

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Transfusionsrisiken bei Mensch und Hund unter
besonderer Berücksichtigung von Vascular endothelial
growth factor in Blutprodukten in Abhängigkeit
von ihrer Lagerungszeit**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

**vorgelegt von
Christine Graf
Tierärztin aus Hamburg**

**Berlin 2010
Journal-Nr.: 3401**

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. L. Brunnberg
Erste Gutachterin: Frau Prof. Dr. B. Kohn
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Dr. A. Grabner
Dritte Gutachterin: Frau Prof. Dr. J. Plendl

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

man, dogs, growth factors, blood transfusion, complications, storage, blood, leukocytes, blood products, filtration, vascular endothelial growth factor (MeSH)

Tag der Promotion: 09.07.2010

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-948-4

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2010

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2011

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meinen Eltern

I. Einführung	I
II. Literaturübersicht	2
1. Grundlagen der Transfusionsmedizin	2
1.1. Geschichte	2
1.2. Einsatz von Blutprodukten	4
1.2.1. Erythrozytensubstitution	4
1.2.2. Thrombozytensubstitution	5
1.2.3. Substitution von Plasma und Plasmafraktionen	6
1.3. Bluttransfusionen bei Hunden	7
1.3.1. Spender	7
1.3.2. Blutgruppen	8
1.3.3. Entnahme	9
1.3.4. Auftrennung	10
1.3.5. Lagerung	11
1.3.6. Transfusion	12
2. Komplikationen und Risiken von Bluttransfusionen	13
2.1. Allgemeines	13
2.2. Akute Reaktionen	14
2.2.1. Akute immunbedingte Reaktionen	14
2.2.1.1. Akute hämolytische Reaktion	14
2.2.1.2. Akute Hypersensitivitätsreaktion	16
2.2.1.3. Leukozyten- und Thrombozytenhypersensitivitätsreaktion	17
2.2.1.4. Graft-Versus-Host Disease und Acute Lung Injury	19
2.2.2. Akute nicht immunbedingte Reaktionen	21
2.2.2.1. Hämolyse	21
2.2.2.2. Kreislaufüberlastung	21
2.2.2.3. Bakterielle Kontamination	22
2.2.2.4. Koagulopathie	24
2.2.2.5. Hypotension	24
2.2.2.6. Ziträtintoxikation	25
2.2.2.7. Hyperammonämie	25
2.2.2.8. Hyperkaliämie	26
2.2.2.9. Hypothermie	26
2.2.2.10. Luftembolie	26
2.2.2.11. Pulmonäre Mikroembolie	27
2.2.2.12. Azidose	27
2.3. Verzögerte Reaktionen	27
2.3.1. Verzögerte immunbedingte Reaktionen	27
2.3.1.1. Verzögerte hämolytische Reaktion	27
2.3.1.2. Transfusionsbedingte Purpura	28
2.3.1.3. Neonatale Isoerythrolyse	29
2.3.1.4. Immunsuppression	29
2.3.2. Verzögerte nicht immunbedingte Reaktionen	35
2.3.2.1. Übertragung von Infektionserregern beim Menschen	35
2.3.2.1.1. Viren	35
2.3.2.1.2. Prionen, Protozoen, Bakterien	40
2.3.2.2. Übertragung von Infektionserregern beim Hund	42
2.3.2.2.1. Protozoen und andere Parasiten	42
2.3.2.2.2. Bakterien, Pilze und Viren	43
2.3.2.2.3. Spenderscreening	45

2.3.2.3. Hämosiderose	46
2.3.2.4. Toxizität des Weichmachers	46
3. Lagerung von Blutkonserven	46
3.1. Veränderungen an Erythrozyten	46
3.2. Veränderungen an Leukozyten	47
3.3. Veränderungen an Thrombozyten	48
3.4. Veränderungen in der Plasmafraktion	49
3.5. Folgen der lagerungsbedingten Veränderungen	50
4. Vascular endothelial growth factor (VEGF)	51
4.1. Molekularbiologie und Funktion	51
4.2. VEGF und Tumoren	55
4.2.1. Allgemeines	55
4.2.2. VEGF in Tumorgewebe	56
4.2.3. VEGF in Serum, Plasma und Thrombozyten	57
4.2.4. Einfluss von Chirurgie, Chemo- und Bestrahlungstherapie, therapeutische Optionen	59
4.2.5. Untersuchungen in der Veterinärmedizin	61
4.3. VEGF in Blutkonserven	64
5. Leukozytenfilter	66
5.1. Gründe für den Einsatz	66
5.1.1. Allgemeines	66
5.1.2. Bioaktive Substanzen	68
5.1.3. Übertragung von Infektionserregern	68
5.1.3.1. Viren	68
5.1.3.2. Bakterien	69
5.1.4. Mikroaggregate	70
5.1.5. Febrile Transfusionsreaktionen, Alloimmunisation und Thrombozytenrefraktion	70
5.1.6. Graft-Versus-Host Disease	73
5.1.7. Immunsuppression	73
5.1.8. Postoperative Infektionen	74
5.1.9. Tumorrezidive	75
5.1.10. Weitere Aspekte	76
5.1.11 Zusammenfassung	76
5.2. Unerwünschte Nebeneffekte	77
5.3. Leukozytenfilter bei Hunden	77
5.4. Technik	78
III. Eigene Untersuchungen	82
1. Studiendesign	82
2. Material und Methoden	82
2.1. Bestimmung der VEGF-Konzentration	82
2.2. Untersuchung von Blutkonserven	83
2.2.1. Blutspender	83
2.2.2. Durchführung der Spende	86
2.2.2.1. Blutgruppenbestimmung	86
2.2.2.2. Entnahme	86
2.2.2.3. Auftrennung und Lagerung	88
2.2.3. Filtration	88
2.2.4. Probengewinnung und -bearbeitung	90

2.3. Untersuchungen an Patienten	91
2.3.1. Transfundierte Patienten	91
2.3.2. Patienten mit abdominaler Masse	94
3. Ergebnisse	99
3.1. VEGF im Plasma gesunder Hunde	99
3.2. VEGF in nicht-gefilterten Blutprodukten	100
3.2.1. VEGF-Messung direkt nach der Auftrennung	100
3.2.2. VEGF-Messung in nicht-gefilterten Ec-Konzentraten im Verlauf der Lagerung	98
3.2.3. VEGF-Messung in FFP nach Ablauf der Lagerungszeit	101
3.3. Laborwerte im Vollblut nach Filtration	102
3.4. VEGF in gefilterten Blutprodukten	103
3.4.1. VEGF-Messung direkt nach der Auftrennung	103
3.4.2. VEGF-Messung in gefilterten Ec-Konzentraten im Verlauf der Lagerung	102
3.4.3. VEGF-Messung in FFP nach Ablauf der Lagerungszeit	104
3.5. Untersuchungen an Patienten	105
3.5.1. VEGF im Plasma transfundierter Patienten	105
3.5.2. VEGF im Plasma von Patienten mit rupturierter abdominaler Masse	105
IV. Diskussion	105
1. VEGF im Plasma gesunder Hunde	107
2. VEGF in nicht-gefilterten Blutprodukten	109
3. VEGF in gefilterten Blutprodukten	111
3.1. Leukozytenreduktion	111
3.2. VEGF nach der Auftrennung in Ec-Konzentrat und FFP und im Verlauf der Lagerung	113
4. Untersuchungen an Patienten	115
4.1. VEGF im Plasma transfundierter Patienten	115
4.2. VEGF im Plasma von Patienten mit rupturierter abdominaler Masse	118
V. Zusammenfassung	121
VI. Summary	124
VII. Literatur	126

Abkürzungsverzeichnis

AABB	American Association of Blood Banks
ACD	Acid Citrate Dextrose
AC-PC	Thrombozytenkonzentrat aus Apherese
ACVIM	American College of Veterinary Internal Medicine
AIDS	Acquired immune deficiency syndrome
ALT	Alaninaminotransferase
ARDS	Adult respiratory distress syndrome
AS	Angiosarkom
ATL	adulte T-Zell-Leukämie
ATP	Adenosintriphosphat
BC	Buffy coat
BEST	Biomedical Excellence for Safer Transfusion
bFGF	Basic fibroblast growth factor
CEA	Carcinoembryonic antigen
CJD	Creutzfeldt-Jakob Disease
CMV	Zytomegalievirus
CPD	Citrate Phosphate Dextrose
CPDA-1	Citrate Phosphate Dextrose Adenosine – 1
d	Tag
DEA	Dog erythrocyte antigen
DIC	Disseminierte intravasale Gerinnung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
2-DOG	2-Deoxyglukose
2,3-DPG	2,3-Diphosphoglycerat
DRK	Deutsches Rotes Kreuz
DSH	Deutscher Schäferhund
EBV	Epstein-Barr-Virus
Ec-Konzentrat	Erythrozytenkonzentrat
ECP	Embryonic cationic protein
EDTA	Ethylendiamin-Tetraacid
EGF	Epidermal growth factor
EIA	Enzyme-linked Immunoassay

ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EPO	Erythropoetin
EPX	Eosinophiles Protein X
FDA	Food and Drug Association
FFP	Fresh frozen plasma
FNTR	Febrile nicht-hämolytische Transfusionsreaktion
g	Gauge
G	Giga
GP	Gefrorenes Plasma
GVHD	Graft-Versus-Host-Disease
Gy	Gray
h	Stunde
HAM/TAP	HTLV-assozierte Myelopathie/Tropische spastische Parese
HAS	Hämangiosarkom
HBV	Hepatitisvirus B
HCV	Hepatitisvirus C
Hgb	Hämoglobin
HIF	Hypoxia-inducible factor
HIV	Humanes Immundefizienzvirus
Hkt	Hämatokrit
HLA	Human leukocyte antigen
HRE	Hypoxia-responsive factor
HTLV	Humanes T-Zell-lymphotrophes Virus
HUS	Hämolytisch-urämisches Syndrom
IBD	Inflammatory bowel disease
IFA	Immunfluoreszenz-Assay
Ig	Immunglobulin
IHA	Immunhämolytische Anämie
IL	Interleukin
ISBT	International Society of Blood Transfusion
ITP	Immunthrombopenie
J	Jahr
KBE	Kolonie-bildende Einheit
kg KG	Kilogramm Körpergewicht

