Tagen ist unterhalb des Graphen dargestellt. Der Median der Beobachtungszeit betrug bei der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer 20 Tage (IQR 17-24), bei der Gruppe mit langer Lagerungsdauer 17 Tage (IQR 15-24). Auch die Anzahl und der zeitliche Verlauf (s. Abb. 3B) der zensierten Patientinnen und Patienten unterschied sich zwischen beiden Gruppen nicht signifikant (P=0,79). Innerhalb der ersten 28 Tage nach ARDS-Beginn verstarben 22,6% (95%-KI 17,1-29,3) der Patientinnen und Patienten aus der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer und 29,2% (95%-KI 20,3-39,9) der Patientinnen und Patienten aus der Gruppe mit langer Lagerungsdauer (P=0,30).

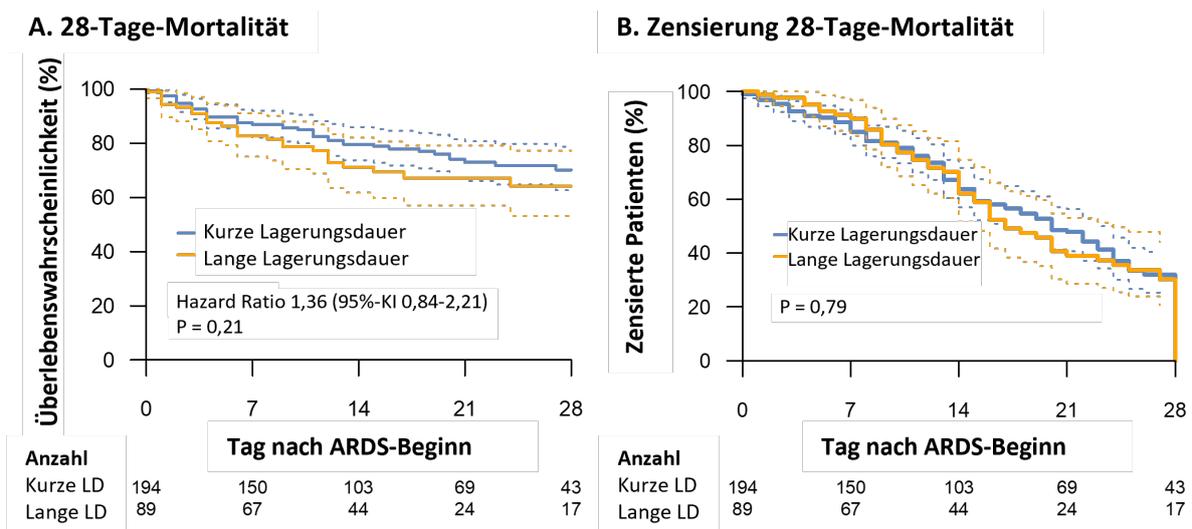


Abbildung 3: A. Primärer Endpunkt: Kaplan-Meier-Kurven für die 28-Tage-Mortalität nach ARDS-Beginn mit 95% Konfidenzintervallen (gepunktete Linien). B. Zensierte Patientinnen und Patienten der 28-Tage-Mortalität. Die Anzahl der Patientinnen und Patienten unter Risiko ist unterhalb des Graphen für den entsprechenden Zeitpunkt dargestellt (modifiziert nach <sup>69</sup>).

### 3.1.2 Sekundäre Endpunkte

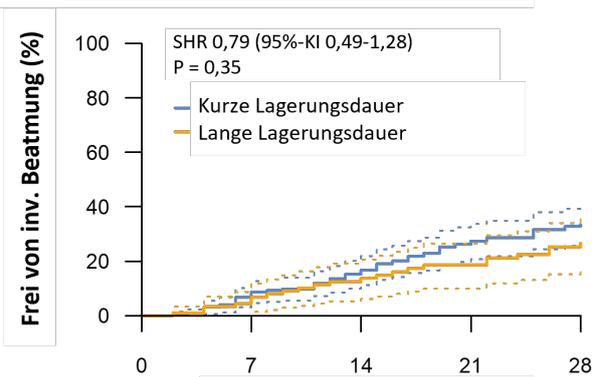
Das Erreichen der sekundären Endpunkte in beiden Gruppen sowie die dazugehörigen 95% Konfidenzintervalle (gestrichelte Linien) sind in Abbildung 4A-D als kumulative Inzidenz-Kurven dargestellt. Die jeweilige Anzahl an Patientinnen und Patienten unter Risiko ist unterhalb der Graphen dargestellt.

Die Auswertung ergab für den Endpunkt „Frei von invasiver Beatmung an Tag 28“ mit einer Subdistribution Hazard Ratio (SHR) von 0,79 (95%-KI 0,49-1,28,  $P=0,35$ ) keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen (Abb. 4A). Auch bei den betrachteten Endpunkten „Frei von Sedierung an Tag 28“ (SHR 0,91, 95%-KI 0,65-1,26,  $p=0,55$ ) und „Frei von Vasopressoren an Tag 28“ (SHR 0,74, 95%-KI 0,52-1,06,  $P=0,10$ ) konnte zwar eine leichte Tendenz für eine erfolgreiche Entwöhnung zu Gunsten der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer, aber keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Abb. 4B und 4D).

Für den zeitliche Verlauf zum Erreichen des Endpunkts „Frei von Nierenersatzverfahren an Tag 28“ (Abb. 4C) zeigte sich mit einer SHR von 0,24 (95%-KI 0,1-0,55,  $P<0,001$ ) ein deutlicher Unterschied zu Gunsten der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer. An Tag 28 erreichten aus der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer 41,6% (95%-KI 32,8-51,0) der Patientinnen und Patienten die erfolgreiche Entwöhnung von einem Nierenersatzverfahren im Vergleich zu 12,0% (95%-KI 4,9-25,0) der Patientinnen und Patienten aus der Gruppe mit langer Lagerungsdauer ( $P<0,001$ ).

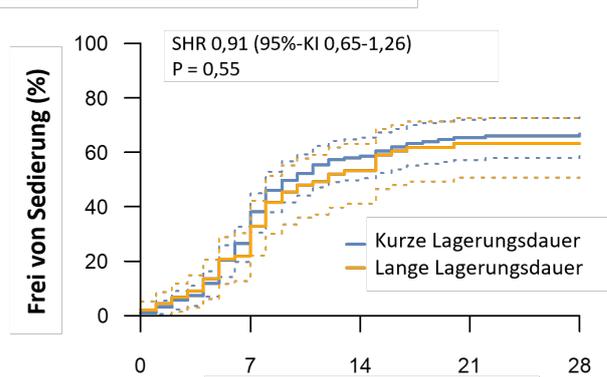
Die Zensierung zwischen beiden Gruppen erfolgte an Tag 28 gleichmäßig (s. Abb. 4E,  $P=0,89$ ). Auch eine Adjustierung für eine zugrundeliegende chronische Nierenerkrankung bestätigte mit einer angepassten SHR von 0,24 (95%-KI 0,1-0,56,  $P<0,001$ ) das Ergebnis.

**A. Frei von invasiver Beatmung an Tag 28**



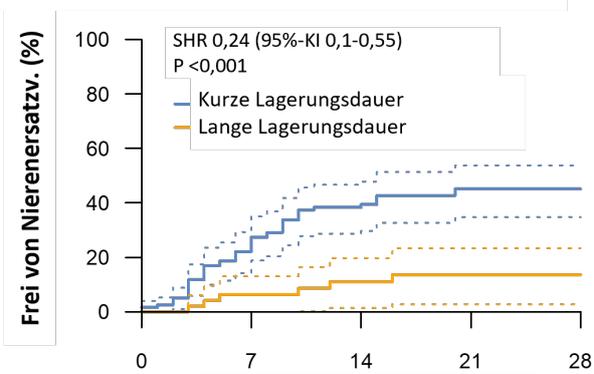
Anzahl	Tag nach ARDS-Beginn				
Kurze LD	194	179	156	129	112
Lange LD	88	85	76	63	56

**B. Frei von Sedierung an Tag 28**



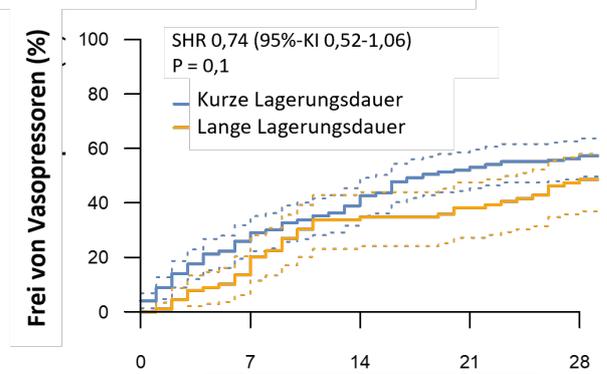
Anzahl	Tag nach ARDS-Beginn				
Kurze LD	194	127	65	50	49
Lange LD	89	64	35	26	26

**C. Frei von Nierenersatzverfahren an Tag 28**



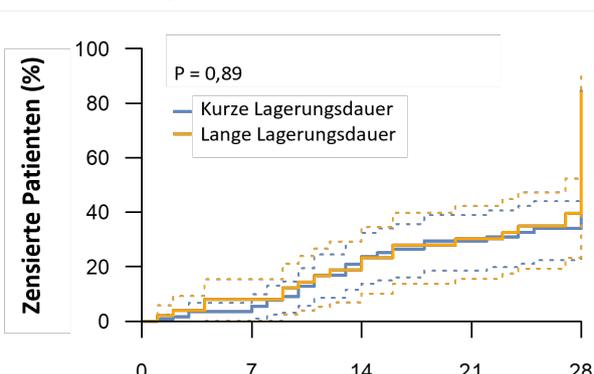
Anzahl	Tag nach ARDS-Beginn				
Kurze LD	120	90	58	46	43
Lange LD	50	43	36	30	26

**D. Frei von Vasopressoren an Tag 28**



Anzahl	Tag nach ARDS-Beginn				
Kurze LD	194	143	117	92	83
Lange LD	89	77	59	54	46

**E. Zensierung Frei von Nierenersatzverfahren an Tag 28**



Anzahl	Tag nach ARDS-Beginn				
Kurze LD	120	90	58	46	43
Lange LD	50	43	36	30	26

Abbildung 4: Sekundäre Endpunkte. A. Frei von invasiver Beatmung. B. Frei von Sedierung. C. Frei von Nierenersatzverfahren. D. Frei von Vasopressoren. E. Zensierte Patientinnen und Patienten des Ereignisses „Frei von Nierenersatzverfahren“ (modifiziert nach <sup>69</sup>).

### 3.2 Gruppierung nach maximaler Lagerungsdauer

Um zu überprüfen, ob die beobachtete Assoziation bereits ab der Transfusion eines einzigen Erythrozytenkonzentrats mit einer Lagerungsdauer von 28-42 Tagen auftrat (s. 1.5 Fragestellung, Hypothese 3), wurde eine ergänzende Analyse durchgeführt.

Nach Gruppierung entsprechend der Lagerungsdauer des ältesten im Betrachtungszeitraum transfundierten Erythrozytenkonzentrats wurden n=99 Patientinnen und Patienten in der Gruppe mit der niedrigeren maximalen Lagerungsdauer und n=184 Patientinnen und Patienten in der Gruppe mit der höheren maximalen Lagerungsdauer eingeschlossen. Die Verteilung der Basisparameter ergab signifikante Unterschiede bezüglich mittlerem BMI, SOFA und SAPSII bei ARDS-Beginn (s. Tabelle 3).

Tabelle 3: Patientencharakteristika. Gruppierung nach maximaler Lagerungsdauer (modifiziert nach <sup>69</sup>).