Kryo	Kryopräzipitat
LAK	Lymphokinaktivierte Killerzelle
Log	Logarithmus
m(k)	Männlich (kastriert)
MAPK	Mitogenaktivierte Proteinkinase
mmol	Millimol
MPO	Myeloperoxidase
mRNA	Messenger RNA
NaCl	Natriumchlorid
ng	Nanogramm
NK	Natürliche Killerzelle
nm	Nanometer
PAF	Platelet-activating factor
PAI-1	Plasminogen-activating inhibitor-1
PC	Platelet concentrate
PCR	Polymerasekettenreaktion
PDGF	Platelet-derived growth factor
pg	Pikogramm
PLT	Platelets
pRBC	Packed red blood cells
PRP	Platelet rich plasma
PTV	Posttransfusion viability
PVC	Polyvinylchlorid
RBC	Red blood cells
RMSF	Rocky Mountain Spotted Fever
RNA	Ribonukleinsäure
SAG	Salin-Adenin-Glukose
SAGM	Salin-Adenin-Glukose-Mannitol
SHOT	Serious Hazards of Transfusion
sIL-2R	Löslicher Interleukin-2-Rezeptor
TGF	Transforming growth factor
TIMP-1	Tissue-inhibitor of metalloproteinase-1
TNF	Tumornekrosefaktor
TRALI	Transfusion associated acute lung injury

TTP	Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura
UV	Ultraviolett
VB	Vollblut
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VPF	Vascular permeability factor
w(k)	Weiblich (kastriert)
WB	Whole blood
WBC	White blood cells
WHWT	West Highland White Terrier
ZNS	Zentrales Nervensystem

I. Einführung

Die Transfusionsmedizin ist sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin ein wichtiger Bestandteil der Intensiv- und Notfallbehandlung.

Obwohl die Verabreichung von Blutprodukten durch das zunehmende Wissen über immunologische Zusammenhänge und durch die Anwendung diverser Screeningtests zur Minimierung des Infektionsrisikos sicherer geworden ist, besteht die Gefahr, dass adverse Reaktionen oder Komplikationen auftreten. In der Tiermedizin sind zudem die Standards von Technik und Überwachung geringer als in der Humanmedizin.

Dennoch überwiegen die Vorteile der Anwendung von Blutprodukten die Nachteile bei weitem, zumal meist keine Alternative zur Verfügung steht. Durch korrekte Spenderauswahl, sachgerechte Abnahme, Auftrennung, Lagerung und Verabreichung können viele Komplikationen vermieden werden.

In der Humanmedizin ist ein Zusammenhang zwischen bioaktiven Substanzen und der Entwicklung von Tumorrezidiven bei Empfängern von Blutprodukten festgestellt worden. Eine Substanz, die von verschiedenen humanen Tumoren exprimiert wird und in gelagerten Blutprodukten sowie in Serum und Plasma transfundierter Patienten akkumuliert, ist der Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Es wird vermutet, dass VEGF, der physiologisch vor allem von Gefäßendothelzellen sezerniert wird, durch seine angiogene und permeabilitätssteigernde Wirkung die Ausbreitung und Implantation von Mikrometastasen fördert. Auch von caninen Tumoren wird VEGF freigesetzt.

Ziel dieser Arbeit war zum einen, einen umfassenden Überblick über die Transfusionsrisiken und dabei einen Vergleich zwischen Mensch und Hund zu liefern.

Zum anderen sollte durch eigene Untersuchungen überprüft werden, ob eine Akkumulation von VEGF in caninen Erythrozytenkonzentraten und in frisch gefrorenem Plasma stattfindet. Da ein Anstieg der VEGF-Konzentration durch den Einsatz von Leukozytenfiltern bei humanen Blutprodukten vermindert werden konnte, wurde die Hälfte der Vollblutkonserven vor der Auftrennung leukozytendepletiert. Weiterhin wurde die Plasma-VEGF-Konzentration bei Hunden vor und nach Transfusion von Erythrozytenpräparaten bestimmt. Außerdem erfolgte die Messung im Plasma von Hunden mit Verdacht auf Hämangiosarkom, die aufgrund der entarteten Gefäßendothelzellen eine besonders hohe Konzentration von VEGF vermuten ließen.

II. Literaturübersicht

1. Grundlagen der Transfusionsmedizin

1.1. Geschichte

Blut wird schon in der Bibel und in diversen Mythen und Sagen als Lebenselixier betrachtet. So beschrieb Ovid in seinem Werk Metamorphosis, dass die Hexe Medea Jasons Vater durch den Austausch seines Blutes durch ein Gemisch aus Kräuterextrakten verjüngt haben soll (GREENWALT 1997). Die oft zitierte erste Transfusion soll bei dem alternden Papst Innocent VIII 1492 durchgeführt worden sein, der das Blut dreier Jungen erhalten haben und so seine Jugend zurückerlangt haben soll (MATHEW 1912). Im 15. und 16. Jahrhundert wurde die Möglichkeit einer Blutübertragung durch verschiedene Autoren beschrieben, jedoch wahrscheinlich nicht praktiziert (GREENWALT 1997). Nachdem William Harvey (1578-1657) 1628 als erster Wissenschaftler das Prinzip des Blutkreislaufs beschrieben und publiziert hatte, erschien 1680 das erste Buch über Transfusionen von Francesco Folli (FOLLI 1680).

Die erste Blutübertragung von einem Hund zum anderen mittels einer Spritze wurde 1664 von Wilkins, Hooke, Petty, Cox und Willoughby durchgeführt, das Ergebnis ist jedoch nicht überliefert (MYHRE 1989).

Die erste erfolgreiche Transfusion von einem Tier zum anderen erfolgte im Rahmen einer Demonstration in Oxford im Februar 1665 durch Richard Lower (1631-1691), der einen mittelgroßen Hund bis zur Bewusstlosigkeit ausbluten ließ, um ihn dann durch das Blut zweier Mastiffs wiederzubeleben, wobei er eine Verbindung schuf zwischen den zervikalen Arterien der Mastiffs und den Jugularvenen des ersten Hundes (SMITH et al. 1989).

Die erste intravenöse Injektion bei einem Menschen erfolgte 1664 durch den Leipziger Johann-David Major, der nach Ansicht einiger Autoren möglicherweise 1666 bei seinem Lehrer die erste Transfusion beim Menschen durchführte (GREENWALT 1997).

Belegt sind Transfusionen bei einem Menschen durch Übertragungen von Schafblut, die Denys (1635-1704) 1667 durchführte und die trotz mäßiger Transfusionsreaktionen erfolgreich verliefen. Als jedoch ein Jahr später ein Todesfall nach der Übertragung von Kälberblut auf einen Menschen (das Blut sollte dessen Temperament zügeln) zu verzeichnen war, führte das zum gesetzlichen Verbot von Transfusionen in Frankreich durch das Edict de Châtelet, das einen Stillstand der Forschung für nahezu 150 Jahre zur Folge hatte (MYHRE 1989). In der Zwischenzeit stellte Michele Rosa 1788 fest, dass die Transfusion von Serum Tiere, die sich im schweren Schock befinden, nicht retten kann. Diese Untersuchungen wurden gestützt von Joseph Priestly (1733-1804), der die Wichtigkeit von Sauerstoff für alles

Leben propagierte. 1777 wurde durch Lavoisier gezeigt, dass es sich bei dem Gas um eine definierte Substanz handelt (BROCK 1997).

Erst Anfang des 19. Jahrhunderts erlebte die Transfusionsmedizin ihren nächsten Aufschwung. Der Gynäkologe James Blundell (1790-1877) experimentierte zunächst mit Tieren, bevor er 1888 Frauen mit schweren postpartalen Blutungen transfundierte. Er sprach sich erstmals gegen die Verwendung spezie fremden Blutes aus, jedoch ist ein Fall von 1889 dokumentiert, in dem der Patient nach der Verabreichung des Blutes mehrerer verschiedener Spender nach anfänglicher klinischer Besserung verstarb (MYHRE 1989).

Die Blutgerinnung stellte ein großes Problem bei der Durchführung von Transfusionen dar.

Die französischen Biochemiker Prévost (1790-1850) und Dumas (1800-1884) stellten 1821 fest, dass Defibrination die Blutgerinnung verhindert, die Effektivität der Transfusion aber nicht mindert (HOSGOOD 1990).

Natrium-Phosphat als Antikoagulans wurde 1868 von Hicks verwendet, welches jedoch durch seine Toxizität in höheren Dosen zum Tod seiner Patienten führte. 1890 entdeckten die Schweizer Professoren Artus und Pages die Hemmung der Blutgerinnung durch Natriumoxalat und -zitrat. Der New Yorker Lewison beschrieb 1915, dass nicht-toxische Dosen von Zitrat als Antikoagulans effektiv seien, wofür er 40 Jahre später den renommierten Landsteiner Award der American Association of Blood Banks erhielt (DIAMOND 1980; GREENWALT 1997).

Rous und Turner berichteten 1916, dass humane Erythrozyten in isotonischem Natriumzitrat innerhalb von einer Woche hämolysierten, jedoch über vier Wochen intakt blieben, wenn zu drei Teilen Blut zwei Teile Zitrat (3,8%) und fünf Teile isotonische Glukose (5,4%) verwendet wurde (ROUS und TURNER 1916).

Im Jahr 1943 optimierte Loutit die Gerinnungshemmung und Lagerungsfähigkeit von Blutkonserven durch die Entwicklung von Acid Citrate Dextrose (ACD), das eine unbedenkliche Lagerung bis zu 21 Tagen ermöglicht (LOUTIT et al. 1943).

Weitere Fortschritte stellten die Entwicklung von Citrate Phosphate Dextrose (CPD) 1957 und von Citrate Phosphate Dextrose Adenine (CPDA-1) 1978 dar, zu Beginn der 90er Jahre wurden verschiedene Additivlösungen zur weiteren Verbesserung entwickelt, die heute auch in der Veterinärmedizin Verwendung finden (WARDROP et al. 1997b).

Als schon kein Tierblut mehr zur Übertragung auf den Menschen verwendet wurde, stellte sich die Frage, warum es trotzdem häufig zu Unverträglichkeitsreaktionen kam. Ein wichtiger Schritt war dabei die Entdeckung des humanen ABO-Systems durch Landsteiner im Jahre 1900 (DIAMOND 1980), kurz darauf wurde von Decastello und Sturli ebenfalls in Wien die

noch fehlende Blutgruppe AB beschrieben (DECASTELLO und STURLI 1902), die Vererbung wurde von Epstein und Ottenberg vermutet und von Bernstein bewiesen (GREENWALT 1997). 1937 wurde die erste Blutbank in Chicago gegründet (FANTUS 1937). Durch die Entwicklung von Blutbeuteln aus Plastik im Jahre 1947 wurde die Auftrennung erleichtert, und der Weg für die Komponententherapie war frei (COHN 1947). Die Verabreichung von Blutkomponenten hat Vollbluttransfusionen gegenüber den entscheidenden Vorteil, dass lediglich die benötigte Fraktion verabreicht wird und somit weniger adverse Reaktionen entstehen, außerdem wird die einzelne Spende effizienter genutzt (HOHENHAUS 2006; KOHN und GIGER 2006). Zudem sind die optimalen Lagerungsbedingungen für die einzelnen Komponenten sehr verschieden und können so optimiert werden (HOHENHAUS 2006).

In der veterinärmedizinischen Transfusionstherapie stellte sich der Fortschritt nur sehr langsam ein. 1910 fand die Beschreibung der ersten vier caninen Blutgruppen statt, das System wurde jedoch erst in den 50er und 60er Jahren von Swisher und Young (SWISHER und YOUNG 1961), sowie Eyquem (EYQUEM et al. 1962) weiter erforscht. Seit den 1950er Jahren wurden Bluttransfusionen bei Hunden mit nichttypisiertem, nicht kreuzgetesteten Blut durchgeführt. Heute wird in der Terminologie der Begriff DEA (dog erythrocyte antigen) verwendet, es werden inzwischen mehr als ein Dutzend Antigene benannt.

Ende der 1980er Jahre führte die Vergabe eines Fünfjahresstipendiums vom National Institute of Health an fünf veterinärmedizinische Fakultäten in den USA zu großen Fortschritten in der Forschung und Entwicklung. Es entstanden Blutbanken an amerikanischen Universitätskliniken und 1988 auch einige kommerzielle Blutbanken, die den Einsatz von Blutprodukten durch niedergelassene Tierärzte ermöglichen (SMITH 1991; HOHENHAUS 2006).

1.2. Einsatz von Blutprodukten

1.2.1. Erythrozytensubstitution

Die Substitution von Erythrozyten dient in erster Linie der Verbesserung der Sauerstoff-Transportkapazität und kann mit Vollblut oder mit durch Zentrifugation und Abpressen des Plasmas entstandenen Erythrozytenkonzentraten (Ec-Konzentraten) gewährleistet werden.

Vollblut kann frisch oder gelagert verwendet werden. Es enthält bis zu einer Lagerungszeit von 4 bis 6 Stunden alle Blutbestandteile. Danach nimmt die Konzentration der Gerinnungsfaktoren V und VIII ab, nach 2-3 Tagen sind auch keine ausreichenden Mengen funktionstüchtiger Thrombozyten mehr vorhanden (BÜNTE und LUDWIG 1994). Untersuchungen beim Hund haben eine deutliche Abnahme der Aggregationsfähigkeit von

Thrombozyten in Vollblut bei 4-6°C schon nach 6 Stunden gezeigt (NOLTE und MISCHKE 1995).

Eine Indikation für die Verabreichung von frischem Vollblut besteht in der Substitution großer Mengen Blut nach akutem Verlust. Nachteilig ist, dass zum Ausschluss übertragbarer Erkrankungen lediglich Schnelltests durchgeführt werden können (BÜNTE und LUDWIG 1994). Bei chronischen Anämien sind Erythrozytenpräparate wegen der Gefahr der Volumenüberladung der Verabreichung von Vollblut vorzuziehen. Ein weiterer Vorteil der Erythrozytenkonzentrate ist, dass durch die Abtrennung des Plasmas weniger immunologisch wirksame Bestandteile transfundiert werden (CALLAN 2000).

In der Humanmedizin wurde der Einsatz von Vollblut fast vollständig durch die Verwendung von Blutfraktionen verdrängt. Ec-Konzentrate können in CPDA mit entsprechenden Zusätzen bei 4°C über 5 Wochen gelagert werden. Unter Zusatz von kryoprotektiven Agentien wie Glycerol ist die Aufbewahrung in gefrorenem Zustand bei -80°C bzw. -150°C über mehrere Jahre möglich (BEUTLER 2005). Außerdem wird die Erythrozytensubstitution durch autologe Blutprodukte im Rahmen der so genannten Eigenbluttransfusion oder durch entsprechende Einzelkomponenten wie Hämoglobin oder Perfluorokarbone vorgenommen (BEUTLER 2005; BUNDESÄRZTEKAMMER 2008).

In der Veterinärmedizin werden Ec-Konzentrate unter Anpassung an die Humanmedizin hergestellt und gelagert, in der Praxis wird aber teilweise noch frisches Vollblut verwendet (LANEVSKI und WARDROP 2001). Die Hauptindikationen stellen schwere Anämie oder Gewebhypoxie durch Blutverlust, mangelnde Erythropoese und Hämolysen dar (TOCCI und EWINH 2009). Auch Hämoglobin-basierte Sauerstoffträger aus der Humanmedizin (Oxyglobin, Biopure Corporation, Cambridge, USA) finden in der Veterinärmedizin Verwendung (HOHENHAUS 2005).

1.2.2. Thrombozytensubstitution

Für die Substitution von Thrombozyten stehen in der Humanmedizin Frischblut, aus Frischblut hergestelltes thrombozytenreiches Plasma, Thrombozytenkonzentrate und am Zellseparator gewonnene Einzelpräparate (Apherese) zur Verfügung.

Die Gabe wird bei Thrombozytopenien durch Bildungsstörungen des Knochenmarks wie bei aplastischer Anämie, im Rahmen einer Chemotherapie oder bei infiltrativen malignen Erkrankungen empfohlen. Angeborene und erworbene Thrombozytopathien verlangen eine genaue Indikationsstellung, die Gabe bei Immunthrombozytopenien (ITP), thrombotisch-thrombozytopenischer Purpura (TTP), hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS) und bei

disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC) wird außer zur präoperativen Substitution oder bei schwerer Blutungen durch die Erkrankung nicht empfohlen (BÜNTE und LUDWIG 1994; SLICHTER 2007).

Die Transfusion muss nicht zwangsläufig blutgruppenkompatibel erfolgen, jedoch führen Präparate der passenden Blutgruppe bei einzelnen Patienten zu einem besseren Thrombozytenanstieg (HEAL et al. 1987; FRIEDBERG et al. 1993).

Die Lagerung von Thrombozytenpräparaten sollte bei Raumtemperatur (20-24°C) unter ständiger Bewegung in sauerstoffdurchlässigen Behältern erfolgen und ist möglichst kurz zu halten, abhängig vom Herstellungsverfahren maximal 5 bis 7 Tage. Auch die Lagerung in gefrorenem Zustand mit dem Zusatz von Dimethylsulfoxid (DMSO) ist möglich.

In der Veterinärmedizin wird die Thrombozytensubstitution durch Frischblut, thrombozytenreiches Plasma oder durch Apherese gewonnene Thrombozytenkonzentrate vorgenommen (LANEVSKI und WARDROP 2001). Allerdings ist die Gabe von Frischblut bei nicht-anämischen thrombozytopenischen Patienten kontraindiziert (BCSH 2004).

Zur Thrombozytensubstitution durch die Verabreichung von Vollblut beim Hund wird die Aufbewahrung bei Raumtemperatur über maximal 8 Stunden empfohlen (TSUCHIYA et al. 2003). Thrombozytenkonzentrate sollten nicht gekühlt und nicht gelagert werden, die Verabreichung muss innerhalb von wenigen Stunden nach der Herstellung erfolgen (HOHENHAUS 2005). Die Aufbewahrung bei -80°C mit DMSO oder Thrombosol ist möglich (APPLEMAN et al. 2009, CALLAN 2009), wird in der Praxis aber kaum angewendet.

1.2.3. Substitution von Plasma und Plasmafraktionen

Zu den definitiven Indikationen für die Verabreichung von frisch gefrorenem Plasma (FFP) gehören in der Humanmedizin lebensbedrohliche Blutungen bei angeborenem Faktormangel oder oraler Antikoagulation, Vitamin-K-Malabsorption, Lebererkrankungen, Mangel an Protein C und S, akute DIC, Gerinnungsstörungen infolge von Massivtransfusionen und die Behandlung von TTP/HUS in Verbindung mit Plasmaaustausch. Volumenersatz, Immunglobulinsubstitution und Eiweißmangel bzw. -verlust gehören bei Vorhandensein entsprechender Einzelfaktorenpräparate nicht dazu (BCSH 2004). Für eine adäquate Beeinflussung der Gerinnung müssen einem Erwachsenen initial 12-15 ml/kg Körpergewicht FFP verabreicht werden. FFP kann, wenn es innerhalb von 6 Stunden nach der Spende tiefgefroren wird, bei -30°C maximal 12 Monate gelagert werden. Nur wenn die Transfusion innerhalb von 2 Stunden nach dem Auftauen erfolgt, ist auch Faktor V noch enthalten. Wegen

der im Plasma vorhandenen Antikörper sollte die Transfusion blutgruppenkompatibel erfolgen (BCSH 2004, BUNDESÄRZTEKAMMER 2008).