Charakteristika	Maximale Lagerungsdauer ≤28 Tage (n=99)	Maximale Lagerungsdauer >28 Tage (n=184)	P-Wert
Alter (Jahre)	55,00 [38,50, 65,50]	57,00 [44,75, 68,00]	0,394
Männliches Geschlecht, n (%)	58 (58,6)	118 (64,1)	0,430
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28,68 [24,96, 33,60]	26,62 [23,66, 31,31]	0,029
Charlson Comorbidity Index	3,00 [0,50, 5,00]	3,00 [1,00, 6,00]	0,555
Chronische Nierenerkrankung, n (%)	9 (9,1)	26 (14,1)	0,299
Immunkompromittiert, n (%)	23 (23,2)	43 (23,4)	1,000
SOFA bei ARDS-Beginn	10,00 [8,00, 13,00]	12,00 [9,00, 14,00]	0,019
SAPS II bei ARDS-Beginn	46,00 [34,50, 64,50]	55,00 [40,00, 67,25]	0,029
RASS bei ARDS-Beginn	-4,50 [-5,00, -4,00]	-5,00 [-5,00, -4,00]	0,237
Chronische Lungenerkrankung, n (%)	18 (18,2)	45 (24,5)	0,289
Invasive Beatmung vor Aufnahme (Tage)	1,00 [0,00, 3,00]	1,00 [0,00, 4,00]	0,138
ARDS Schweregrad, n (%)			0,294
Mild	3 (3,0)	14 (7,6)	
Mittelschwer	23 (23,2)	43 (23,4)	
Schwer	73 (73,7)	127 (69,0)	

Charakteristika	Maximale Lagerungs- dauer ≤28 Tage (n=99)	Maximale Lagerungs- dauer >28 Tage (n=184)	P-Wert
ARDS Ätiologie, n (%)			0,207
Pneumonie (viral, bakteriell)	56 (56,6)	97 (52,7)	
Aspirationspneumonie	25 (25,3)	36 (19,6)	
Sepsis	4 (4,0)	22 (12,0)	
Pankreatitis	2 (2,0)	6 (3,3)	
Andere	12 (12,1)	23 (12,5)	
Ventilationsparameter nach initialer Optimierung			
PaO <sub>2</sub> :FiO <sub>2</sub> (mmHg)	154,02 [107,40, 219,48]	161,77 [112,89, 218,99]	0,778
Oxygenierungsindex	15,23 [9,55, 22,41]	14,36 [9,10, 22,87]	0,691
PEEP (cmH <sub>2</sub> O)	16,05 [13,90, 20,00]	16,40 [13,40, 18,30]	0,498
Driving pressure (cmH <sub>2</sub> O)	14,89 [12,46, 18,01]	15,45 [12,90, 18,21]	0,755
Tidalvolumen (ml/kg PBW)	6,69 [5,84, 7,50]	6,39 [5,55, 7,55]	0,469
Atemfrequenz (Atemzüge/min)	20,50 [18,00, 24,00]	21,00 [19,00, 24,75]	0,840
Compliance (ml/cmH <sub>2</sub> O)	36,75 [27,62, 49,32]	34,80 [27,15, 46,50]	0,545
Rescue-Therapie			
Inhalatives NO, n (%)	71 (71,7)	117 (63,6)	0,212
Bauchlagerung, n (%)	65 (65,7)	119 (64,7)	0,972
Septischer Schock, n (%)	37 (37,8)	83 (45,9)	0,239
Laktat (mg/dl)	14,50 [10,00, 25,00]	17,00 [10,75, 31,00]	0,120
Nierenersatzverfahren, n (%)	60 (60,6)	110 (59,8)	0,994

Angabe der Charakteristika nach Median [25%, 75% Quartilen] oder Häufigkeiten (%). Die Berechnung der P-Werte erfolgte über den exakten Wilcoxon-Mann-Whitney-Test oder den exakten Fisher-Test. BMI: Body-Mass-Index, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, SAPS II: Simplified Acute Physiology Score II, RASS: Richmond Agitation-Sedation Scale, PEEP: Positiver endexpiratorischer Druck, positive endexpiratory pressure, NO: Stickstoffmonoxid.

Die Gruppen unterschieden sie sich im Alter des ältesten transfundierten Erythrozytenkonzentrats signifikant (maximale Lagerungsdauer ≤28 Tage: durchschnittliche Lagerungsdauer 21,37 (±5,52) Tage vs. maximale Lagerungsdauer >28 Tage: durchschnittliche Lagerungsdauer 35,96 (±3,89) Tage, P<0,001) (Tabelle 4). Bezüglich der Transfusionsparameter unterschieden sich die Gruppen signifikant in der Anzahl der transfundierten Erythrozytenkonzentrate innerhalb der ersten 14 Tage (maximale Lagerungsdauer ≤28 Tage: Median 3,00 [2,00, 6,00] vs. maximale Lagerungsdauer >28 Tage: 6,00 [3,00, 10,00], P<0,001) und innerhalb der ersten 28 Tage nach ARDS-Beginn (maximale

Lagerungsdauer  $\leq 28$  Tage: 4,00 [2,00, 8,00] vs. maximale Lagerungsdauer  $>28$  Tage: 6,00 [3,00, 12,00],  $P < 0,001$ ) (Tabelle 4).

Tabelle 4: Transfusionsparameter. Gruppierung nach maximaler Lagerungsdauer (modifiziert nach <sup>69</sup>).

Charakteristika	Maximale Lagerungs- dauer $\leq 28$ Tage (n=99)	Maximale Lagerungs- dauer $>28$ Tage (n=184)	P-Wert
Hämoglobin bei ARDS-Beginn (g/dl)	10.50 [9.30, 12.05]	10.15 [9.20, 11.83]	0.325
Transfusionstrigger* (g/dl)	8.20 [7.53, 9.15]	8.20 [7.60, 8.90]	0.824
Transfundierte EKs pro Patient innerhalb der ersten 14 Tage (Anzahl)	3.00 [2.00, 6.00]	6.00 [3.00, 10.00]	$<0.001$
Transfundierte EKs pro Patient innerhalb der ersten 28 Tage (Anzahl)	4.00 [2.00, 8.00]	6.00 [3.00, 12.00]	$<0.001$
Ältestes transfundiertes EK pro Patient (Tage)	21.37 ( $\pm 5.52$ )	35.96 ( $\pm 3.89$ )	$<0.001$
Zeit bis zur ersten EK-Transfusion (Stunden)	16.25 [12.11, 19.29]	15.85 [11.63, 19.00]	0.501
Anzahl der Patienten, die weitere Blutprodukte erhalten haben, n (%)			
Thrombozytenkonzentrate	18 (18.2)	57 (31.0)	0.029
FFP	70 (70.7)	124 (67.4)	0.661

Angabe der Charakteristika nach Mittelwert ( $\pm$ Standardabweichung), Median [25%, 75% Quartilen] oder Häufigkeiten (%). Die Berechnung der P-Werte erfolgte über den t-test, den exakten Wilcoxon-Mann-Whitney-Test oder den exakten Fisher-Test.

EK: Erythrozytenkonzentrat, FFP: Fresh Frozen Plasma.

Die Auswertung des sekundären Endpunkts „Frei von Nierenersatzverfahren an Tag 28“ ließ auch bei dieser Gruppeneinteilung eine erfolgreiche Entwöhnung von Nierenersatzverfahren in der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer erkennen (SHR 0,5, 95%-KI 0,3-0,85,  $P=0,01$ ) (Abb. 5). Die SHR wurde für die signifikant unterschiedliche Anzahl der innerhalb der ersten 14 Tage verabreichten Erythrozytenkonzentrate adjustiert.

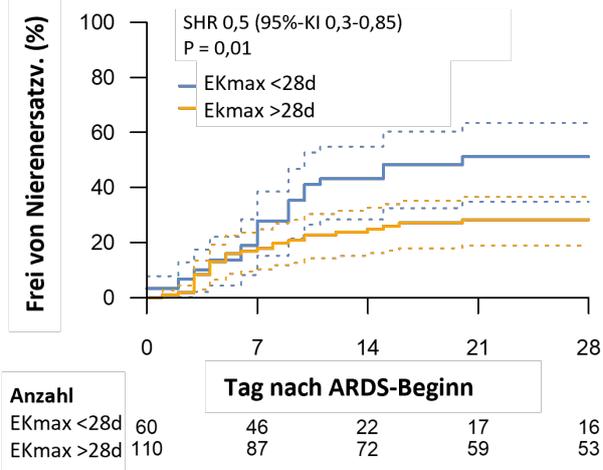
**Frei von Nierenersatzverfahren an Tag 28**

Abbildung 5: Gruppierung nach maximaler Lagerungsdauer: Frei von Nierenersatzverfahren an Tag 28 (modifiziert nach <sup>69</sup>).

## 4 Diskussion

### 4.1 Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse

Bei Patientinnen und Patienten mit ARDS ist die Transfusion von Erythrozytenkonzentrat mit einer durchschnittlichen Lagerungsdauer von über 28 Tagen nicht mit einem signifikanten Anstieg der Mortalität assoziiert. Auch für die sekundären Endpunkte Entwöhnung von invasiver Beatmung, Sedierung oder Vasopressorengabe konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe mit kurzer Lagerungsdauer und der Gruppe mit langer Lagerungsdauer beobachtet werden. Für den Endpunkt „Frei von Nierenersatzverfahren“ konnte für die Gruppe mit langer Lagerungsdauer eine um 75% verringerte Wahrscheinlichkeit für eine erfolgreichen Entwöhnung von Nierenersatzverfahren innerhalb der ersten 28 Tage nach ARDS-Beginn beobachtet werden.

Bei einer Gruppierung nach dem ältesten transfundierten Erythrozytenkonzentrat zeigte sich, dass sich bereits die Transfusion eines einzigen Erythrozytenkonzentrats mit einer Lagerungsdauer >28 Tagen negativ auf die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Entwöhnung von Nierenersatzverfahren innerhalb von 28 Tagen nach ARDS-Beginn auswirkt.

### 4.2 Interpretation der Ergebnisse

Die Verteilung der Basischarakteristika und Transfusionsparameter der Patientinnen und Patienten unterschied sich zwischen den Gruppen lediglich signifikant im Hinblick auf das Tidalvolumen der Beatmung nach initialer Optimierung der Beatmungsparameter. Dies wurde im Rahmen der Regressionsanalyse berücksichtigt. Auch die Anzahl der transfundierten Erythrozytenkonzentrate war ähnlich. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die beobachteten Effekte nicht auf eine grundlegende Ungleichverteilungen der Patienteneigenschaften zwischen den Gruppen oder eine ungleiche Zensierung zurückzuführen sind. Zudem ist die mittlere Differenz der durchschnittlichen Lagerungsdauern beider Gruppen deutlich verschieden und lässt so gute Rückschlüsse auf den Alterseffekt bei ansonsten sehr ähnlichen Charakteristika zu.

Bei der Gruppierung nach dem ältesten transfundierten Erythrozytenkonzentrat zeigte sich ein signifikant erhöhtes Transfusionsvolumen in den ersten 14 und 28 Tagen für die

Gruppe mit einer maximalen Lagerungsdauer von über 28 Tagen. Bei einer Normalverteilung der Lagerungsdauer lässt sich dies durch die mit steigender Anzahl von transfundierten Erythrozytenkonzentraten ebenfalls ansteigende Wahrscheinlichkeit, ein Erythrozytenkonzentrat mit einer Lagerungsdauer von über 28 Tagen zu erhalten, erklären.

Zudem wurden Patientinnen und Patienten in der Gruppe mit einer maximalen Lagerungsdauer von über 28 Tagen zu einem höheren Anteil mit Thrombozytenkonzentraten transfundiert. Dies ist ein weiterer Hinweis für ein am ehesten insgesamt erhöhtes Transfusionsvolumen in dieser Gruppe. Eine Rückführung auf unterschiedliche Transfusionsstrategien ist bei ähnlichen Transfusionstriggern eher unwahrscheinlich. Diese Analyse bestätigte zudem, dass der Effekt einer verzögerten Entwöhnung von Nierenersatzverfahren bereits zu beobachten ist, wenn das älteste Erythrozytenkonzentrat im Gegensatz zum Durchschnitt länger als 28 Tagen gelagert wurde. Dieser Einfluss auf die Erholung der Nierenfunktion lässt sich möglicherweise auf die beschriebenen nephrotoxischen Pathomechanismen einer bei erhöhter Lagerungsdauer auftretenden verstärkten Hämolyse erklären (s. 1.1.2 Hämolyse und Abbauprodukte von Erythrozyten, s. 1.2.2 Veränderungen von Erythrozyten über die Lagerungsdauer).

#### **4.3 Einbettung der Ergebnisse in den bisherigen Forschungsstand**

Das Ergebnis des primären Endpunkts deckt sich mit den Beobachtungen der vier RCTs (s. 1.4 Stand der Forschung), dass eine unterschiedliche Lagerungsdauer transfundierter Erythrozytenkonzentrate keinen signifikanten Einfluss auf die Mortalität hat.<sup>20,59,60,61</sup> Während zuvor traumatologische, kardiochirurgische und kritisch kranke Patientenkollektive mit einem Fokus auf niedrige und normale Lagerungsdauern (durchschnittliche kurze Lagerungsdauer: 6-13 Tage vs. durchschnittliche lange Lagerungsdauer: 20-24 Tage s. 1.4 Stand der Forschung) untersucht wurden, konnte durch die vorliegende Studie dies nun auch für Patientinnen und Patienten mit dem Krankheitsbild eines ARDS insbesondere im Hinblick auf normale und lange Lagerungsdauern von Erythrozytenkonzentraten (durchschnittliche kurze Lagerungsdauer: 20,3 Tage, durchschnittliche lange Lagerungsdauer: 32,0 Tage) gezeigt werden.

In retrospektiven klinischen Studien wurden Hinweise auf einen negativen Einfluss einer langen Lagerungsdauer auf die Nierenfunktion an anderen Patientenkollektiven beschrieben. So konnte eine erhöhte Inzidenz von akutem Nierenversagen nach der Transfusion

von Erythrozytenkonzentraten mit Lagerungsdauern von über 14 Tagen bei herzchirurgischen Eingriffen, traumatologischen Eingriffen und Lebertransplantationen beobachtet werden.<sup>56,57,70</sup> Dass eine geringere Wahrscheinlichkeit der Erholung der Nierenfunktion mit der Lagerungsdauer der transfundierten Erythrozytenkonzentrate assoziiert ist, konnte auch in der vorliegenden Studie an Patientinnen und Patienten mit ARDS beobachtet werden.

#### **4.4 Limitationen**

Es handelt sich bei dieser Studie um eine retrospektive Kohortenstudie, sodass alle Beobachtungen und Analysen letztendlich nur eine Beobachtung einer Assoziation von Lagerungsdauern der Erythrozytenkonzentrate und den beschriebenen Endpunkten zulassen. Ein Kausalzusammenhang kann daher nicht ermittelt werden.

Patientinnen und Patienten, die eine Therapie mit einem ECLS erhielten, wurden aufgrund der durch die Blutzirkulation im extrakorporalen System vermehrt auftretenden Hämolyse ausgeschlossen (s. 2.1.1 Studienpopulation, s.1.3.2 Therapie des ARDS). Allerdings ist die Anwendung von ECLS als Rescue-Therapie (s. 1.3.2 Therapie des ARDS) den besonders schwer erkrankten Patientinnen und Patienten vorbehalten, die somit aus dieser Studie ausgeschlossen wurden. Trotzdem wiesen weiterhin jeweils über 70% der eingeschlossenen Patientinnen und Patienten beider Gruppen ein schweres ARDS auf. Signifikante Differenzen der Basis- und Transfusionscharakteristika zwischen den Gruppen wurden über die multiplen Regressionsanalysen berücksichtigt. Die Gruppen wurden anhand der durchschnittlichen Lagerungsdauer aller in den ersten vierzehn Tagen verabreichten Erythrozytenkonzentrate gebildet. Es lassen sich demnach nur kumulative Effekte einer erhöhten Lagerungsdauer, nicht aber die Auswirkungen einzelner Erythrozytenkonzentrate mit einer bestimmten Lagerungsdauer, beobachten.