Bei Hunden stellen aufgrund des Mangels an Einzelpräparaten neben erworbenen (DIC, Kumarinintoxikationen, Koagulopathie aufgrund von Lebererkrankungen) auch angeborene Gerinnungsstörungen (Hämophilie A, von Willebrand-Erkrankung, Mangel an Faktor VII, IX, X oder Prothrombin) wichtige Indikationen dar (BROOKS 2000). Weitere mögliche Indikationen sind der Ersatz von α 1-Makroglobulin bei akuter Pankreatitis oder die Zufuhr von Immunglobulinen bei Parvovirose (LOGAN 2001). Zur Therapie einer Hypoalbuminämie z.B. durch renale oder gastrointestinale Verluste ist Plasma weniger geeignet, da das zugeführte Protein bzw. Albumin schnell wieder verloren geht. FFP wird mit 6-10 ml/kg verabreicht. Erfolgt die Gabe wegen einer gestörten Hämostase, kann sie so oft wiederholt werden bis die Blutung unter Kontrolle ist (HOHENHAUS 2006). Wird die Auftrennung des Vollblutes in Plasma und Ec-Konzentrat nicht innerhalb der ersten 6 Stunden nach der Spende vorgenommen, kann das Plasma nicht als FFP, sondern nur als GP (gefrorenes Plasma) bezeichnet werden und ist bis zu 5 Jahren haltbar. Einige Gerinnungsfaktoren sind dann nicht mehr enthalten, es eignet sich jedoch zur Substitution Vitamin K-abhängiger Faktoren (II, VII, IX, X), Albumin und Immunglobulin (BCSH 2004). Auch wenn FFP aufgetaut und nicht innerhalb von 24 Stunden verwendet wird, kann es als GP wieder eingefroren werden (MOONEY 1992; KRISTENSEN und FELDMAN 1995).

Sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin findet Kryopräzipitat (Kryo) Anwendung. Es entsteht durch partielles Auftauen von FFP und enthält eine höhere Konzentration an Gerinnungsfaktoren wie Faktor VIII, von Willebrand-Faktor, Faktor XIII, Fibronectin und Fibrinogen pro Milliliter als FFP. Nach Abtrennung des Präzipitats bleibt Kryo-armes Plasma übrig, welches Eiweißfraktionen, aber nur wenige Gerinnungsfaktoren enthält (BCSH 2004; KOHN und GIGER 2006).

In der Humanmedizin stehen weiterhin Einzelpräparate aus Gerinnungsfaktoren, Albuminen und Immunglobulinen zur Verfügung (BÜNTE und LUDWIG 1994; BUNDESÄRZTEKAMMER 2008).

1.3. Bluttransfusionen bei Hunden

1.3.1. Spender

Als Quelle caniner Blutprodukte stehen klinikeigene Spender, nicht-klinikeigene Spender, autologe Spenden vor geplanten Operationen, intraoperative Autotransfusionen, Exsanguination und kommerzielle Blutbanken zur Verfügung, auch Kombinationen sind

möglich (HOHENHAUS 2006). Routinemäßig werden in den meisten veterinärmedizinischen Kliniken klinikeigene Hunde, die den Vorteil der schnellen Verfügbarkeit haben, oder nicht-klinikeigene Tiere als Blutspender herangezogen.

Viele Einrichtungen wie die beiden 1988 und 1990 eröffneten kommerziellen Blutbanken in Californien, Kliniken in Massachusetts sowie die Universitätsklinik in Pennsylvania und die 1996 eingeführte Blutbank der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin nutzen ebenfalls nicht-klinikeigene Hunde als Blutspender. Hunde von Kunden oder Angestellten als Spender zu nutzen lässt den größten Kostenfaktor entfallen: die Unterbringung, Versorgung und Pflege der Tiere. Wichtig sind dabei ein einigermaßen fester Stamm von Spendern sowie die Empathie der Hundehalter (KOHN und GIGER 2006).

Die Spender sollten klinisch gesund und regelmäßig geimpft und entwurmt sein, ein ruhiges Temperament haben und außer der Ekto- und Endoparasitoseprävention zeitnah keine Medikamente erhalten haben (LUCAS et al. 2004; KOHN und GIGER 2006). Außerdem sollten sie ausgewogen gefüttert werden, niemals selbst eine Bluttransfusion erhalten haben und je nach Endemiegebiet negativ auf Anaplasmose, Babesiose, Brucellose, Ehrlichiose, Leishmaniose, Borreliose und Dirofilariose getestet worden sein (siehe Kap. 2.3.2.2.3.).

Die untere Gewichtsgrenze der Spender wird meist mit 25 kg angegeben, das ideale Alter zwischen 1 und 8 Jahren. Oft sind Hündinnen, die nicht kastriert sind und/oder schon einmal trächtig waren, von der Spende ausgeschlossen (FELDMAN und KRISTENSEN 1995). Auch die Rasse des Spenders kann von Bedeutung sein, so haben Erythrozyten von Greyhounds nachgewiesenermaßen eine kürzere Lebensspanne als die Erythrozyten anderer Rassen (NOVINGERN et al. 1996).

1.3.2. Blutgruppen

Die Bestimmung der Blutgruppe von Spender und Empfänger kann mittels verschiedener Schnelltests erfolgen, deren Prinzip auf der Agglutination von Antikörper und Antigen beruht. Mittlerweile sind mehr als 20 verschiedene canine Antigene beschrieben (ABRAMS-OGG 2000). Ein Hund kann für jedes der DEA (dog erythrocyte antigen) positiv oder negativ sein. Das DEA 1-System ist anhand der verschiedenen Allele weiter unterteilt (BELL 1993). Es ist nicht praktikabel und nicht nötig, auf alle bekannten Antigene zu testen, da vermutlich lediglich DEA 1.1 klinisch von großer Bedeutung ist (HALE 1995; HOHENHAUS 2006). Die anderen Blutgruppen stehen in Verdacht, bei Inkompatibilitäten die Lebensspanne der transfundierten Erythrozyten zu verkürzen (SMITH 1991), es stehen jedoch nur sehr wenige Daten zur Verfügung (GIGER et al. 1995).

Da Hunde anders als Menschen kaum präformierte Antikörper besitzen, ist eine Ersttransfusion ohne Blutgruppenbestimmung relativ gefahrlos möglich (YOUNG et al. 1952). Ein idealer Universalspender sollte DEA 1.1-, 1.2-, 3-, 5- und 7-negativ und DEA 4-positiv sein (HALE 1995; HOHENHAUS 2006).

Die meisten Hunde sind positiv für DEA 4, doch da die Reaktion von DEA 4 mit den entsprechenden Antikörpern keine Hämolyse verursacht, ist diese Blutgruppe von geringer Bedeutung für die Transfusionsmedizin (ABRAMS-OGG 2000; ANDREWS 2000; HOHENHAUS 2006).

Üblicherweise wird auf das Vorhandensein von DEA 1.1 getestet. DEA 1.1-negative Hunde sollten wegen der Gefahr der Sensibilisierung und des Auftretens von akuten oder chronischen Transfusionsreaktionen bei einer Zweit- oder Mehrfachtransfusion nur DEA 1.1-negatives Blut erhalten (siehe Kap. 2.2.1.1. und Kap. 2.3.1.1.), während DEA 1.1-positive Hunde DEA 1.1-negatives oder –positives Blut erhalten können (GIGER 2009). DEA 1.2 verursacht bei sensibilisierten DEA 1.2-negativen Hunden eine schwächere hämolytische Reaktion als DEA 1.1. DEA 1.3-positive Hunde sind negativ für DEA 1.1 und DEA 1.2. Ein DEA 1.1-, 1.2- und 1.3-negativer Empfänger reagiert mit der Bildung von Antikörpern gegen alle 3 Antigene. Es gibt einen Fallbericht, in dem DEA 1.1-kompatibel transfundiert wurde und eine hämolytische Reaktion vermutlich auf ein anderes Antigen als DEA 1.1 eintrat (CALLAN et al. 1995).

Generell ist wegen der Antikörperbildung gegen nicht-getestete Antigene die Durchführung einer Kreuzprobe erforderlich, wenn ein Hund mehr als 4 Tage zuvor bereits transfundiert wurde (GIGER 2009). Außerdem sollte sie durchgeführt werden, wenn der Patient zuvor eine Transfusionsreaktion zeigte, wenn die Krankengeschichte des Patienten nicht bekannt ist oder wenn eine zu transfundierende Hündin einmal tragend war (ABRAMS-OGG 2000).

Auch eine Sensibilisierung gegen DEA 3, 5 und 7 ist möglich, zusätzlich existieren natürliche Antikörper gegen DEA 3, 5 und wahrscheinlich 7 (ABRAMS-OGG 2000).

1.3.3. Entnahme

Als Vorbereitung auf die Spende wird der Bereich der Vena jugularis geschoren und desinfiziert. Während der Blutentnahme kann sich der Hund in Seitenlage oder Brust-Bauch-Lage auf dem Tisch befinden (SCHNEIDER 2000; LUCAS et al. 2004).

Zwischen 2 Spenden sollten mindestens 8 Wochen liegen, im Notfall kann das Intervall auf 2 Wochen verkürzt werden. Bei sehr frequent eingesetzten Spendern sollte Eisen substituiert werden (HOWARD et al. 1992). Andere Autoren sprechen von 15-20 ml gespendetem Blut/kg

Körpergewicht alle 3 Wochen (LANEVSCI und WARDROP 2001), bzw. bei entsprechender Supplementierung sogar 22 ml/kg alle 10-21 Tage (AUTHEMENT 1991). In der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin werden maximal 10 ml/kg alle 3 Monate entnommen. Die Standardspende umfasst 450 ml und erfolgt innerhalb von 20-30 Minuten mittels eines kommerziellen humanen Entnahmesystems (REITEMEYER et al. 2000). Wird eine geringere Menge abgenommen, muss vor der Spende ein entsprechender Anteil an Antikoagulans abgelassen werden.

Früher wurden Vacuumflaschen aus Glas bei der Blutgewinnung verwendet, doch durch den Luftkontakt ist die Lagerungsfähigkeit auf 24 Stunden beschränkt, zumal es durch die Nutzung des Vakuums zu einer vermehrten Erythrozytenschädigung kommt. Zudem bedingt die Aktivierung einiger Gerinnungsfaktoren deren Verlust für das Blut, und es ist keine Auftrennung möglich (KAUFMANN 1992). Die Alternative stellen die heute genutzten Mehrbeutelssysteme dar: der Donor- oder Primärbeutel, der das Antikoagulans enthält, verschieden viele Satellitenbeutel, die eine Erythrozytennährlösung enthalten können und mit dem Donorbeutel ein geschlossenes System bilden, und Transferbeutel, die kein Antikoagulans enthalten und über einen Spike mit dem Donorbeutel verbunden werden können, um z.B. eine Konserve zu teilen. Heute genutzte Blutbeutel bestehen aus Polyvinylchlorid (PVC), das durch bestimmte Zusätze weich und atmungsaktiv wird. Dadurch wird die Lebensfähigkeit der Erythrozyten verbessert (KAUFMANN 1992).

Das Blut gelangt je nach Entnahmesystem durch Unterdruck oder Gravitation in den Primärbeutel. Die Spende sollte, vor allem wenn die Schwerkraft genutzt wird, unter stetigem Blutfluss erfolgen, um eine Aktivierung von Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren zu verhindern (SCHNEIDER 2000). Durch vorsichtiges Schwenken des Primärbeckels wird die Durchmischung von Blut und Antikoagulans erreicht. Um die bereits entnommene Menge ermitteln zu können, kann eine Küchen- oder Federwaage genutzt werden (SCHNEIDER 2000). Nach Beenden der Spende wird die Entnahmenadel aus der Vene gezogen und die Einstichstelle komprimiert, um eine Nachblutung zu verhindern.

1.3.4. Auftrennung

Die Auftrennung von Vollblut in Komponenten kann zu jedem Zeitpunkt zwischen Abnahme und Verfallsdatum vorgenommen werden (MOONEY 1992). Durch Zentrifugation bei 4°C mit 2000 g über 30 Minuten entstehen Erythrozytenkonzentrat (Ec-Konzentrat) und gefrorenes Plasma (GF) (MOONEY 1992). Andere Autoren verwenden 5000 g über 5 Minuten (SCHNEIDER 2000).

Zur Herstellung von Ec-Konzentrat und frisch gefrorenem Plasma (FFP) muss die Auftrennung zeitlich so vorgenommen werden, dass das Plasma innerhalb von 6 Stunden vollständig durchgefroren ist (BROOKS 2000).

Die Gewinnung von thrombozytenreichem Plasma (PRP) muss innerhalb von 8 Stunden abgeschlossen sein. Dazu erfolgt die Zentrifugation bei 20-24°C mit 2000 g über 2,5 Minuten (SCHNEIDER 2000).

Kryopräzipitat (Kryo) kann zu jedem Zeitpunkt bis zum Ablauf der Haltbarkeit aus FFP hergestellt werden. Dabei wird FFP bei 1-6°C angetaut bis noch ca. 1/10 des Inhalts gefroren ist. Der Plasmaüberstand wird als Kryo bezeichnet und enthält viel Fibrinogen und Faktor VIII sowie vonWillebrand-Faktor (MOONEY 1992; SCHNEIDER 2000).

Die Auftrennung in Komponenten wird wegen der hohen Kosten, die die Anschaffung einer Kühlzentrifuge mit sich bringt, in veterinärmedizinischen Praxen selten vorgenommen. Alternativ sind die passive Separation oder die Mitnutzung der Ausstattung einer Humanklinik möglich (FELDMAN und KRISTENSEN 1995).

1.3.5. Lagerung

Erythrozytenhaltige Präparate werden bei 1-6°C gelagert, Plasmaprodukte bei -18°C oder weniger (SCHNEIDER 2000).

Als Antikoagulantien stehen Zitrat, Heparin und Ethylendiamin-Tetraacetic (EDTA) zur Verfügung. Zitrat ist in den heute verwendeten Antikoagulantien enthalten, die beiden letztgenannten werden nicht mehr eingesetzt. Angewendet werden Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin (CPDA-1) 14 ml/100 ml Blut für die Lagerung von Vollblut und Erythrozytenkonzentrat bis zu 35 Tage, Citrat-Phosphat-Dextrose (CPD), zu verwenden wie CPDA-1 mit bis zu 21 Tagen Lagerungszeit und Acid-Citrat-Dextrose (ACD) 15 ml/100 ml Blut bis zu 21 Tage. Adenin als Bestandteil lässt eine ATP-Synthese durch die Erythrozyten zu, wodurch es zu einer verbesserten Überlebensfähigkeit von Erythrozyten verglichen mit CPD als Antikoagulans kommt (AKERBLOM und KREUGER 1975). Mit dem Zusatz von Additivlösungen wie den kommerziell erhältlichen Lösungen Adsol und Nutricel kann die Lagerungszeit um weitere 7 Tage verlängert werden (KAUFMANN 1992), da ein Abfall der ATP-Konzentration und der Lebensfähigkeit der Erythrozyten verzögert eintritt (WARDROP 1995).

In der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin wurde die maximale Lagerungsdauer für Ec-Konzentrate in CPD+Adsol bei 4°C von 35 Tagen auf 30 Tage

verkürzt, um die Wahrscheinlichkeit einer lagerungsbedingten Hämolysereaktion herabzusenken (KOHN et al. 2000b; REITEMEYER et al. 2000).

1.3.6. Transfusion

Um die bei 4°C gelagerte Erythrozytenkonserve anzuwärmen, darf keine Mikrowelle verwendet werden, da bei einem schnellen Temperaturanstieg ein hohes Risiko einer klinisch relevanten bakteriellen Kontamination besteht. Die Erwärmung bei Raumtemperatur ist ausreichend, 30 min erhöhen die Temperatur auf 6-10°C. Bei Plasmapräparaten ist darauf zu achten, dass der Port im Wasserbad nicht nass wird (MOONEY 1992). Wenn möglich, sollte die Transfusion von Ec-Konzentraten blutgruppenkompatibel erfolgen, zum einen, um adverse Reaktionen zu vermeiden und zum anderen, um einer möglichen Sensibilisierung vorzubeugen (HOHENHAUS 2006). Bei humanen Plasmapräparaten ist dies ebenfalls erforderlich (Bundesärztekammer Novelle 2005). Liegt die erste Transfusion länger als 4 Tage zurück, sollte vor jeder weiteren Transfusion eine Kreuzprobe durchgeführt werden, um das Risiko möglicher Transfusionsreaktionen zu senken (WARDROP 2000). Die Administration von Blutprodukten kann intravenös, intramedullär oder intraperitoneal erfolgen (HOHENHAUS 2006). In das Transfusionsbesteck sollte ein Filter zum Rückhalt der Aggregate integriert sein (HOHENHAUS 2006). Die Porengröße dieser Filter beträgt nach der DIN 58360 170-230 µm (Bundesärztekammer Novelle 2005). Innerhalb von 4 Stunden sollte das Präparat vollständig verabreicht werden. Beschädigte oder verfärbte Blutkonserven sollten nicht verwendet werden (SCHNEIDER 2000). Wichtig ist die Überwachung des Empfängers während und nach der Transfusion, erstens in Bezug auf den gewünschten Erfolg und zweitens im Hinblick auf adverse Reaktionen (HOHENHAUS 2006).

In den USA führten in einer Untersuchung von 1990/91 lediglich 25, also 1/5 der Kleintierpraxen/-kliniken mit mindestens 3 Kleintiermedizinerinnen regelmäßig Transfusionen durch (HOWARD et al. 1992). Die Abnahme der Spende erfolgte meist für einen konkreten Fall, nur eine Praxis nutzte die Blutbank einer benachbarten Universitätsklinik. Überwiegend erfolgte die Transfusion von Frischblut, selten wurde das Vollblut in Komponenten aufgeteilt. Die Kosten für eine 500ml-Einheit lagen zwischen 25 und über \$300, mit über 3/4 unter \$100, wobei über 80% der Praxen ihre Kosten mit mehr als 25% bei der Abrechnung unterschritten.

2. Komplikationen und Risiken von Bluttransfusionen

2.1. Allgemeines

Als adverse Transfusionsreaktion wird jedes unerwünschte Ereignis bezeichnet, das nach dem Erhalt von Blut oder Blutkomponenten eintritt (SNYDER 1994).

Gegen Ende des 19. Jahrhunderts rieten viele Wissenschaftler von der Durchführung von Transfusionen dringend ab. Zunächst erkannte man, dass die Verabreichung artfremden Blutes (zunächst überwiegend von Lämmern stammend) die hohe Rate an Komplikationen bedingen könnte, doch stellte sich die Transfusion menschlichen Blutes nicht wesentlich erfolgreicher dar. Als Ausweg bei schweren Blutverlusten wurde auf die Möglichkeit der Durchführung einer 1879 von Hugo Kronecker und J. Sander eingeführten Kochsalzinfusion hingewiesen. In Tierexperimenten hatte man herausgefunden, dass das Aufrechterhalten eines adäquaten Volumens wichtiger war als die Zufuhr von Erythrozyten. Nach der Entdeckung der Blutgruppen nahm die Häufigkeit von oft tödlich endenden Zwischenfällen ab, die Grundlagen unerwünschter Ereignisse bildeten fortan vor allem immunologische und infektiöse Prozesse (GREENWALT 1997). In einer retrospektiven Studie (VAMVAKAS und TASWELL 1994), die sich mit der Überlebenszeit von 802 Transfusionspatienten verschiedener Humankliniken des Jahres 1981 beschäftigte, wurde eine mittlere Überlebenszeit von 95 (+/- 2,5) Monaten ermittelt. 24% der Patienten starben innerhalb des ersten Jahres, 30% in den ersten zwei Jahren, 40% innerhalb von 5 Jahren und 52% nach 10 Jahren. Unter Einbeziehung des Risikos durch Alter, Geschlecht und Länge des vorherigen Klinikaufenthaltes erhöhte sich das Mortalitätsrisiko um 4,1% pro Einheit Ec-Konzentrat, um 1,2% pro Thrombozytenkonserven und um 7,3% bei Erhalt einer FFP-Einheit.