Sofern die Transfusion des Erythrozytenkonzentrats im gewählten Betrachtungszeitraum stattfand, wurde der genaue Zeitpunkt der Transfusion nicht berücksichtigt. Es ist unklar, ob die Transfusion eines Erythrozytenkonzentrat mit langer Lagerungsdauer am ersten Tag nach ARDS-Beginn einen größeren Einfluss auf das Outcome hat als am 14. Tag.

#### **4.5 Implikationen für Praxis und/oder zukünftige Forschung**

Obwohl keine kausalen Zusammenhänge ergründet werden können, legen die Ergebnisse dieser Studie die Empfehlung nahe, Patientinnen und Patienten mit ARDS in Hinblick auf eine verbesserte Erholung der Nierenfunktion bevorzugt mit Erythrozytenkonzentraten mit einer Lagerungsdauer von unter 28 Tagen zu transfundieren.

Zur Klärung des Kausalzusammenhanges zwischen der Transfusion von Erythrozytenkonzentraten mit einer Lagerungsdauer von unter 28 Tagen und der schnelleren Entwöhnung von einer Nierenersatztherapie bedarf es einer prospektiven, randomisierten und kontrollierten klinischen Studie.

## 5 Schlussfolgerungen

Bei Patientinnen und Patienten mit ARDS ist die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten aus dem letzten Drittel der erlaubten Lagerungsdauer nicht mit einem signifikanten Anstieg der Mortalität assoziiert. Weiterhin ist die mittlere Lagerungsdauer der transfundierten Erythrozytenkonzentrate nicht mit einer veränderten Entwöhnung von invasiver Beatmung, Sedierung oder Vasopressorengabe innerhalb der ersten 28 Tage nach ARDS-Beginn assoziiert. Allerdings scheint ein Zusammenhang zwischen der Transfusion von Erythrozytenkonzentraten mit einer langen Lagerungsdauer und einer längeren Abhängigkeit von Nierenersatzverfahren innerhalb der ersten 28 Tage nach ARDS-Beginn zu bestehen. Dieser Zusammenhang könnte bereits ab der Transfusion eines Erythrozytenkonzentrats von über 28 Tagen Lagerungsdauer nachweisbar sein. Um die Kausalität dieser Beobachtungen zu überprüfen sind weitere prospektive klinische Untersuchungen notwendig.

## Literaturverzeichnis

1. Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S. Physiologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2019.
2. Greer P, ed. Wintrobe's Clinical Hematology, Section 2 The Erythrocyte The Birth, Life, and Death of Red Blood Cells: Erythropoiesis, The Mature Red Blood Cell, and Cell Destruction. 13th ed. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins, 2014.
3. Ashby W. The Determination of the Length of Life of Transfused Blood Corpuscles in Man. *J Exp Med* 1919;(Feb 28;29(3)):267–81.
4. Schaer DJ, Buehler PW, Alayash AI, Belcher JD, Vercellotti GM. Hemolysis and free hemoglobin revisited: exploring hemoglobin and heme scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood* 2013;121:1276–84.
5. Balla J, Vercellotti GM, Jeney V, Yachie A, Varga Z, Jacob HS, Eaton JW, Balla G. Heme, heme oxygenase, and ferritin: how the vascular endothelium survives (and dies) in an iron-rich environment. *Antioxid Redox Signal* 2007;9:2119–37.
6. Nakai K, Sakuma I, Ohta T, Ando J, Kitabatake A, Nakazato Y, Takahashi TA. Permeability characteristics of hemoglobin derivatives across cultured endothelial cell monolayers. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1998;132:313–9.
7. Kehrer JP. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 2000;149:43–50.
8. Sadrzadeh SM, Graf E, Panter SS, Hallaway PE, Eaton JW. Hemoglobin. A biologic fenton reagent. *Journal of Biological Chemistry* 1984;259:14354–6.
9. Gow A, Luchsinger B, Pawlowski J, Singel D, Stamler J. The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999;(96):9027–32.
10. Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, Hogg N, Cannon RO, Schechter AN, Gladwin MT. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nat Med* 2002;8:1383–9.
11. Berra L, Pinciroli R, Stowell CP, Wang L, Yu B, Fernandez BO, Feelisch M, Mietto C, Hod EA, Chipman D, Scherrer-Crosbie M, Bloch KD, Zapol WM. Autologous transfusion of stored red blood cells increases pulmonary artery pressure. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;190:800–7.
12. Minneci PC, Deans KJ, Zhi H, Yuen PST, Star RA, Banks SM, Schechter AN, Natanson C, Gladwin MT, Solomon SB. Hemolysis-associated endothelial dysfunction mediated by accelerated NO inactivation by decompartmentalized oxyhemoglobin. *J Clin Invest* 2005;115:3409–17.

13. Feola M, Simoni J, Tran R, Canizaro PC. Nephrotoxicity of hemoglobin solutions. *Bio-mater Artif Cells Artif Organs* 1990;18:233–49.
14. Zager RA, Gamelin LM. Pathogenetic mechanisms in experimental hemoglobinuric acute renal failure. *Am J Physiol* 1989;256(3 Pt 2):F446-F455.
15. Henseler O. Tabellen Gewinnung, Herstellung, Import, Export und Verbrauch. Paul-Ehrlich-Institut. 2007-2018. <https://www.pei.de/DE/newsroom/pflichtberichte/21tfg/21-tfg-berichte-node.html> (letzter Zugriff 09.04.2022 21:20).
16. Bundesärztekammer. Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Gesamtnovelle 2020., 2020. [https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user\\_upload/downloads/pdf-Ordner/MuE/Querschnitts-Leitlinien\\_BAEK\\_zur\\_Therapie\\_mit\\_Blutkomponenten\\_und\\_Plasmaderivaten-Gesamtnovelle\\_2020.pdf](https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/MuE/Querschnitts-Leitlinien_BAEK_zur_Therapie_mit_Blutkomponenten_und_Plasmaderivaten-Gesamtnovelle_2020.pdf) (letzter Zugriff 09.04.2022 21:23).
17. Zentrum für Transfusionsmedizin und Zelltherapie Berlin. Gebrauchsinformation und Fachinformation - Erythrozytenkonzentrat in Additivlösung aus Vollblutentnahme. Zentrum für Transfusionsmedizin und Zelltherapie Berlin. [https://transfusionsmedizin.charite.de/fileadmin/user\\_upload/microsites/m\\_cc14/transfusionsmedizin/PDF-Internes\\_Angebot/Gebrauchsinformationen\\_\\_GFI\\_/2020\\_GFI\\_EK\\_PAGGSM.pdf](https://transfusionsmedizin.charite.de/fileadmin/user_upload/microsites/m_cc14/transfusionsmedizin/PDF-Internes_Angebot/Gebrauchsinformationen__GFI_/2020_GFI_EK_PAGGSM.pdf) (letzter Zugriff 09.04.2022 21:30).
18. Hollstein G. Pschyrembel online - CPD-Stabilisator, 2021. <https://www.pschyrembel.de/CPD-Stabilisator/K05AV/doc/> (letzter Zugriff: 09.04.2022 22:05).
19. HAEMA. Gebrauchsinformation und Fachinformation Erythrozytenkonzentrat in PAGG-M. <https://portal.dimdi.de/amispb/doc/pei/Web/3002659-palde-20090122.pdf> (letzter Zugriff: 09.04.2022 22:08).
20. Cooper DJ, McQuilten ZK, Nichol A, Ady B, Aubron C, Bailey M, Bellomo R, Gantner D, Irving DO, Kaukonen K-M, McArthur C, Murray L, Pettilä V, French C. Age of Red Cells for Transfusion and Outcomes in Critically Ill Adults. *N Engl J Med* 2017;377:1858–67.
21. Button LN, DeWolf WC, Newburger PE, Jacobson MS, Kevy SV. The effects of irradiation on blood components. *Transfusion* 1981;21:419–26.
22. Antosik A, Czubak K, Gajek A, Marczak A, Glowacki R, Borowczyk K, Zbikowska HM. Influence of Pre-Storage Irradiation on the Oxidative Stress Markers, Membrane Integrity, Size and Shape of the Cold Stored Red Blood Cells. *Transfus Med Hemother* 2015;42:140–8.
23. Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components 13th edition Recommendation No. R(95) 15. Council of Europe, Committee of Ministers, 2007.
24. RDQM. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 19th edition Recommendation No. R(95) 15. Council of Europe, Committee of Ministers, 2017.

25. Bennett-Guerrero E, Veldman TH, Doctor A, Telen MJ, Ortel TL, Reid TS, Mulherin MA, Zhu H, Buck RD, Califf RM, McMahon TJ. Evolution of adverse changes in stored RBCs. *PNAS* 2007;(104):17063–8.
26. Blasi B, D'Alessandro A, Ramundo N, Zolla L. Red blood cell storage and cell morphology. *Transfus Med* 2012;22:90–6.
27. Sparrow RL, Patton KA. Supernatant from stored red blood cell primes inflammatory cells: influence of prestorage white cell reduction. *Transfusion* 2004;44:722–30.
28. Silliman CC, Moore EE, Kelher MR, Khan SY, Gellar L, Elzi DJ. Identification of lipids that accumulate during the routine storage of prestorage leukoreduced red blood cells and cause acute lung injury. *Transfusion* 2011;51:2549–54.
29. Donadee C, Raat NJH, Kanas T, Tejero J, Lee JS, Kelley EE, Zhao X, Liu C, Reynolds H, Azarov I, Frizzell S, Meyer EM, Donnenberg AD, Qu L, Triulzi D, Kim-Shapiro DB, Gladwin MT. Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell-free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion. *Circulation* 2011;124:465–76.
30. Hod EA, Brittenham GM, Billote GB, Francis RO, Ginzburg YZ, Hendrickson JE, Jhang J, Schwartz J, Sharma S, Sheth S, Sireci AN, Stephens HL, Stotler BA, Wojczyk BS, Zimring JC, Spitalnik SL. Transfusion of human volunteers with older, stored red blood cells produces extravascular hemolysis and circulating non-transferrin-bound iron. *Blood* 2011;118:6675–82.
31. Rapido F, Brittenham GM, Bandyopadhyay S, La Carpia F, L'Acqua C, McMahon DJ, Rebbaa A, Wojczyk BS, Netterwald J, Wang H, Schwartz J, Eisenberger A, Soffing M, Yeh R, Divgi C, Ginzburg YZ, Shaz BH, Sheth S, Francis RO, Spitalnik SL, Hod EA. Prolonged red cell storage before transfusion increases extravascular hemolysis. *J Clin Invest* 2017;127:375–82.
32. Stapley R, Owusu BY, Brandon A, Cusick M, Rodriguez C, Marques MB, Kerby JD, Barnum SR, Weinberg JA, Lancaster JR, Patel RP. Erythrocyte storage increases rates of NO and nitrite scavenging: implications for transfusion-related toxicity. *Biochem J* 2012;446:499–508.
33. Hunsicker O, Hessler K, Krannich A, Boemke W, Braicu I, Sehouli J, Meyer O, Pruß A, Spies C, Feldheiser A. Duration of storage influences the hemoglobin rising effect of red blood cells in patients undergoing major abdominal surgery. *Transfusion* 2018;58:1870–80.
34. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA* 2012;307:2526–33.
35. Seeber C. S3 Leitlinie Invasive Beatmung 2017.

36. Azoulay E, Lemiale V, Mourvillier B, Garrouste-Orgeas M, Schwebel C, Ruckly S, Argaud L, Cohen Y, Souweine B, Papazian L, Reignier J, Marcotte G, Siami S, Kallel H, Darmon M, Timsit J-F. Management and outcomes of acute respiratory distress syndrome patients with and without comorbid conditions. *Intensive Care Med* 2018;44:1050–60.
37. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, Gattinoni L, van Haren F, Larsson A, McAuley DF, Ranieri M, Rubenfeld G, Thompson BT, Wrigge H, Slutsky AS, Pesenti A. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA* 2016;315:788–800.
38. Calfee CS, Eisner MD, Ware LB, Thompson BT, Parsons PE, Wheeler AP, Korpak A, Matthay MA. Trauma-associated Lung Injury Differs Clinically and Biologically from Acute Lung Injury due to Other Clinical Disorders. *Crit Care Med* 2007;(35(10)):2243-2250.
39. Rezoagli E, Fumagalli R, Bellani G. Definition and epidemiology of acute respiratory distress syndrome. *Ann Transl Med* 2017;5:282.
40. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M, Stern EJ, Hudson LD. Incidence and Outcomes of Acute Lung Injury. *N Engl J Med* 2005;353:1685–93.
41. Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. The acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest* 2012;122:2731–40.
42. Tomashefski JF. Pulmonary Pathology of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Clinics in Chest Medicine* 2000;21:435–66.
43. Poynter SE, LeVine AM. Surfactant biology and clinical application. *Critical Care Clinics* 2003;19:459–72.
44. Gottschaldt U, Reske, AW. Pathophysiologie des Lungenversagens. *Anästhesiologie Intensivmedizin* 2018;(59):249–64.
45. Hofstra J-JH, Haitsma JJ, Juffermans NP, Levi M, Schultz MJ. The role of bronchoalveolar hemostasis in the pathogenesis of acute lung injury. *Semin Thromb Hemost* 2008;34:475–84.
46. Amato MBP, Meade MO, Slutsky AS, Brochard L, Costa ELV, Schoenfeld DA, Stewart TE, Briel M, Talmor D, Mercat A, Richard J-CM, Carvalho CRR, Brower RG. Driving pressure and survival in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2015;372:747–55.
47. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with Lower Tidal Volumes as Compared with Traditional Tidal Volumes for Acute Lung Injury and the Acute Respiratory Distress Syndrome.
48. Deutsche Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin. S3-Leitlinie Invasive Beatmung und Einsatz extrakorporaler Verfahren bei akuter respiratorischer Insuffizienz. 2017.