Obwohl heutzutage Transfusionen routinemäßig durchgeführt werden und durch die verbesserte HIV-Diagnostik risikoärmer wurden, sind sie noch immer mit erheblichen Schwierigkeiten und Komplikationen verbunden (VINCENT et al. 2002).

In der Veterinärmedizin sind zudem die technische Ausstattung, die allgemeinen Standards und die rechtlichen Vorschriften weniger weit entwickelt als in der Humanmedizin, dennoch ist das Auftreten von Komplikationen relativ selten. In einer Studie über akute adverse Transfusionsreaktionen bei Hunden wurde in dem 2jährigen Untersuchungszeitraum eine Rate von 2,2% (4/186 Erythrozyten-Transfusionen) ermittelt, bzw. 3,9% (4/103) Hunde hatte eine transfusionsbedingte Komplikation. Ein Hund hatte eine allergische Reaktion, 3 weitere Hunde reagierten mit einer Hämolyse mit Fieber (REITEMEYER et al. 2000).

Jede allogene Transfusion entspricht einer intravenösen Transplantation mit den damit verbundenen Risiken (NUSBACHER 1994). Auch bei der Verabreichung autologer, also

körpereigener Blutprodukte besteht das Risiko adverser Reaktionen wie Hypotension, bakterieller Kontamination, Volumenüberladung, Luftembolie und Hämolyse (DOMEN 1998). Sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin ist die Verabreichung von Blutkonserven häufig ohne Alternative, und der Nutzen überwiegt bei verantwortungsvollem Umgang bei weitem das Risiko (PRITTIE 2010). Daher sollten die Indikation und mögliche Alternativen zu einer Transfusion vor der Verabreichung sorgfältig überdacht werden (WHITSETT 1995), weiterhin sind eine gute Voruntersuchung der Spender und die sorgfältige Abnahme, Präparation, Lagerung und Verabreichung von Blutprodukten wichtig (HOHENHAUS 2006). Zudem dient die Existenz von Gremien dazu, Standards festzulegen, Qualitätskontrollen durchzuführen und die Transfusionspraxis stetig zu verbessern (MINTZ 1995). In Deutschland ist das Paul-Ehrlich-Institut die für die Bewertung von Nebenwirkungen zuständige Bundesbehörde (FÖLSCH und CASSENS 2009).

Bei den adversen Reaktionen, die transfusionsbedingt auftreten, kommen verzögerte Komplikationen mit über 1% der Patienten zwar häufiger vor als die akuten mit <1:1000 Transfusionen, jedoch nehmen letztgenannte häufiger einen fatalen Verlauf (EDER und CHAMBERS 2007).

2.2. Akute Reaktionen

2.2.1. Akute immunbedingte Reaktionen

2.2.1.1. Akute hämolytische Reaktion

Akute Reaktionen treten innerhalb von Minuten bis zu einige Tage nach der Transfusion ein. Hämolytische Transfusionsreaktionen stellen eine Komplikation nach der Verabreichung von Erythrozytenpräparaten dar. Sie laufen als Antigen-Antikörper-Reaktion ab und werden als Typ II Hypersensitivitätsreaktion klassifiziert (TIZARD 2006a). Doch auch inkompatible Plasmaproducte mit entsprechenden Antikörpertitern können Hämolyse auslösen (HENDRICKSON und HILLYER 2009).

Klinisch kann es zur Ausbildung von Fieber, Bewusstseinstörung, Schmerzen im unteren Rücken, Druckgefühl in der Brust, Hypotension, Übelkeit und Erbrechen kommen. Die Hämolyse kann intravaskulär als Folge einer Inkompatibilität im AB0-System oder extravasal im Makrophagensystem von Milz, Leber und Knochenmark auftreten. Die Mechanismen der intravasalen Hämolyse sind neben der Antigen-Antikörper-Reaktion disseminierte intravasale Gerinnung (DIC) und hämodynamische Störungen, die zu ischämischer Gewebsnekrose v.a. der Nieren führen. Hämoglobinämie und -urie können bei mildem Verlauf ohne eine messbare Antikörpererhöhung als einzige Symptome auftreten. Bei schweren Verläufen

können jedoch Schocksymptome, akute Blutungen, akutes Nierenversagen und Todesfälle vorkommen (BEUTLER 2005). Eine intravasale Hämolyse kann innerhalb von Minuten nach Beginn der Transfusion eintreten, eine extravasale Hämolyse nimmt meist weniger dramatische Formen an und zeigt sich in Hyperbilirubinämie und –urie (TIZARD 2006a). Um eine solche Reaktion auslösen zu können, müssen einem Menschen mindestens 200ml Blut verabreicht werden (BEUTLER 2005).

Ursächlich ist die Verabreichung einer nicht-kompatiblen Konserve für die Reaktion verantwortlich, wobei meist eine Verwechslung von Patienten oder Blutprodukten zugrunde liegt (BUNDESÄRZTEKAMMER 2008). Bei Patienten, die bereits mehrfach transfundiert wurden, entsteht ein komplexes Antikörperprofil, das die Auswahl der nächsten Konserve schwierig gestalten kann (WIN et al. 2010). Beim Menschen sind biochemische Vorgänge bei ABO-Inkompatibilitäten gut untersucht (DAVENPORT et al. 1993; CAPON und GOLDFINGER 1995). Grad und Zeitpunkt des Auftretens der akuten hämolytischen Transfusionsreaktion ist abhängig von der Antikörperklasse, der Temperatur, bei der die Antikörper an die Oberflächenantigene binden, dem Grad der Komplementbeteiligung und dem Vorhandensein von Bindungsstellen für phagozytierende Zellen (TIZARD 2006b). Während ein einzelner IgM-Antikörper in der Lage ist, Komplement zu binden, benötigen IgG-Antikörper zur Aktivierung des Komplementsystems eine relativ hohe Konzentration. Die Aktivierung durch IgM bewirkt die Lyse der Erythrozytenmembran, es kommt zur intravasalen Hämolyse, die wiederum das hämostatische System aktiviert. Die Folge ist eine DIC, die einen umso schwereren Verlauf nimmt, wenn die Transfusion mit hoher Geschwindigkeit erfolgte (HARDAWAY et al. 1956; BRECHER und TASWELL 1991). Weiterhin werden vasoaktive Substanzen wie Serotonin, Histamin und Bradykinin freigesetzt, die durch Dilatation der Arteriolen und Erhöhung der Gefäßpermeabilität zu einer systemischen Hypotension führen. Zur Gegenregulation bewirken Katecholamine eine Vasokonstriktion in Lunge, Niere, Gastrointestinaltrakt und in der Haut (BRECHER und TASWELL 1991). Zusammen mit ebenfalls freigesetzten Zytokinen können diese Mechanismen Schock, akutes Nierenversagen und andere Organschäden nach sich ziehen.

IgG-Antikörper können die Komplementkaskade in Gang setzen, jedoch nur bis zu einer bestimmten Stufe. Die Hämolyse findet intravaskulär oder häufiger etwas verzögert extravaskulär in Leber und Milz statt, in dem Fall konnten die Antikörper das Komplementsystem nicht aktivieren, regen jedoch durch ihr Haften an der Erythrozytenmembran die Phagozytose durch das retikuloendotheliale System an (RAMSEY 1994; TIZARD 2006b).

Die canine Blutgruppe DEA 1.1 ist die am stärksten antigen wirkende Blutgruppe beim Hund, wie experimentell (YOUNG et al. 1949; YOUNG et al. 1952) und klinisch (GIGER et al. 1995) gezeigt werden konnte. Wird einem DEA 1.1-negativen Hund DEA 1.1-positives Blut verabreicht, kommt es zur Bildung von Alloantikörpern, die lebenslänglich persistieren können. Eine erneute inkompatible Transfusion nach mindestens 4 Tagen führt meist zu einer akuten hämolytischen Transfusionsreaktion innerhalb von 12 Stunden, unter Umständen liegen Jahre zwischen der ersten Transfusion und der die Reaktion auslösenden zweiten Transfusion (GIGER et al. 1995). Innerhalb von 10 Minuten werden etwa 84% der transfundierten Erythrozyten zerstört (YOUNG et al. 1949). Andere Inkompatibilitäten wie DEA 1.2- und 7- negative Hunde, die positives Blut erhielten, führten allenfalls zu milden Symptomen, die Effektivität von Erythrozytenkonserven könnte jedoch vermindert werden (YOUNG et al. 1949; YOUNG et al. 1952). Allerdings gibt es einen Fallbericht, in dem eine hämolytische Reaktion nach der Verabreichung einer DEA 1.1-kompatiblen Transfusion auftrat und somit vermutlich auf ein anderes Antigen zurückzuführen ist (CALLAN et al. 1995). Bei 20% der DEA 3-negativen und bei 10% der DEA 5-negativen Hunde wurde über natürlich vorkommende Antikörper berichtet (SWISHER et al. 1962), deren klinische Bedeutung jedoch bisher unbekannt ist. Symptome treten während oder kurz nach der Transfusion auf und sind in erster Linie Übelkeit, Ödeme, Hyperthermie, Zittern, Salivation und Dyspnoe. Das beim Menschen gefürchtete Vorkommen von akutem Nierenversagen scheint beim Hund keine große Rolle zu spielen (YUILE et al. 1949; GOLDFINGER 1977; CAPON und SACHER 1989; RAMSEY 1994; CAPON und GOLDFINGER 1995).

2.2.1.2. Akute Hypersensitivitätsreaktion

Akute Hypersensitivitätsreaktionen können anaphylaktischer oder anaphylaktoider Natur sein (GREENBERGER 1991; RAMSEY 1994). Sie treten nach 1-3% aller Transfusionen als Urtikaria und bei 1/20000 bis 1/50000 Transfusionen als Anaphylaxie mit Bronchospasmus, Hypotension und gastrointestinalen Symptomen auf (HENDRICKSON und HILLYER 2009). Sind Mastzellen und IgE-Antikörper beteiligt, handelt es sich um eine anaphylaktische und somit allergische Reaktion. Durch die Bindung von Antigenen an Mastzell-gebundene IgE-Antikörper werden verschiedene Mediatoren wie Proteasen, Serotonin, Histamin und Kallikrein freigesetzt, wodurch es zu einer Aktivierung des Komplementsystems und zur Bildung der Anaphylaxine C3a und C5a kommt (GREENBERGER 1991; ISBISTER 1993; TIZARD 2006a). Die klinischen Symptome können innerhalb von Sekunden bis 45 Minuten nach

Beginn der Transfusion auftreten, wobei die Schwere von dem Grad der Mastzelldegeneration und Mediatorenfreisetzung abhängt (GREENBERGER 1991; ISBISTER 1993; RAMSEY 1994).