49. Bloomfield R, Noble DW, Sudlow A. Prone position for acute respiratory failure in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;(11):CD008095.
50. Jandu AS, Vidgeon S, Ahmed N. Anaemia and transfusion triggers in critically ill patients - What we have learnt thus far. *J Intensive Care Soc* 2019;20:284–9.
51. Graw JA, Baron DM, Francis RCE. Die Bedeutung der Hämolyse in Anästhesie und Intensivmedizin [The Relevance of Hemolysis in Anesthesia and Intensive Care Medicine]. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2018;53:296–305.
52. Materne LA, Hunsicker O, Menk M, Graw JA. Hemolysis in patients with Extracorporeal Membrane Oxygenation therapy for severe Acute Respiratory Distress Syndrome - a systematic review of the literature. *Int J Med Sci* 2021;18:1730–8.
53. Hunsicker O, Materne L, Bünger V, Krannich A, Balzer F, Spies C, Francis RC, Weber-Carstens S, Menk M, Graw JA. Lower versus higher hemoglobin threshold for transfusion in ARDS patients with and without ECMO. *Crit Care* 2020;24:697.
54. Martucci G, Panarello G, Occhipinti G, Ferrazza V, Tuzzolino F, Bellavia D, Sanfilippo F, Santonocito C, Bertani A, Vitulo P, Pilato M, Arcadipane A. Anticoagulation and Transfusions Management in Venovenous Extracorporeal Membrane Oxygenation for Acute Respiratory Distress Syndrome: Assessment of Factors Associated With Transfusion Requirements and Mortality. *J Intensive Care Med* 2019;34:630–9.
55. Wang D, Sun J, Solomon SB, Klein HG, Natanson C. Transfusion of older stored blood and risk of death: a meta-analysis. *Transfusion* 2012;52:1184–95.
56. Koch CG, Li L, Di Sessler, Figueroa P, Hoeltge GA, Mihaljevic T, Blackstone EH. Duration of Red-Cell Storage and Complications after Cardiac Surgery. *N Engl J Med* 2008;(358):1229-39.
57. Weinberg JA, McGwin G, Marques MB, Cherry SA, Reiff DA, Kerby JD, Rue LW. Transfusions in the less severely injured: does age of transfused blood affect outcomes? *J Trauma* 2008;65:794–8.
58. Pettilä V, Westbrook AJ, Nichol AD, Bailey MJ, Wood EM, Syres G, Phillips LE, Street A, French C, Murray L, Orford N, Santamaria JD, Bellomo R, Cooper DJ. Age of red blood cells and mortality in the critically ill. *Crit Care* 2011;15:R116.
59. Steiner ME, Ness PM, Assmann SF, Triulzi DJ, Sloan SR, Delaney M, Granger S, Bennett-Guerrero E, Blajchman MA, Scavo V, Carson JL, Levy JH, Whitman G, D'Andrea P, Pulkrabek S, Ortel TL, Bornikova L, Raife T, Puca KE, Kaufman RM, Nuttall GA, Young PP, Youssef S, Engelman R, Greilich PE, Miles R, Josephson CD, Bracey A, Cooke R, McCullough J, Hunsaker R, Uhl L, McFarland JG, Park Y, Cushing MM, Klodell CT, Karanam R, Roberts

PR, Dyke C, Hod EA, Stowell CP. Effects of red-cell storage duration on patients undergoing cardiac surgery. *N Engl J Med* 2015;372:1419–29.

**60.** Lacroix J, Hébert PC, Fergusson DA, Tinmouth A, Cook DJ, Marshall JC, Clayton L, McIntyre L, Callum J, Turgeon AF, Blajchman MA, Walsh TS, Stanworth SJ, Campbell H, Cappellet G, Tiberghien P, Bardiaux L, van de Wating L, van der Meer NJ, Sabri E, Vo D. Age of transfused blood in critically ill adults. *N Engl J Med* 2015;372:1410–8.

**61.** Heddle NM, Cook RJ, Arnold DM, Liu Y, Barty R, Crowther MA, Devereaux PJ, Hirsh J, Warkentin TE, Webert KE, Roxby D, Sobieraj-Teague M, Kurz A, Sessler DI, Figueroa P, Ellis M, Eikelboom JW. Effect of Short-Term vs. Long-Term Blood Storage on Mortality after Transfusion. *N Engl J Med* 2016;375:1937–45.

**62.** Zallen G, Offner PJ, Moore EE, Blackwell J, Ciesla DJ, Gabriel J, Denny C, Silliman CC. Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *The American Journal of Surgery* 1999;178:570–2.

**63.** Offner PJ, Moore EE, Biffl WL, Johnson JL, Silliman CC. Increased rate of infection associated with transfusion of old blood after severe injury. *Arch Surg* 2002;137:711-6; discussion 716-7.

**64.** Leal-Noval SR, Jara-López I, García-Garmendia JL, Marín-Niebla A, Herruzo-Avilés A, Camacho-Laraña P, Loscertales J. Influence of erythrocyte concentrate storage time on postsurgical morbidity in cardiac surgery patients. *Anesthesiology* 2003;98:815–22.

**65.** Janz DR, Zhao Z, Koyama T, May AK, Bernard GR, Bastarache JA, Young PP, Ware LB. Longer storage duration of red blood cells is associated with an increased risk of acute lung injury in patients with sepsis. *Ann Intensive Care* 2013;3:33.

**66.** Zilberberg MD, Carter C, Lefebvre P, Raut M, Vekeman F, Duh MS, Shorr AF. Red blood cell transfusions and the risk of acute respiratory distress syndrome among the critically ill: a cohort study. *Crit Care* 2007;11:R63.

**67.** Parsons EC, Hough CL, Seymour CW, Cooke CR, Rubenfeld GD, Watkins TR. Red blood cell transfusion and outcomes in patients with acute lung injury, sepsis and shock. *Crit Care* 2011;15:R221.

**68.** Yehya N, Harhay MO, Curley MAQ, Schoenfeld DA, Reeder RW. Reappraisal of Ventilator-Free Days in Critical Care Research. *Am J Respir Crit Care Med* 2019;200:828–36.

**69.** Graw JA, Bünger V, Materne LA, Krannich A, Balzer F, Francis RCE, Pruß A, Spies CD, Kuebler WM, Weber-Carstens S, Menk M, Hunsicker O. Age of Red Cells for Transfusion and Outcomes in Patients with ARDS. *J Clin Med* 2022;11:245.

**70.** Wang Y, Li Q, Ma T, Liu X, Wang B, Wu Z, Dang S, Lv Y, Wu R. Transfusion of Older Red Blood Cells Increases the Risk of Acute Kidney Injury After Orthotopic Liver Transplantation: A Propensity Score Analysis. *Anesth Analg* 2018;127:202–9.

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Victoria Wenshan Bünger, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Assoziation von Lagerungsdauer transfundierter Erythrozytenkonzentrate und Outcome von Patientinnen und Patienten mit ARDS/Association of Red Cell Storage Duration and Outcomes in Patients with ARDS selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Victoria Wenshan Bünger hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: *Graw JA\*, **Bünger V\***, Materne LA, Krannich A, Balzer F, Francis RCE, Pruß A, Spies CD, Kuebler WM, Weber-Carstens S, Menk M, Hunsicker O.* Age of Red Cells for Transfusion and Outcomes in Patients with ARDS. *Journal of Clinical Medicine.* 2022; 11(1):245.

Beitrag im Einzelnen:

Nach initialer Literaturrecherche erstellte Frau Victoria Wenshan Bünger gemeinsam mit den Betreuern Konzept und Design der Studie. Sie führte die Patientenselektion und Charakterisierung der Studienkohorte durch sowie den Aufbau der Datenbank, bei dem sie federführend insbesondere die Akquise und Aufbereitung der manuell zu erhebenden Daten aus den elektronischen Patientenakten übernahm. Sie übernahm die Planung und Durchführung der statistischen Aufbereitung der Daten sowie erstellte die Abbildungen 1, 3 und 4 sowie die Tabellen 1 und 2 mit Überprüfung durch Betreuer und Statistiker. Zusammen mit dem Koautor erfolgte die Interpretation der Ergebnisse, die Datenvisualisierung, der Entwurf des Manuskriptes inklusive Literaturlauswahl sowie die folgenden Revisionen entsprechend der Anmerkungen von Coautoren und Journal-Reviewern.

Publikation 2: *Hunsicker O, Materne L, **Bünger V**, Krannich A, Balzer F, Spies C, Francis RC, Weber-Carstens S, Menk M, Graw JA.* Lower versus higher hemoglobin threshold for transfusion in ARDS patients with and without ECMO. *Crit Care.* 2020 Dec 16;24(1):697. doi: 10.1186/s13054-020-03405-4. PMID: 33327953; PMCID: PMC7740070.

Beitrag im Einzelnen:

Frau Victoria Wenshan Bünger baute arbeitsteilig zusammen mit Herrn Lorenz Materne die der Studie zugrundeliegende Datenbank durch manuelle Extraktion der zu erhebenden Daten aus den elektronischen Patientenakten auf. Datennacherhebungen im Rahmen von Re-Analysen und während der multiplen Review-Prozesse erfolgten schwerpunktmäßig durch Frau Bünger. Frau Bünger unterstützte bei der Interpretation der Daten und Analysen sowie beim Verfassen und der Überarbeitung des Manuskripts.

---

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

---

Unterschrift der Doktorandin

## Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2020** Selected Editions: SCIE,SSCI  
 Selected Categories: **"MEDICINE, GENERAL and INTERNAL"**  
 Selected Category Scheme: WoS  
**Gesamtanzahl: 168 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE	464,351	91.245	0.631180
2	LANCET	369,601	79.321	0.445240
3	JAMA-JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION	224,147	56.272	0.279750
4	Nature Reviews Disease Primers	14,221	52.329	0.043550
5	BMJ-British Medical Journal	158,747	39.890	0.150630
6	ANNALS OF INTERNAL MEDICINE	72,588	25.391	0.082030
7	Lancet Digital Health	1,260	24.519	0.003000
8	JAMA Internal Medicine	25,002	21.873	0.077060
9	Journal of Cachexia Sarcopenia and Muscle	5,908	12.910	0.009440
10	PLOS MEDICINE	42,445	11.069	0.061920
11	Cochrane Database of Systematic Reviews	81,212	9.266	0.121830
12	JOURNAL OF INTERNAL MEDICINE	13,801	8.989	0.011960
13	BMC Medicine	20,511	8.775	0.040120
14	JOURNAL OF TRAVEL MEDICINE	5,260	8.490	0.004900
15	JAMA Network Open	12,653	8.483	0.039940
16	CANADIAN MEDICAL ASSOCIATION JOURNAL	19,683	8.262	0.014960
17	MEDICAL JOURNAL OF AUSTRALIA	14,127	7.738	0.011150
18	MAYO CLINIC PROCEEDINGS	20,504	7.616	0.025820

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
19	AMYLOID-JOURNAL OF PROTEIN FOLDING DISORDERS	2,202	7.141	0.003280
20	Translational Research	5,766	7.012	0.007980
21	Deutsches Arzteblatt International	6,542	5.594	0.007550
22	MEDICAL CLINICS OF NORTH AMERICA	4,487	5.456	0.005110
23	BRITISH JOURNAL OF GENERAL PRACTICE	8,303	5.386	0.009300
24	JOURNAL OF THE ROYAL SOCIETY OF MEDICINE	4,981	5.344	0.002310
25	PANMINERVA MEDICA	1,003	5.197	0.000930
26	ANNALS OF FAMILY MEDICINE	6,770	5.166	0.009280
27	JOURNAL OF GENERAL INTERNAL MEDICINE	26,727	5.128	0.028950
28	Frontiers in Medicine	6,143	5.091	0.013050
29	AMERICAN JOURNAL OF PREVENTIVE MEDICINE	28,400	5.043	0.037310
30	AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE	29,186	4.965	0.021220
31	Journal of Personalized Medicine	1,071	4.945	0.002290
32	MINERVA MEDICA	1,338	4.806	0.001280
33	PALLIATIVE MEDICINE	7,332	4.762	0.009100
34	ANNALS OF MEDICINE	5,619	4.709	0.004060
35	EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION	8,197	4.686	0.005980
36	AMERICAN JOURNAL OF CHINESE MEDICINE	4,572	4.667	0.003020
37	European Journal of Internal Medicine	7,083	4.487	0.009330

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
38	BRITISH MEDICAL BULLETIN	5,494	4.291	0.003290
39	Journal of Clinical Medicine	21,502	4.241	0.031360
40	PREVENTIVE MEDICINE	20,705	4.018	0.028980
41	POSTGRADUATE MEDICINE	3,169	3.840	0.003850
42	DM DISEASE-A-MONTH	951	3.800	0.000600
43	PAIN MEDICINE	10,086	3.750	0.012300
44	International Journal of Medical Sciences	5,677	3.738	0.005680
45	Diagnostics	2,557	3.706	0.003180
46	JOURNAL OF URBAN HEALTH-BULLETIN OF THE NEW YORK ACADEMY OF MEDICINE	5,637	3.671	0.005810
47	JOURNAL OF PAIN AND SYMPTOM MANAGEMENT	15,063	3.612	0.015920
48	Journal of Translational Internal Medicine	457	3.451	0.000990
49	Internal and Emergency Medicine	3,446	3.397	0.004890
50	Military Medical Research	2,279	3.329	0.001380
51	Archives of Medical Science	4,209	3.318	0.005000
52	AMERICAN FAMILY PHYSICIAN	9,415	3.292	0.007180
53	JOURNAL OF THE FORMOSAN MEDICAL ASSOCIATION	5,341	3.282	0.005130
54	Polish Archives of Internal Medicine-Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej	1,933	3.277	0.002150
55	CANADIAN FAMILY PHYSICIAN	4,641	3.275	0.005350
56	QJM-AN INTERNATIONAL JOURNAL OF MEDICINE	7,086	3.210	0.003550

# Druckexemplar der Publikation



Article

## Age of Red Cells for Transfusion and Outcomes in Patients with ARDS

Jan A. Graw <sup>1,2,3,\*</sup>, Victoria Bünger <sup>1,†</sup>, Lorenz A. Materne <sup>1</sup>, Alexander Krannich <sup>4</sup>, Felix Balzer <sup>5</sup>, Roland C. E. Francis <sup>1,2</sup>, Axel Pruß <sup>6</sup>, Claudia D. Spies <sup>1,2</sup>, Wolfgang M. Kuebler <sup>7</sup>, Steffen Weber-Carstens <sup>1,2</sup>, Mario Menk <sup>1,2</sup> and Oliver Hunsicker <sup>1,2</sup>

- <sup>1</sup> Department of Anesthesiology and Operative Intensive Care Medicine (CCM/CVK), Charité-Universitätsmedizin Berlin, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin, Germany; Victoria.Buenger@charite.de (V.B.); lorenz.materne@charite.de (L.A.M.); roland.francis@charite.de (R.C.E.F.); claudia.spies@charite.de (C.D.S.); steffen.weber-carstens@charite.de (S.W.-C.); mario.menk@charite.de (M.M.); oliver.hunsicker@charite.de (O.H.)
  - <sup>2</sup> ARDS/ECMO Centrum Charité, Charité-Universitätsmedizin Berlin, 13353 Berlin, Germany
  - <sup>3</sup> Berlin Institute of Health (BIH), Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Germany
  - <sup>4</sup> Experimental and Clinical Research Center (ECRC), Charité-Universitätsmedizin Berlin, 10117 Berlin, Germany; alexander.krannich@charite.de
  - <sup>5</sup> Institute of Medical Informatics, Charité-Universitätsmedizin Berlin, 10115 Berlin, Germany; felix.balzer@charite.de
  - <sup>6</sup> Institute of Transfusion Medicine, Charité-Universitätsmedizin Berlin, 10117 Berlin, Germany; axel.pruss@charite.de
  - <sup>7</sup> Institute of Physiology, Charité-Universitätsmedizin Berlin, 10117 Berlin, Germany; wolfgang.kuebler@charite.de
- \* Correspondence: jan-adriaan.graw@charite.de  
 † These authors contributed equally to this work.



**Citation:** Graw, J.A.; Bünger, V.; Materne, L.A.; Krannich, A.; Balzer, F.; Francis, R.C.E.; Pruß, A.; Spies, C.D.; Kuebler, W.M.; Weber-Carstens, S.; et al. Age of Red Cells for Transfusion and Outcomes in Patients with ARDS. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 245. <https://doi.org/10.3390/jcm11010245>

Academic Editor: Tamas Szakmany

Received: 14 November 2021

Accepted: 29 December 2021

Published: 4 January 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Packed red blood cells (PRBCs), stored for prolonged intervals, might contribute to adverse clinical outcomes in critically ill patients. In this study, short-term outcome after transfusion of PRBCs of two storage duration periods was analyzed in patients with Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). Patients who received transfusions of PRBCs were identified from a cohort of 1044 ARDS patients. Patients were grouped according to the mean storage age of all transfused units. Patients transfused with PRBCs of a mean storage age  $\leq 28$  days were compared to patients transfused with PRBCs of a mean storage age  $> 28$  days. The primary endpoint was 28-day mortality. Secondary endpoints included failure-free days composites. Two hundred and eighty-three patients were eligible for analysis. Patients in the short-term storage group had similar baseline characteristics and received a similar amount of PRBC units compared with patients in the long-term storage group (five units (IQR, 3–10) vs. four units (2–8),  $p = 0.14$ ). The mean storage age in the short-term storage group was 20 ( $\pm 5.4$ ) days compared with 32 ( $\pm 3.1$ ) days in the long-term storage group (mean difference 12 days (95%-CI, 11–13)). There was no difference in 28-day mortality between the short-term storage group compared with the long-term storage group (hazard ratio, 1.36 (95%-CI, 0.84–2.21),  $p = 0.21$ ). While there were no differences in ventilator-free, sedation-free, and vasopressor-free days composites, patients in the long-term storage group compared with patients in the short-term storage group had a 75% lower chance for successful weaning from renal replacement therapy (RRT) within 28 days after ARDS onset (subdistribution hazard ratio, 0.24 (95%-CI, 0.1–0.55),  $p < 0.001$ ). Further analysis indicated that even a single PRBC unit stored for more than 28 days decreased the chance for successful weaning from RRT. Prolonged storage of PRBCs was not associated with a higher mortality in adults with ARDS. However, transfusion of long-term stored PRBCs was associated with prolonged dependence of RRT in critically ill patients with an ARDS.

**Keywords:** transfusion; red blood cells; ARDS

## 1. Introduction

Transfusion of packed red blood cells (PRBCs) is a frequent and often lifesaving therapy in critically ill patients. In the US, leukoreduced PRBCs can be stored for up to 42 days [1]. During the storage period, erythrocytes undergo complex morphologic and biochemical changes. Altered red cell membrane configuration and plasticity decrease erythrocyte stability, rendering RBCs prone to hemolysis with consecutive liberation of potassium, lactate dehydrogenase, microparticles, hemoglobin, and subsequently heme and iron into the storage solution or the vasculature of the transfusion recipient [2,3]. Besides disturbances of serum electrolytes, the released content of the RBCs causes vascular nitric oxide depletion, vasoconstriction, platelet aggregation, inflammation, mitochondrial damage, and production of reactive oxygen species [3–7]. Furthermore, bioactive lipids, cytokines, and chemokines are generated within the PRBC units during storage and can trigger immune reactions as well as systemic organ injury upon transfusion [8,9].

Whether transfusion of PRBCs after a prolonged storage interval has an impact on patient outcome is debated controversially. While preclinical data and smaller observational clinical studies suggest an association between the duration of PRBC storage and morbidity and mortality in critically ill patients, four large randomized controlled trials (RCTs) failed to detect a difference in survival or adverse effects in Intensive Care Unit (ICU) patients transfused with PRBCs of different storage ages [1,10–17]. The average storage age of the transfused PRBCs differed depending on the trial, from 6 to 13 days for the short-term group, and from 20 to 24 days for the long-term group [14–17]. Therefore, all four RCTs had insufficient power to examine adverse effects of PRBCs stored for longer than four weeks, the storage interval associated with the maximum of hemolysis [2,3,18,19]. In contrast, smaller, prospective clinical trials focusing on selected study populations demonstrated an increased rate of complications and adverse effects in patients transfused with PRBCs stored for a period closer to the maximum allowed 42 days of storage [20–22]. Despite the absence of RCT evidence to avoid transfusion of PRBCs at the end of the 6-week storage period, several countries, including the UK, Ireland, New Zealand, and the Netherlands, have limited the storage period of PRBCs to 35 days or less [17,23].

Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) is a common complication in ICU patients and is associated with a high mortality of 30–40% [24]. In patients with ARDS, frequent transfusions of PRBCs are necessary to maintain a sufficient blood oxygen carrying capacity to secure the supply of vital organs [25]. In this study, we compared the short-term outcome of patients with ARDS receiving PRBCs with median storage ages shorter or longer than 28 days.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Design and Setting

This retrospective cohort study included patients with ARDS admitted to the tertiary ARDS referral center at the Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum, Berlin, who received transfusions of PRBCs within 14 days after ARDS onset. Patients were selected from the electronic patient data management systems during the period from January 2007 to December 2018. Patients transfused with PRBCs of a mean storage age > 28 days were compared to patients transfused with PRBCs of a mean storage age ≤ 28 days for short-term outcome. Patients were transfused with leukoreduced, allogeneic PRBCs. The PRBC additive solutions used by the manufacturers during the study period were Adsol, PAGGS-M (phosphate-adenine-glucose-guanosine-saline-mannitol), or SAGM (saline-adenine-glucose-mannitol). The study was approved by the ethical committee of Charité-Universitätsmedizin Berlin (No. EA1/018/19).

### 2.2. Participants

Patients were eligible if they fulfilled the criteria of the Berlin Definition for ARDS [26]. Patients were excluded from analyses if they (1) received extracorporeal life support (ECLS),

(2) did not receive PRBC transfusions or had missing storage data, (3) were not transfused during the first 14 days after ARDS onset, (4) received at least one PRBC unit with a storage age > 42 days, or (5) received irradiated PRBCs. Although the majority of manufacturers adhere to the maximum storage of 42 days in the clinical routine, PRBCs produced with PAGGS-M additive solution are approved for storage up to 49 days in Germany. Therefore, to adjust the study cohort to international standards, patients transfused with PRBCs that were stored for >42 days ( $n = 17$ ) were excluded from the analysis.

### 2.3. PRBC Storage Preprocessing and Grouping

Investigating the storage age of PRBCs in non-randomized clinical studies is complex because patients who receive more than one unit of PRBCs are generally transfused with PRBCs of different storage ages. To handle multiple intra-patient storage ages, the mean storage age was calculated for each patient using all PRBC units transfused within the first 14 days after onset of ARDS. The first 14 days after ARDS onset were chosen because the daily transfusion requirements during ARDS treatment are highest during this period, as reported previously [25]. During storage, PRBCs undergo a significant number of biochemical and structural alterations with significant storage-induced damage after 28 days [3,27]. Therefore, a storage age of 28 days was chosen as a cutoff to group patients into a short-term storage group (PRBC mean storage age  $\leq 28$  days) and a long-term storage group (PRBC mean storage age > 28 days).

In the event of a significant association between the storage groups and at least one study endpoint, a complementary secondary analysis was performed to evaluate whether the transfusion of even a single long-term stored PRBC unit may affect patient outcome. For this, patients were regrouped according to the storage age of the oldest PRBC unit they had received using the same cutoff at a storage age of 28 days.

### 2.4. Endpoints and Data Sources

The primary endpoint was mortality within 28 days after ARDS onset. Secondary endpoints were “failure-free days” composites such as ventilator-free (VFDs), sedation-free, renal replacement therapy-free (RRT), and vasopressor-free days. The definition and analysis of the “failure-free days” composites were based on recent re-appraisal of the composite outcome measures in critical care research [28]. Details are provided in the Supplemental Methods.

As reported previously, the study data were obtained from the hospital’s electronic patient data management systems [25]. Further details are available in the Supplemental Methods.

### 2.5. Bias Handling

Allocation of allogeneic PRBCs with different storage ages is largely independent of medical circumstances. However, grouping patients according to their mean storage duration might induce a selection bias of baseline characteristics. Therefore, patients’ characteristics that were different between the storage groups were identified and considered in multivariable models.

### 2.6. Statistical Analyses

*T*-test and the exact Mann–Whitney *U* test were used to compare continuous data, as appropriate. Frequencies were tested using Fisher’s exact test. Histograms with normal distribution curves were used to visualize the distribution of mean storage age in the short-term and long-term storage group.

For the primary endpoint of 28-day mortality, the hazard ratio (HR) from Cox proportional hazards regression was used to compare the short-term and long-term storage groups. A multivariable regression model was performed to control for between-group differences, as appropriate. Scaled Schoenfeld residuals and HR-plots were used to check

for the proportional hazard assumption. An equal distribution of censoring was evaluated. Kaplan–Meier curves were used to visualize cumulative mortality over the 28-day period.

For the secondary endpoints, a competing risk regression was used retaining (not censoring) patients experiencing the competing event (death) in the risk set [28]. A sub-distribution hazard ratio (SHR) was provided that estimated the primary “net effect” size, which is the chance of the long-term storage group compared with the short-term storage group undergoing a prespecified event, such as weaning from mechanical ventilation, sedation, RRT, and vasopressors, accounting for the existence of the alternative outcome of death. Cumulative incidence curves were constructed for each secondary endpoint. All analyses were considered to be non-confirmatory, and a post hoc power analysis was omitted [29]. A two-tailed  $p$ -value  $< 0.05$  was considered statistically significant. R software, version 3.6.1 (R Project for Statistical Computing) was used for all analyses.

### 3. Results

A total of 1044 patients met the inclusion criteria within the analyzed time period. Of those, 761 patients were excluded because they did not receive PRBC transfusions or had missing storage data, received the first PRBC transfusion later than 14 days after ARDS onset, received at least one PRBC unit with a storage age  $> 42$  days, or received irradiated PRBCs (Figure 1). Thus, a total of 283 patients with storage data of 1954 transfused PRBC units (median five units (IQR, 2–9) per patient) were included for further analysis.