Durch in Plasmatransfusionen enthaltene Alloantigene wie Albumin, potentielle Allergene wie Antibiotika oder Zusatzstoffe sowie Spender-IgE können akute Hypersensitivitätsreaktionen ausgelöst werden (GREENBERGER 1991; ISBISTER 1993). 90% der allergischen Reaktionen sind auf Plasma- oder Thrombozytentransfusionen zurückzuführen (BUNDESÄRZTEKAMMER 2008). In der Humanmedizin sind Fälle beschrieben, in denen Menschen mit IgA-Mangel und IgA-Antikörpern auf Spender-IgA mit akuten Überempfindlichkeitsreaktionen reagierten (GREENBERGER 1991; RAMSEY 1994; JETER und SPIVEY 1995). Bei Hunden könnten Rassen mit Prädisposition für eine IgA-Defizienz sowie Atopiker und Mehrfachtransfundierte ein größeres Risiko besitzen, jedoch gibt es dafür bisher keine konkreten Anhaltspunkte (ISBISTER 1993). Klinische Folgen können neben Pruritus und Urtikaria auch eine erhöhte Permeabilität von Membranen, Bronchokonstriktion und Hypertension darstellen (HARRELL et al. 1997).

2.2.1.3. Leukozyten- und Thrombozytenhypersensitivitätsreaktion

Die febrile nicht-hämolytische Transfusionsreaktion (FNTR) ist definiert als eine Erhöhung der inneren Körpertemperatur des Empfängers um mindestens 1°C mit oder ohne Schüttelfrost und Gelenksteifigkeit, wenn sie in zeitlicher Nähe zu der Verabreichung einer Transfusion auftritt und andere Ursachen für das Fieber ausgeschlossen werden konnten (WALKER 1993; BUNDESÄRZTEKAMMER 2008). Solche Reaktionen kamen mit etwa 1-3% der verabreichten Transfusionen in den 1990er Jahren in der Humanmedizin relativ häufig vor. Durch den Einsatz von Leukozytenfiltern ist die Inzidenz aber stark zurückgegangen (HENDRICKSON und HILLYER 2009). FNTR sind meist nicht schwerwiegend oder lebensbedrohend und lassen sich gut durch die Verabreichung von Antipyretika unter Kontrolle bringen (KEVY et al. 1962; MENITOVE et al. 1982; WALKER 1987; MILLER und MINTZ 1995). Allerdings kann es durch die Freisetzung bestimmter Mediatoren zur Akkumulation von neutrophilen Granulozyten in der Lunge und somit zu schweren respiratorischen Symptomen oder zum Schock kommen (RAMSEY 1994). Die Bedeutung liegt einerseits natürlich in den Unannehmlichkeiten für die Patienten, andererseits aber auch in den erhöhten Kosten, die durch den Ausschluss anderer Ursachen für das Fieber entstehen (MILLER und MINTZ 1995).

Dass Leukozyten an der Entstehung dieser Reaktionen beteiligt sind, ist schon seit vielen Jahrzehnten bekannt (BRITTINGHAM und CHAPLIN 1957; PERKINS et al. 1966). Weiterhin sind

Pyrogene wie Interleukin-1 (IL-1) und Interleukin-8 (IL-8) aus Spenderleukozyten und die Aktivierung des Komplementsystems, die durch eine Antigen-Antikörper-Interaktion eintritt und zu einer Freisetzung weiterer Pyrogene aus Monozyten des Empfängers führt, als Verursacher zu nennen (BRUBAKER 1990; SNYDER und STACK 1991; BRAND 1994c; SNYDER 1995). Empfänger werden klassisch in „Responder“ und „Non-Responder“ unterteilt, da nicht alle Menschen immunologisch gleich reagieren. Dabei scheint es auch eine Rolle zu spielen, ob der Empfänger schon vor der Transfusion einen erhöhten Spiegel an inflammatorischen Agentien aufweist (HENDRICKSON und HILLYER 2009).

Dass auch Spenderzytokine als Pyrogene eine Ursache für eine febrile Reaktion darstellen, zeigt sich darin, dass Risiko und Schwere der Reaktionen mit der Dauer der Lagerung der Konserve zunehmen (MUYLLE et al. 1992; HEDDLE et al. 1993) und besonders ausgeprägt bei Thrombozytenpräparaten, die bei Raumtemperatur aufbewahrt werden, auftreten (HEDDLE et al. 1993; OKSANEN et al. 1994; AYE et al. 1995). Die Höhe der Konzentrationen von IL-1, Tumornekrosefaktor (TNF), IL-6 und IL-8 korreliert mit dem Auftreten febriler Transfusionsreaktionen und steigt zum Teil mit der Lagerungsdauer (MUYLLE et al. 1993; SACHER 1993; STACK et al. 1995; LIN et al. 2002). Andere Entzündungsmediatoren wie Histamin, Serotonin und Saure Phosphatase sind ebenfalls beteiligt (RAPAILLE et al. 1997).

Als involvierte Antikörper werden anti-HLA- (human leukocyte antigen) und spezielle Granulozyten-Antikörper vermutet, die bei Frauen durch die Präformierung während vorangegangener Schwangerschaften häufiger zu Komplikationen führen als bei Männern (BRUBAKER 1990). Auch von Thrombozyten werden HLA exprimiert, jedoch im Vergleich zu den Leukozyten wesentlich schwächer (MINTZ 1991; DZIK et al. 1994). Die Antikörper als immunologischer Faktor werden neben den klinischen Faktoren Splenomegalie, Fieber und der Verabreichung bestimmter Antibiotika mit dem Nichtansteigen der Thrombozytenzahl trotz Thrombozytentransfusion (Refraktion) in Verbindung gebracht (BÖCK et al. 1996). In einer Untersuchung wurden bei 54% der transfundierten Patienten thrombozytenreaktive Antikörper gefunden, am häufigsten gegen HLA I-Antigene (KURZ et al. 1996). Auch hier zeigte sich ein gehäuftes Auftreten bei Empfängern mit einer möglichen vorherigen Immunisierung durch nicht-leukozytenreduzierte Blutpräparate und/oder Schwangerschaften. Diese Beobachtung wurde auch in anderen Studien gemacht (NOVOTNY et al. 1995).

In der Humanmedizin stellt die Refraktionsreaktion auf transfundierte Thrombozyten eine weitere gefürchtete Folge von Alloimmunisation dar (SAARINEN et al. 1990; ALCORTA et al. 1996), während Studien mit Tieren gezeigt haben, dass die alleinige Verabreichung von Thrombozytenpräparaten kaum immunogen wirkt (LANE et al. 1992). In einem Fall von

Thrombozytopenie nach Transfusion bei einem Hund stellte die Reaktion mit kreuzreagierenden Antikörpern die vermutete Ursache dar (WARDROP et al. 1997a).

Bei Hunden wird die Hypersensitivitätsreaktion ähnlich wie in der Humanmedizin auf das Vorhandensein von Pyrogenen zurückgeführt und als eine häufige Ursache für einen Anstieg der Körpertemperatur nach Transfusion angesehen (HOHENHAUS 2000). Die Patienten sind jedoch deutlich weniger krank als Hunde, die mit vergleichbar hohem Fieber auf eine bakteriell kontaminierte Konserve reagieren. Die beim Menschen beschriebene Entstehung von Thrombosen aufgrund der forcierten Thrombozytenaggregation kommt selten vor oder kann selten mit der Verabreichung von Blutprodukten in Verbindung gebracht werden (BRANDT et al. 1996a).

Beim Hund trat eine Thrombozytopenie als Nebenwirkung von thrombozytengebundenen Antikörpern in einem Fall nach der Verabreichung von Vollblut und in einem anderen nach der Transfusion einer Erythrozytenkonserve auf (LEWIS et al. 1995; KOHN et al. 2000a).

Zur Verringerung des Risikos sollte die Verabreichung einer weiteren Konserve desselben Spenders vermieden werden. Durch die prophylaktische Verabreichung von Antihistaminika kann die febrile Reaktion nicht verhindert werden, jedoch durch die Gabe von Dexamethason oder einem nicht-steroidalen Antiphlogistikum (ABRAMS-OGG 2000).

2.2.1.4. Graft-Versus-Host Disease und Acute Lung Injury

Auch die so genannte transfusionsassoziierte Graft-Versus-Host Disease (GVHD) beim Menschen soll auf das Vorhandensein von Leukozyten und HLA zurückzuführen sein (MINCHEFF 1998). Dabei richten sich die transfundierten T-Lymphozyten gegen den Empfänger mit häufig letalem Verlauf durch Multiorganversagen, die Letalitätssrate liegt um die 90% (KLEIN 1992; WILLIAMSON und WARWICK 1995). Die akute Form betrifft meist Haut, Darm, Leber und Auge, je nach Anzahl der beteiligten Organe und nach Schweregrad werden 4 Grade unterschieden. Klinisch treten Fieber, Leberversagen, Kolitis und Panzytopenie auf manchmal erst 1-6 Wochen nach der Transfusion auf. Bei ca. 50% der von der akuten GVHD betroffenen Patienten kann sich die chronische Form entwickeln (JACOBSON und VOGELSANG 2007). Risikofaktoren seitens des Empfängers für die akute GVHD stellen intensive Chemotherapie, bestimmte Medikamente wie Fludarabine, Immundefizienz, Hodgkin-Erkrankung, Stammzelltransplantate, intrauterine Transfusion und Erythroblastosis fetalis dar (HENDRICKSON und HILLYER 2009).