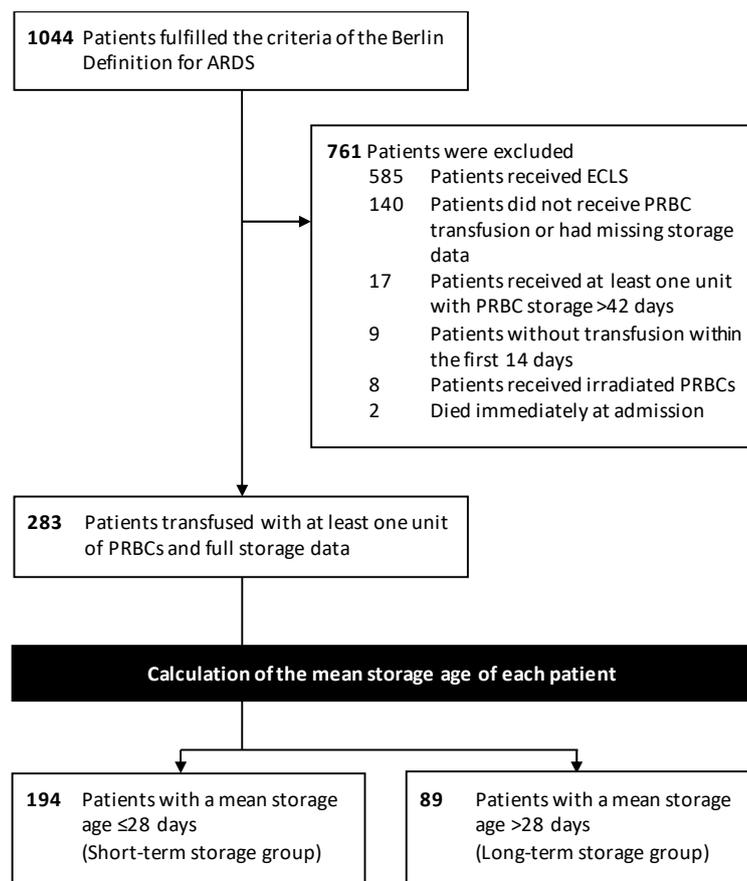


Figure 1. Study Flow diagram.

Baseline characteristics of the short-term and long-term storage groups are shown in Table 1. In general, patients received a lung-protective ventilation with low tidal volumes, high PEEP, and low driving pressures. Furthermore, most patients received ARDS rescue therapies such as prone positioning and therapy with inhaled nitric oxide. There were no differences in baseline characteristics such as demographics, ARDS severity, ARDS etiology, or ventilation parameters except for a slightly higher tidal volume in the short-term storage group.

**Table 1.** Characteristics of the patients.

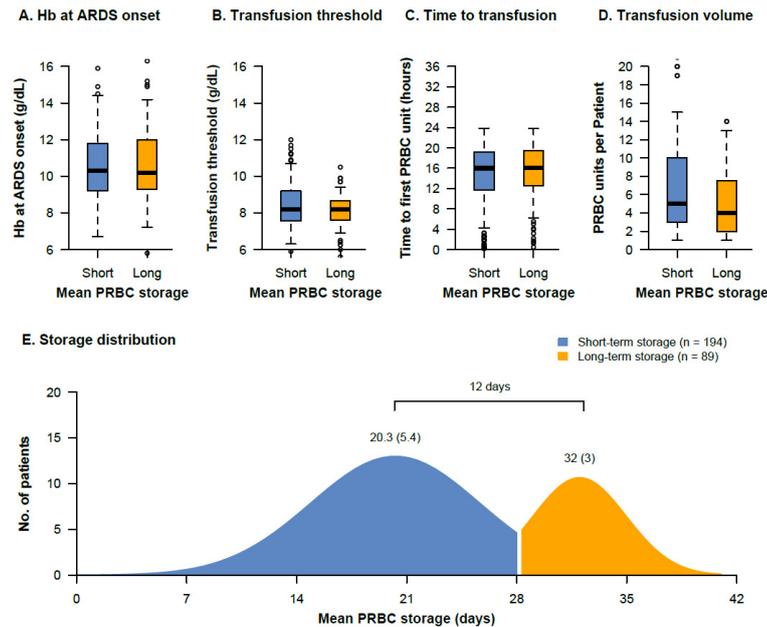
Characteristic	Short-Term Storage Group (n = 194)	Long-Term Storage Group (n = 89)	p-Value
Age (years)	55.50 (42.25, 66.00)	57.00 (47.00, 69.00)	0.248
Male sex, n (%)	120 (61.9)	56 (62.9)	0.968
Body mass index (kg/cm <sup>2</sup> )	27.78 (24.39, 32.65)	26.73 (23.67, 31.37)	0.212
Charlson comorbidity index	3.00 (1.00, 5.00)	3.00 (1.00, 6.00)	0.430
Chronic kidney disease, n (%)	19 (9.8)	16 (18.0)	0.081
Immunocompromised, n (%)	44 (22.7)	22 (24.7)	0.822
SOFA at ARDS onset	11.00 (8.25, 14.00)	12.00 (8.00, 14.00)	0.669
SAPS II at ARDS onset	50.00 (38.00, 64.00)	55.00 (38.00, 70.00)	0.320
RASS at ARDS onset	−5.00 (−5.00, −4.00)	−5.00 (−5.00, −4.00)	0.719
Chronic lung disease, n (%)	39 (20.1)	24 (27.0)	0.256
Mechanical ventilation before admission (days)	1.00 (0.00, 4.00)	1.00 (0.00, 4.00)	0.523
ARDS severity, n (%)			0.618
Mild	10 (5.2)	7 (7.9)	
Moderate	47 (24.2)	19 (21.3)	
Severe	137 (70.6)	63 (70.8)	
ARDS etiology, n (%)			0.495
Pneumonia	102 (52.6)	51 (57.3)	
Aspiration	44 (22.7)	17 (19.1)	
Sepsis	15 (7.7)	11 (12.4)	
Pancreatitis	6 (3.1)	2 (2.2)	
Other	27 (13.9)	8 (9.0)	
Ventilation parameters after initial optimization			
PaO <sub>2</sub> :FiO <sub>2</sub> (mmHg)	157.37 (109.17, 214.44)	164.47 (111.25, 228.05)	0.401
Oxygenation index	15.19 (9.56, 22.57)	14.35 (8.88, 21.36)	0.244
PEEP (cm H <sub>2</sub> O)	16.60 (14.00, 20.00)	16.00 (13.25, 18.02)	0.075
Driving pressure (cm H <sub>2</sub> O)	15.52 (13.00, 18.00)	15.29 (11.85, 18.84)	0.771
Tidal volume (mL/kg PBW)	6.86 (5.74, 7.76)	6.07 (5.48, 7.05)	0.016
Respiratory rate (breaths/min)	20.00 (18.00, 24.00)	21.00 (20.00, 25.00)	0.306
Compliance (mL/cm H <sub>2</sub> O)	36.40 (27.45, 47.15)	33.85 (26.98, 49.30)	0.735
Rescue therapy			
Inhaled nitric oxide, n (%)	131 (67.5)	57 (64.0)	0.660
Prone positioning, n (%)	132 (68.0)	52 (58.4)	0.150
Septic shock, n (%)	83 (43.2)	37 (42.5)	0.999
Lactate (mg/dL)	16.00 (10.00, 30.00)	16.00 (10.00, 31.00)	0.742
RRT, n (%)	120 (61.9)	50 (56.2)	0.439

Definition of abbreviations: SOFA = Sequential Organ Failure Assessment, SAPS = Simplified Acute Physiology Score, RASS = Richmond Agitation-Sedation Scale, PEEP = Positive End-Expiratory Pressure, RRT = Renal replacement therapy. Data are expressed as median (25%, 75% quartiles) or frequencies (%), as appropriate.

### 3.1. Transfusion Characteristics

Patients in the short-term storage group had a similar median hemoglobin concentration at ARDS onset (10.3 g/dL (IQR, 9.2–11.8) vs. 10.2 g/dL (9.3–12.0),  $p = 0.65$ ), were transfused at a similar median transfusion threshold (8.2 g/dL (IQR, 7.6–9.2) vs. 8.2 g/dL (7.6–8.7),  $p = 0.17$ ), and received a similar median amount of PRBC units (five units (IQR, 3–10) vs. four units (2–8),  $p = 0.14$ ) compared with patients in the long-term storage group (Figure 2, Table 2). The median time from ARDS onset to first PRBC transfusion was not

different between the short-term and long-term storage group (16 h (IQR, 12–19) vs. 16 h (13–19),  $p = 0.65$ ). The mean storage age in the short-term storage group was 20 ( $\pm 5.4$ ) days compared with 32 ( $\pm 3.1$ ) days in the long-term storage group, resulting in a mean difference of 12 days (95%-CI, 11–13). The distribution of the storage age in both groups is shown in Figure 2E.



**Figure 2.** Transfusion characteristics of the short-term and long-term storage groups. The hemoglobin concentrations at ARDS onset (A), the transfusion threshold (pre-transfusion hemoglobin) (B), the time from ARDS onset to transfusion of the first PRBC unit (C), the number of transfused PRBC units within 14 days of ARDS therapy (D), and the distribution of the storage age in both groups (E) are presented. The mean storage (SD) in each group and the mean difference between the groups is indicated.

**Table 2.** Transfusion characteristics of the patients.

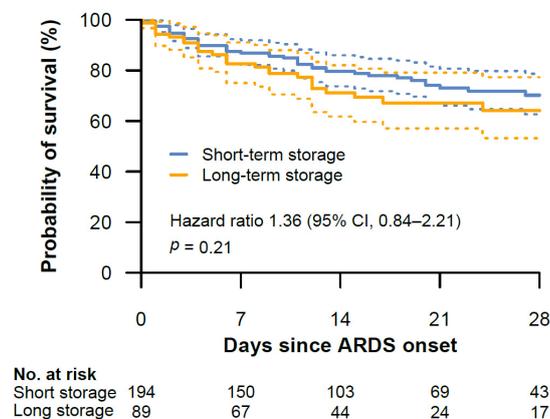
Characteristic	Short-Term Storage Group (n = 194)	Long-Term Storage Group (n = 89)	p-Value
Hemoglobin at ARDS onset (g/dL)	10.30 (9.22, 11.80)	10.20 (9.30, 12.00)	0.647
Transfusion threshold * (g/dL)	8.22 (7.59, 9.20)	8.20 (7.60, 8.65)	0.171
PRBC units transfused per patient with the first 14 days (number)	5.00 (3.00, 9.75)	4.00 (2.00, 8.00)	0.143
PRBC units transfused per patient with the first 28 days (number)	6.00 (2.25, 10.00)	4.00 (2.00, 9.50)	0.193
Mean PRBC storage age per patient (days)	20.23 (5.38)	32.26 (3.10)	<0.001
Oldest PRBC unit per patient (days)	27.81 (8.13)	37.49 (3.31)	<0.001
Time to first PRBC transfusion (hours)	15.90 (11.63, 19.20)	16.08 (12.83, 19.40)	0.657
Patients receiving transfusion of other blood components, n (%)			
Platelets	137 (70.6)	57 (64.0)	0.333
Fresh frozen plasma	53 (27.3)	22 (24.7)	0.753

Definition of abbreviations: PRBC = packed red blood cells. Data are expressed as mean (SD), median (25%, 75% quartiles) or frequencies (%), as appropriate. \* An individual hemoglobin threshold for RBC transfusion was calculated for each patient as reported previously [25].

### 3.2. Endpoints

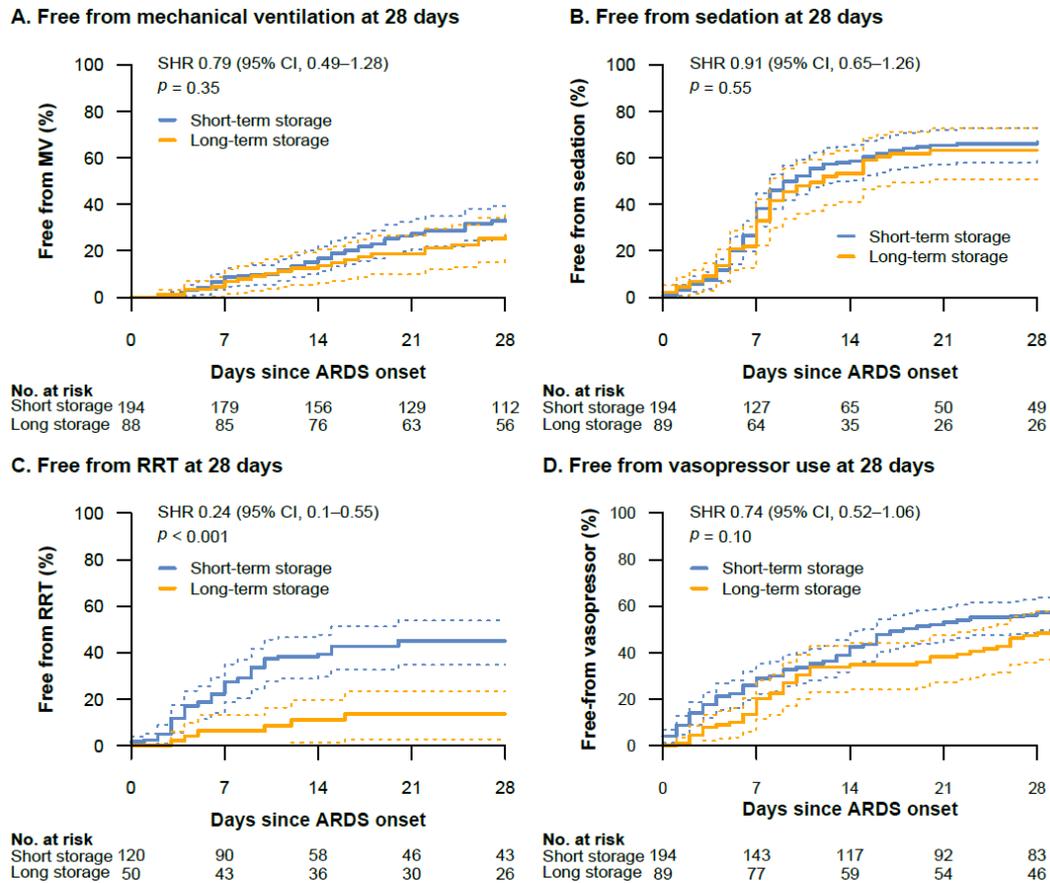
There was no significant difference in 28-day mortality between the short-term storage group and the long-term storage group (HR, 1.36 (95%-CI, 0.84–2.21),  $p = 0.21$ ) (Figure 3). Adjustment for tidal volume did not substantially alter this result (adjusted HR, 1.29 (95%-CI, 0.72–2.31),  $p = 0.38$ ). The median observation time was 20 days (IQR, 17–24) in the short-term storage group and 17 days (15–24) in the long-term storage group. There was no difference in censoring between the two groups ( $p = 0.79$ ) (Figure S1). Within 28 days, 22.6% (95%-CI, 17.1–29.3) of the patients in the short-term storage group compared with 29.2% (20.3–39.9) of the patients in the long-term storage group had died.

#### Mortality within 28 days



**Figure 3.** Kaplan–Meier survival curves with 95% confidence intervals (dotted lines) of the mortality within 28 days after onset of ARDS between the short-term and long-term storage group. The hazard ratio is provided with 95% confidence intervals. The median observation time was 20 days (IQR, 17–24) in the short-term storage group and 17 days (15–24) in the long-term storage group. The distribution of censoring was similar between the two groups ( $p = 0.79$ ).

Ventilator-free (SHR, 0.79 (95%-CI, 0.49–1.28),  $p = 0.35$ ), sedation-free (SHR, 0.91 (0.65–1.26),  $p = 0.55$ ), and vasopressor-free (SHR, 0.74 (0.52–1.06),  $p = 0.10$ ) days composites were similar between the short-term and long-term storage group (Figure 4A,B,D). In contrast, patients in the short-term storage group had a significantly lower chance of successful weaning from RRT within 28 days after ARDS onset compared to patients in the long-term storage group (SHR, 0.24 (95%-CI, 0.1–0.55),  $p < 0.001$ ) (Figure 4C). Adjustment for preexisting chronic kidney disease confirmed this result (adjusted SHR, 0.24 (95%-CI, 0.1–0.56),  $p < 0.001$ ). There was no difference in censoring between the two groups ( $p = 0.89$ ) (Figure S1). Within 28 days, RRT was successfully weaned in 41.6% (95%-CI, 32.8–51.0) of the patients in the short-term storage group compared with 12.0% (4.9–25.0) of the patients in the long-term storage group.



**Figure 4.** Cumulative incidence curves with 95% confidence intervals (dotted lines) of ventilator-free (A), sedation-free (B), RRT-free (C), and vasopressor-free (D) days composites between the short-term and long-term storage groups. The subdistribution hazard ratio (SHR) is provided with 95% confidence intervals. The SHR of the RRT-free days composite was adjusted for the presence of chronic kidney disease. One patient in the long-term storage group did not receive invasive mechanical ventilation during ARDS treatment and was therefore not included in the analysis of the ventilator-free days composite. Definition of abbreviations: MV = mechanical ventilation.

### 3.3. Secondary Analyses

In a further analysis, patients were regrouped according to the storage age of the oldest PRBC unit they had received to evaluate whether transfusion of even a single long-term stored PRBC unit was associated with a lower chance of successful weaning from RRT. Patient characteristics, transfusion characteristics, and distribution of the storage age of the regrouped patients are available in Tables S1 and S2 and Figure S2. Besides the higher number of PRBC units transfused in the long-term storage group compared to the short-term storage group (5 (IQR, 3–9) vs. 3 (2–5),  $p < 0.001$ ), there were no differences between the two groups. Patients that had received at least one unit of PRBCs with a storage age  $> 28$  days had a significantly lower chance for successful weaning from RRT within 28 days after ARDS onset compared to patients who only received PRBCs with a storage age  $\leq 28$  days (SHR, 0.50 (95%-CI, 0.3–0.85),  $p = 0.01$ ) (Figure S3). Adjustment for the number of transfused PRBC units confirmed this result (adjusted SHR, 0.52 (95%-CI,

0.29–0.91),  $p = 0.01$ ). Within 28 days, RRT was successfully weaned in 45.0% (95%-CI, 32.3–58.3) of the patients who only received PRBCs with a storage age  $\leq 28$  days compared with 26.3% (18.6–35.7) of the patients that had received at least one unit of PRBCs with a storage age  $> 28$  days.

#### 4. Discussion

In critically ill patients with ARDS, transfusion of PRBCs with a mean storage age greater than 28 days was not associated with a higher mortality compared to patients transfused with PRBCs with a mean storage age less than 28 days. However, transfusion with PRBCs stored for longer than 28 days was associated with a 75% lower chance for successful weaning from RRT during the first four weeks after ARDS onset. Further analysis indicated that even a single PRBC unit stored for more than 28 days decreased the chance for successful weaning from RRT.

With regard to the primary endpoint, the findings of this study are in concordance with data of previous large RCTs that suggested that the storage age of PRBCs does not impact mortality in Adult ICU patients [14–17]. Similar data were obtained from RCTs on critically ill pediatric patients [30,31]. However, these studies were designed to test the hypothesis that transfusion of fresher PRBCs would be superior compared to transfusion of standard-issue PRBCs and all four RCTs had insufficient power to examine adverse effects of PRBCs stored for longer than 28 days [17,23]. Several prior observational studies reporting increased mortality among patients transfused with older PRBCs compared storage groups with a mean storage age of transfused PRBCs that was significantly higher in both study arms compared with the study arms of the RCTs [23]. However, unlike a series of mechanistic preclinical studies, most clinical studies to date did not study the extremes of PRBCs storage time with regard to mortality endpoints, i.e., the comparison of transfusion of very fresh PRBCs compared to transfusion of PRBCs at the end of the 6-week storage period [12,32,33]. In this study, outcome after transfusion with standard-issue PRBCs was compared with the outcome after transfusion with PRBCs of a mean storage age  $> 28$  days, the period known to be associated with the storage lesion [3,27].

Increased concentrations of cell-free hemoglobin (CFH) occur in the transfusion recipient after transfusion of PRBCs that have been stored for prolonged intervals [18,21]. CFH is cleared in the kidney, rendering this organ susceptible to hemolysis-associated adverse effects of transfusion with longer-stored PRBCs [34,35]. Glomerular filtration of CFH might further contribute to tubular injury and overall renal damage that is associated with the underlying disease and patients comorbidities [35]. In line with these conceptual pathomechanisms of renal injury caused by transfusion of aged PRBCs, ARDS patients transfused with PRBCs of a mean storage age  $> 28$  days showed a lower chance for successful weaning from RRT compared to patients transfused with PRBCs of the shorter storage group, while both groups did not differ in baseline characteristics and preexisting comorbidities [36]. In concordance, the risk for AKI was higher in patients after orthotopic liver transplantation when longer stored PRBCs were transfused compared to shorter stored PRBCs [37]. In another retrospective study, Koch and coauthors detected a higher incidence of AKI in cardiac surgery patients after transfusion of longer stored PRBCs [13]. However, in both studies, the PRBC storage age discriminated at 14 days. Therefore, both studies essentially compared transfusion with fresh versus standard-issue PRBCs instead of comparing of transfusion with standard-issue PRBCs compared to PRBCs close to the end of the storage period. Furthermore, the increased incidence of AKI detected in the retrospective study of Koch and colleagues was not confirmed in the following RCT of Steiner and colleagues [13,15]. In contrast, the present study demonstrates that even transfusion of a single unit of PRBCs suffices to cause AKI or delay in renal recovery.

Having found a signal for RRT-free days composites in association with the mean storage age of transfused PRBCs, we regrouped the patients according to the storage age of the oldest PRBC unit they had received. Thereby, we could demonstrate that transfusion of a single long-term stored PRBC unit was also associated with a lower chance for successful

weaning from RRT within 28 days after ARDS onset. In this analysis, the mean storage ages of both transfusion groups discriminated significantly with 14.6 days. Because baseline characteristics of the patients in the “only short-term” and “at least one long-term” storage group were similar, an additional regression analysis was omitted. A higher number of transfused units in the long-term storage group was expected because chances to receive a unit of long-term stored PRBCs increase with the number of transfusions.

This study has several limitations. Patients with ARDS and treatment with ECMO were excluded from the study because ECMO is known to cause additional hemolysis, an effect that might be confused with the adverse effects attributed to the transfusion of PRBCs with a long storage age [38]. Although the sickest of patients with ARDS were thereby excluded, more than two-thirds of ARDS patients in both study arms still suffered from severe ARDS. Each patient was grouped according to the mean storage age of transfused PRBCs to account for multiple PRBC transfusions of different storage ages. A potential selection bias of baseline characteristics was addressed by use of multivariable models. Due to the retrospective design of this study, no causative conclusions can be drawn from the current observations.

## 5. Conclusions

In critically ill patients with ARDS, transfusion of PRBCs with a mean storage age greater than 28 days was not associated with an increase in 28-day mortality. However, transfusion of long-term stored PRBCs was associated with a lower chance for successful weaning from RRT within 28 days after ARDS onset.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/jcm11010245/s1>, Supplemental Methods, Figure S1: Censoring between the short-term and long-term storage group, Figure S2: Transfusion characteristics of patients that had received at least one unit of PRBCs with a storage age > 28 days and patients who only received PRBCs with a storage age ≤ 28 days, Figure S3: Cumulative incidence curve of RRT-free days composite between patients that had received at least one unit of PRBCs with a storage age > 28 days and patients who only received PRBCs with a storage age ≤ 28 days, Table S1: Baseline characteristics of the patients that had received at least one unit of PRBCs with a storage age > 28 days and patients who only received PRBCs with a storage age ≤ 28 days, Table S2: Transfusion characteristics of the patients that had received at least one unit of PRBCs with a storage age > 28 days and patients who only received PRBCs with a storage age ≤ 28 days. References [39,40] are cited in the Supplementary Materials.

**Author Contributions:** Conception and design: J.A.G. and O.H. Acquisition of data: V.B., J.A.G., L.A.M., A.K., F.B., M.M. and O.H. Interpretation of data: J.A.G., V.B., R.C.E.F., A.P., C.D.S., W.M.K., S.W.-C., M.M. and O.H. Statistical analysis: V.B., A.K. and O.H. Drafting of the manuscript: J.A.G., V.B. and O.H., Critical revision of the manuscript for important intellectual content: All authors. Final revision of manuscript: J.A.G., V.B. and O.H. Study supervision: J.A.G. Guarantors of the study: O.H., M.M. and J.A.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was supported by institutional sources. Dr. Graw is supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG GR 4446/3-1) and the BIH-Charité Clinician Scientist Program by the Charité-Universitätsmedizin Berlin and the Berlin Institute of Health, Dr. Kübler is supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, German Research Foundation) in the framework of SFB 1449–431232613, sub-project B01; SFB-TR84 A02 and C09, SFB 1470 subproject A04, KU1218/9-1 and KU1218/11-1, by the BMBF in the framework of PROVID (01KI20160A) and e:Med SYMPATH (01ZX1906A) and by the German Centre for Cardiovascular Research partner site Berlin.

**Institutional Review Board Statement:** The study was approved by the Medical Ethics Committee of Charité-Universitätsmedizin Berlin (EA1/018/19) on 1 March 2019.

**Informed Consent Statement:** Patient consent was waived due to the retrospective nature of the study.

**Data Availability Statement:** Data are available from the corresponding author on reasonable request.

**Conflicts of Interest:** All conflicts of interests are declared. The ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest is available to the Editorial Office.

## References

1. Wang, D.; Sun, J.; Solomon, S.B.; Klein, H.G.; Natanson, C. Transfusion of older stored blood and risk of death: A meta-analysis. *Transfusion* **2012**, *526*, 1184–1195. [[CrossRef](#)]
2. Bennett-Guerrero, E.; Veldman, T.H.; Doctor, A.; Telen, M.J.; Ortel, T.L.; Reid, T.S.; Mulherin, M.A.; Zhu, H.; Buck, R.D.; Califf, R.M.; et al. Evolution of adverse changes in stored RBCs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 17063–17068. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Donadee, C.; Raat, N.; Kaniyas, T.; Tejero, J.; Lee, J.; Kelley, E.; Zhao, X.; Liu, C.; Reynolds, H.; Azarov, I.; et al. Nitric Oxide Scavenging by Red Blood Cell Microparticles and Cell-Free Hemoglobin as a Mechanism for the Red Cell Storage Lesion. *Circulation* **2011**, *124*, 465–476. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Donadee, C.L.; Gladwin, M.T. Hemodialysis Hyperhemolysis: A Novel Mechanism of Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Risk? *J. Am. Coll. Cardiol.* **2010**, *55*, 460–462. [[CrossRef](#)]
5. Villagra, J.; Shiva, S.; Hunter, L.A.; Machado, R.F.; Gladwin, M.T.; Kato, G.J. Platelet activation in patients with sickle disease, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and nitric oxide scavenging by cell-free hemoglobin. *Blood* **2007**, *1106*, 2166–2172. [[CrossRef](#)]
6. Balla, J.; Vercellotti, G.M.; Jeney, V.; Yachie, A.; Varga, Z.; Jacob, H.S.; Eaton, J.W.; Balla, G. Heme, Heme Oxygenase, and Ferritin: How the Vascular Endothelium Survives (and Dies) in an Iron-Rich Environment. *Antioxid. Redox Signal.* **2007**, *9*, 2119–2138. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Schaer, D.J.; Buehler, P.W.; Alayash, A.I.; Belcher, J.D.; Vercellotti, G.M. Hemolysis and free hemoglobin revisited: Exploring hemoglobin and heme scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood* **2013**, *1218*, 1276–1284. [[CrossRef](#)]
8. Silliman, C.C.; Moore, E.E.; Kelher, M.R.; Khan, S.Y.; Gellar, L.; Elzi, D.J. Identification of lipids that accumulate during the routine storage of prestorage leukoreduced red blood cells and cause acute lung injury. *Transfusion* **2011**, *51*, 2549–2554. [[CrossRef](#)]
9. Sparrow, R.; Patton, K. Supernatant from stored red blood cell primes inflammatory cells: Influence of prestorage white cell reduction. *Transfusion* **2004**, *44*, 722–730. [[CrossRef](#)]
10. Baek, J.H.; D'Agnillo, F.; Vallelian, F.; Pereira, C.P.; Williams, M.C.; Jia, Y.; Schaer, D.J.; Buehler, P.W. Hemoglobin-driven pathophysiology is an in vivo consequence of the red blood cell storage lesion that can be attenuated in guinea pigs by haptoglobin therapy. *J. Clin. Investig.* **2012**, *1224*, 1444–1458. [[CrossRef](#)]
11. Cortés-Puch, I.; Wang, D.; Sun, J.; Solomon, S.B.; Remy, K.; Fernandez, M.; Feng, J.; Kaniyas, T.; Bellavia, L.; Sinchar, D.; et al. Washing older blood units before transfusion reduces plasma iron and improves outcomes in experimental canine pneumonia. *Blood* **2014**, *123*, 1403–1411. [[CrossRef](#)]
12. Graw, J.A.; Mayeur, C.; Rosales, I.; Liu, Y.; Sabbiseti, V.S.; Riley, F.E.; Rechester, O.; Malhotra, R.; Warren, H.S.; Colvin, R.B.; et al. Haptoglobin or Hemopexin Therapy Prevents Acute Adverse Effects of Resuscitation After Prolonged Storage of Red Cells. *Circulation* **2016**, *134*, 945–960. [[CrossRef](#)]
13. Koch, C.G.; Li, L.; Sessler, D.I.; Figueroa, P.; Hoeltge, G.A.; Mihaljevic, T.; Blackstone, E.H. Duration of Red-Cell Storage and Complications after Cardiac Surgery. *N. Engl. J. Med.* **2008**, *358*, 1229–1239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Lacroix, J.; Hébert, P.C.; Fergusson, D.; Tinmouth, A.; Cook, D.J.; Marshall, J.C.; Clayton, L.; McIntyre, L.; Callum, J.; Turgeon, A.F.; et al. Age of Transfused Blood in Critically Ill Adults. *N. Engl. J. Med.* **2015**, *372*, 1410–1418. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Steiner, M.E.; Ness, P.M.; Assmann, S.F.; Triulzi, D.J.; Sloan, S.R.; Delaney, M.; Granger, S.; Bennett-Guerrero, E.; Blajchman, M.A.; Scavo, V.; et al. Effects of red-cell storage duration on patients undergoing cardiac surgery. *N. Engl. J. Med.* **2015**, *37215*, 1419–1429. [[CrossRef](#)]
16. Heddle, N.M.; Cook, R.J.; Arnold, D.M.; Liu, Y.; Barty, R.; Crowther, M.A.; Devereaux, P.J.; Hirsh, J.; Warkentin, T.E.; Webert, K.E.; et al. Effect of Short-Term vs. Long-Term Blood Storage on Mortality after Transfusion. *N. Engl. J. Med.* **2016**, *375*, 1937–1945. [[CrossRef](#)]
17. Cooper, D.J.; McQuilten, Z.K.; Nichol, A.; Ady, B.; Aubron, C.; Bailey, M.; Bellomo, R.; Gantner, D.; Irving, D.O.; Kaukonen, K.-M.; et al. Age of Red Cells for Transfusion and Outcomes in Critically Ill Adults. *N. Engl. J. Med.* **2017**, *377*, 1858–1867. [[CrossRef](#)]
18. Rapido, F.; Brittenham, G.M.; Bandyopadhyay, S.; La Carpia, F.; L'Acqua, C.; McMahon, D.J.; Rebbaa, A.; Wojczyk, B.S.; Netterwald, J.; Wang, H.; et al. Prolonged red cell storage before transfusion increases extravascular hemolysis. *J. Clin. Investig.* **2017**, *1271*, 375–382. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Blasi, B.; D'Alessandro, A.; Ramundo, N.; Zolla, L. Red blood cell storage and cell morphology. *Transfus. Med.* **2012**, *22*, 90–96. [[CrossRef](#)]
20. Hod, E.A.; Brittenham, G.M.; Billote, G.B.; Francis, R.O.; Ginzburg, Y.Z.; Hendrickson, J.E.; Jhang, J.; Schwartz, J.; Sharma, S.; Sheth, S.; et al. Transfusion of human volunteers with older, stored red blood cells produces extravascular hemolysis and circulating non-transferrin-bound iron. *Blood* **2011**, *118*, 6675–6682. [[CrossRef](#)]
21. Berra, L.; Pinciroli, R.; Stowell, C.P.; Wang, L.; Yu, B.; Fernandez, B.O.; Feelsch, M.; Mietto, C.; Hod, E.A.; Chipman, D.; et al. Autologous Transfusion of Stored Red Blood Cells Increases Pulmonary Artery Pressure. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2014**, *190*, 800–807. [[CrossRef](#)]
22. Zallen, G.; Offner, P.J.; Moore, E.E.; Blackwell, J.; Ciesla, D.J.; Gabriel, J.; Denny, C.; Silliman, C.C. Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Am. J. Surg.* **1999**, *1786*, 570–572. [[CrossRef](#)]

23. Remy, K.E.; Sun, J.; Wang, D.; Welsh, J.; Solomon, S.B.; Klein, H.G.; Natanson, C.; Cortés-Puch, I. Transfusion of recently donated (fresh) red blood cells (RBCs) does not improve survival in comparison with current practice, while safety of the oldest stored units is yet to be established: A meta-analysis. *Vox Sang.* **2016**, *111*, 43–54. [[CrossRef](#)]
24. Bellani, G.; Laffey, J.G.; Pham, T.; Fan, E.; Brochard, L.; Esteban, A.; Gattinoni, L.; Van Haren, F.; Larsson, A.; McAuley, D.F.; et al. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA* **2016**, *315*, 788–800. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Hunsicker, O.; Materne, L.; Bünger, V.; Krannich, A.; Balzer, F.; Spies, C.; Francis, R.C.; Weber-Carstens, S.; Menk, M.; Graw, J.A. Lower versus higher hemoglobin threshold for transfusion in ARDS patients with and without ECMO. *Crit. Care* **2020**, *24*, 1–12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Force, A.D.T.; Ranieri, V.M.; Rubenfeld, G.D.; Thompson, B.T.; Ferguson, N.D.; Caldwell, E.; Fan, E.; Camporota, L.; Slutsky, A.S. Acute respiratory distress syndrome: The Berlin Definition. *JAMA* **2012**, *307*, 2526–2533.
27. D’Alessandro, A.; Kriebardis, A.; Rinalducci, S.; Antonelou, M.; Hansen, K.C.; Papassideri, I.S.; Zolla, L. An update on red blood cell storage lesions, as gleaned through biochemistry and omics technologies. *Transfusion* **2015**, *55*, 205–219. [[CrossRef](#)]
28. Yehya, N.; Harhay, M.O.; Curley, M.A.Q.; Schoenfeld, D.A.; Reeder, R.W. Reappraisal of Ventilator-free Days in Critical Care Research. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2019**, *200*, 828–836. [[CrossRef](#)]
29. Hoenig, J.M.; Heisey, D.M. The Abuse of Power: The Pervasive Fallacy of Power Calculations for Data Analysis. *Am. Stat.* **2001**, *55*, 19–24. [[CrossRef](#)]
30. Spinella, P.C.; Tucci, M.; Fergusson, D.A.; Lacroix, J.; Hebert, P.C.; Leteure, S.; Schechtman, K.B.; Doctor, A.; Berg, R.A.; Bockelmann, T.; et al. Effect of Fresh vs. Standard-issue Red Blood Cell Transfusions on Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Critically Ill Pediatric Patients: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* **2019**, *322*, 2179–2190. [[CrossRef](#)]
31. Shah, A.; Brunskill, S.J.; Desborough, M.; Doree, C.; Trivella, M.; Stanworth, S.J. Transfusion of red blood cells stored for shorter versus longer duration for all conditions. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2018**, *2018*, CD010801. [[CrossRef](#)]
32. Hod, E.A.; Spitalnik, S. Harmful effects of transfusion of older stored red blood cells: Iron and inflammation. *Transfusion* **2011**, *51*, 881–885. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Cortés-Puch, I.; Remy, K.E.; Solomon, S.B.; Sun, J.; Wang, D.; Al-Hamad, M.; Kelly, S.M.; Sinchar, D.; Bellavia, L.; Kaniyas, T.; et al. In a canine pneumonia model of exchange transfusion, altering the age but not the volume of older red blood cells markedly alters outcome. *Transfusion* **2015**, *55*, 2564–2575. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Vermeulen Windsant, I.C.; de Wit, N.C.; Sertorio, J.T.; van Bijnen, A.A.; Ganushchak, Y.M.; Heijmans, J.H.; Tanus-Santos, J.E.; Jacobs, M.J.; Maessen, J.G.; Buurman, W.A. Hemolysis during cardiac surgery is associated with increased intravascular nitric oxide consumption and perioperative kidney and intestinal tissue damage. *Front. Physiol.* **2014**, *5*, 340. [[CrossRef](#)]
35. Vermeulen Windsant, I.C.; Snoeijs, M.G.; Hanssen, S.J.; Altintas, S.; Heijmans, J.H.; Koepffel, T.A.; Schurink, G.W.; Buurman, W.A.; Jacobs, M.J. Hemolysis is associated with acute kidney injury during major aortic surgery. *Kidney Int.* **2010**, *77*, 913–920. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. McVey, M.; Kuebler, W.; Orbach, A.; Arbell, D.; Zelig, O.; Barshtein, G.; Yedgar, S. Reduced deformability of stored red blood cells is associated with generation of extracellular vesicles. *Transfus. Apher. Sci.* **2020**, *59*, 102851. [[CrossRef](#)]
37. Wang, Y.; Li, Q.; Ma, T.; Liu, X.; Wang, B.; Wu, Z.; Dang, S.; Lv, Y.; Wu, R. Transfusion of Older Red Blood Cells Increases the Risk of Acute Kidney Injury After Orthotopic Liver Transplantation: A Propensity Score Analysis. *Anesth. Analg.* **2018**, *127*, 202–209. [[CrossRef](#)]
38. Materne, L.A.; Hunsicker, O.; Menk, M.; Graw, J.A. Hemolysis in patients with Extracorporeal Membrane Oxygenation therapy for severe Acute Respiratory Distress Syndrome—A systematic review of the literature. *Int. J. Med Sci.* **2021**, *18*, 1730–1738. [[CrossRef](#)]
39. Devlin, J.W.; Skrobik, Y.; Gélinas, C.; Needham, D.M.; Slooter, A.J.C.; Pandharipande, P.; Watson, P.L.; Weinhouse, G.L.; Nunnally, M.E.; Rochwerg, B.; et al. Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Pain, Agitation/Sedation, Delirium, Immobility, and Sleep Disruption in Adult Patients in the ICU. *Crit. Care Med.* **2018**, *46*, e825–e873. [[CrossRef](#)]
40. Muller, A.; Weis, B.; Spies, C.D.; Ralf, B.; Andreas, B.; Rolf, B.; Stephan, B.; Hartmut, B.; Peter, D.; Süha, D.; et al. Analgesie, Sedierung und Delirmanagement—Die neue S3-Leitlinie „Analgesie, Sedierung und Delirmanagement in der Intensivmedizin“ (DAS-Leitlinie 2015). *Anästhesiol. Intensivmed. Notf. Schmerzther.* **2015**, *50*, 698–703. [[CrossRef](#)]

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

---

## Komplette Publikationsliste

Hunsicker O, Materne L, Bünger V, Krannich A, Balzer F, Spies C, Francis RC, Weber-Carstens S, Menk M, Graw JA. Lower versus Higher Hemoglobin Threshold for Transfusion in Critically Ill Adults with ARDS. Poster presented at: ESICM Lives 2019; September 2019; Berlin.

Hunsicker O, Materne L, Bünger V, Krannich A, Balzer F, Spies C, Francis RC, Weber-Carstens S, Menk M, Graw JA. Lower versus higher hemoglobin threshold for transfusion in ARDS patients with and without ECMO. *Crit Care*. 2020 Dec 16;24(1):697. doi: 10.1186/s13054-020-03405-4. PMID: 33327953; PMCID: PMC7740070. (IF=9.097)

Graw JA, Bünger V, Materne LA, Krannich A, Balzer F, Francis RCE, Pruß A, Spies CD, Kuebler WM, Weber-Carstens S, Menk M, Hunsicker O. Age of Red Cells for Transfusion and Outcomes in Patients with ARDS. *Journal of Clinical Medicine*. 2022; 11(1):245. <https://doi.org/10.3390/jcm11010245>. (IF=4.241)

## **Danksagung**

Meine Danksagung wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.