Die Schädigung kommt dadurch zustande, dass die Lymphozyten nicht als körperfremd erkannt und somit zerstört werden, besonders wenn Spender und Empfänger einen

gemeinsamen homozygoten HLA-Haplotyp besitzen, wie das zum Beispiel unter Verwandten vorkommt (JETER und SPIVEY 1995). Die transfundierten Antikörper befinden sich in hoher Konzentration in Konserven multiparer Spenderinnen (JETER und SPIVEY 1995).

Ähnliches ereignet sich bei der selten auftretenden transfusionsassoziierten Acute Lung Injury (TRALI), wobei Spendergranulozyten mit Granulozyten des Empfängers reagieren. So entstehen Granulozytenaggregate, die sich in Lungenkapillaren festsetzen und dort zur Schädigung des Lungenparenchyms führen (POPOVSKY et al. 1992; BARRETT und KAM 2006). Antineutrophile Antikörper und antiHLA-Antikörper sollen ebenfalls beteiligt sein, das Plasma multiparer Frauen scheint solche Reaktionen besonders häufig auszulösen (HENDRICKSON und HILLYER 2009). Auch antithrombozytäre Antikörper werden in der Humanmedizin mit vermehrter Thrombozytenaggregation mit potenziell nachfolgender thrombotischer Tendenz vor allem nach schneller Verabreichung von Blutprodukten in Verbindung gebracht (BRANDT et al. 1996).

Bei Hunden kommen thrombembolische Erkrankungen vergleichsweise selten vor, doch es besteht eine Korrelation zwischen multiplen Transfusionen und dem Auftreten von pulmonären Thrombembolien bei Patienten mit immunhämolytischer Anämie (KLEIN et al. 1989). Auch Patienten, die an einem Hyperadrenokortizismus, Diabetes mellitus, Glomerulonephropathien oder Vaskulitis leiden, sind möglicherweise prädisponiert für Thrombembolien.

Beim Menschen sind auch andere Prädispositionen seitens des Patienten beschrieben wie Sepsis oder andere Entzündungsprozesse (SILLIMAN 1999). So kann durch eine vorherige Sensibilisierung der eigenen Granulozyten durch eine entsprechende Grunderkrankung eine Reaktion auf Membranproteine aus einer gelagerten Blutkonserve ausgelöst werden, die nicht immunvermittelt und meist milder verläuft als die immunvermittelte TRALI (FÖLSCH und CASSENS 2009). Klinisch lässt sich TRALI nicht von einem Adult Respiratory Distress Syndrom (ARDS) durch andere Ursachen wie pulmonäre Infektion, Aspiration oder Toxininhalation unterscheiden. Sie tritt jedoch in engem zeitlichen Zusammenhang zu einer Transfusion (innerhalb von 1-6 Stunden) auf und zeigt bei unterstützter Ventilation durch die Gabe von Sauerstoff und gegebenenfalls Beatmung meist eine schnelle Besserung während der ersten 48-96 Stunden nach Einsetzen der Symptome. Die Mortalitätsrate liegt bei etwa 5% (POPOVSKY et al. 1992; RAMSEY 1994; BEUTLER 2005).

Der Einsatz immunsuppressiver Medikamente hat nicht zu dem gewünschten Erfolg geführt, durch die Bestrahlung der Konserven vor der Transfusion kann das Risiko einer GVHD jedoch weitestgehend verhindert werden. Eine absolute Indikation für die Verwendung

bestrahlter Blutprodukte stellen Patienten mit kongenitaler Immundefizienz, AIDS- und Chemotherapie-Patienten, Empfänger von Knochenmarktransplantaten, intrauterine und postpartale Transfusionen dar (ANDERSON et al. 1991a). Zudem werden alle Blutkomponenten aus gerichteten Blutspenden von Blutsverwandten, alle HLA-ausgewählten Blutkomponenten sowie alle Granulozytenpräparate bestrahlt (BUNDESÄRZTEKAMMER Novelle 2005). Die Durchführung der Bestrahlung erfolgt auf Anforderung (Information DRK 2009).

2.2.2. Akute nicht immunbedingte Reaktionen

2.2.2.1. Hämolyse

Die Lyse von Spendererythrozyten vor oder während der Transfusion kann bei dem Empfänger klinische Anzeichen einer Hämolyse und entsprechende Laborwertveränderungen hervorrufen. Liegt eine bakterielle Kontamination zugrunde, sind die Komplikationen oft schwerwiegend, während eine Hämolyse durch andere Ursachen meist nicht behandlungswürdig ist und lediglich die Effektivität der transfundierten Blutkonserve verringert (CAPON und SACHER 1989).

Mögliche andere Ursachen stellen Verdünnung mit hyper- oder hypotonen Lösungen, überlagerte Konserven, falsche Lagerung wie Einfrieren ($<-3^{\circ}\text{C}$) oder Überhitzen ($>46^{\circ}\text{C}$) und mechanische Traumata durch abgeknickte Transfusionsbestecke, verstopfte Filter, kleinumige Nadeln oder übermäßig schnelle Transfusionen dar, sowohl beim Hund (COTTER 1988; COTTER 1991; HARRELL und KRISTENSEN 1995) als auch beim Menschen (BUNDESÄRZTEKAMMER 2008; HENDRICKSON und HILLYER 2009).

2.2.2.2. Kreislaufüberlastung

Durch schnelle Transfusion großer Volumina kann es bei normovolämischen, z.B. nicht blutenden Patienten zur Kreislaufüberlastung kommen. Es kann zum kongestiven Herzversagen und zur Ausbildung eines lebensbedrohlichen Lungenödems kommen. Wichtig ist deshalb die Überwachung des Blutdrucks vor, während und nach der Transfusion (BEUTLER 2005; KATZ 2009). Prophylaktisch sollte das transfundierte Volumen auf 2-4 (bei besonderem Risiko auf 1) ml/kg Körpergewicht und Stunde beschränkt werden (BUNDESÄRZTEKAMMER 2008).

Besonders gefährdet sind auch in der Veterinärmedizin Patienten mit kardialen Erkrankungen, mit chronischer Anämie sowie oligo- oder anurische Patienten (COTTER 1991). Bei Hunden tritt diese Komplikation, die mit Tachypnoe, Tachykardie oder Husten einhergeht, relativ häufig auf. Wird sie nicht schnell behandelt, kann es zur Ausbildung von Lungenödem und

einem kongestiven Herzversagen kommen (SNYDER und STACK 1991). Patienten, die indikationsgemäß Massentransfusionen erhalten und entsprechend überwacht werden, tolerieren diese ohne die Komplikation der Kreislaufüberlastung (BUCKLEY und ROZANSKI 2009).

2.2.2.3. Bakterielle Kontamination

Mit der Verwendung geschlossener Blutspende-Systeme und mit der aufkommenden AIDS-Problematik wurde das Augenmerk von der Gefahr der bakteriellen Kontamination primär auf die Übertragung von Viren gerichtet (BLAJCHMAN et al. 1994), doch das Risiko einer Transmission von Bakterien liegt nach wie vor höher als das einer Übertragung viraler Erreger (BRECHER und HAY 2005). Das Risiko einer bakteriell kontaminierten Konserve liegt bei Ec-Konzentraten bei 2/1Millionen Einheiten, bei Thrombozytenpräparaten allerdings bei 1/2000 Einheiten. Schon 10ml Blut reichen, um eine Reaktion auszulösen. Eine schnelle Diagnosestellung ist essentiell, und trotzdem ist der Verlauf oft fatal (BEUTLER 2005).

Obwohl der Nachweis einer transfusionsassoziierten Sepsis in vielen Fällen nicht gelingt, wurde in den 1990er Jahren angenommen, dass sie nach Verabreichung von Thrombozytenpräparaten Ursache für bis zu 30% der schweren febrilen Reaktionen beim Menschen ist (CHIU et al. 1994; OLSEN und SANDLER 1996). Andere Untersuchungen sprachen von 1 von 700 Empfängern von Thrombozyten mehrerer Spender, 1 von 400 Empfängern von Thrombozyten eines Spenders und 1 von 31000 Patienten, die Erythrozytenkonzentrate erhalten (MORROW et al. 1991; BARRETT et al. 1993). Vor allem Thrombozytenpräparate, die bei Raumtemperatur gelagert werden, bergen die Gefahr einer bakteriellen Kontamination (MORROW et al. 1991; YOMTOVIAN et al. 1993; BLAJCHMAN et al. 1994). Zudem erhält ein humaner Patient durchschnittlich 6 Thrombozytenkonserven pro Transfusion, so dass das Risiko einer Bakteriämie nach Transfusion sehr hoch liegt (CHIU et al. 1994). Allerdings hat die Rate wieder abgenommen, indem Maßnahmen ergriffen wurden, um kontaminierte Thrombozytenpräparate zu erkennen, wie sensiblere Kulturmethode und/oder die Messung des aeroben Metabolismus in den Konserven (TORMEY et al. 2009). Bei Vollblut wäre eine wirksame Maßnahme zur Verminderung der bakteriellen Kontamination das Verwerfen der ersten 10ml der Spende (DE KORTE et al. 2002).

Die febrile Reaktion erklärt sich nicht allein durch die Reaktion des Empfängerimmunsystems auf die Erreger, es werden zum Beispiel durch Yersinien in kontaminierten Erythrozytenpräparaten auch proinflammatorische Zytokine aus den Leukozyten frei, die mit

der Konserve verabreicht werden und möglicherweise mit anderen Zytokinen pyrogen wirken (STACK et al. 1995).

Als Symptome beim Menschen kommen nach der Verabreichung kontaminierter Blutprodukte innerhalb von 30 Minuten nach Beginn der Transfusion Schüttelfrost, Gelenksteifigkeit und manchmal gastrointestinale Symptome vor (KRISHNAN und BRECHER 1995). Wenn die Transfusion nicht abgebrochen wird, treten weiterhin hohes Fieber, Blutdruckabfall, Hämoglobinurie, DIC, Nierenversagen und kongestives Herzversagen auf (WALKER 1993).

Die Hauptquelle der Erreger stellt einerseits die Kontamination der Außenseite des Sammelsystems und das durch das weiche Material evaporierte Wasser während des Herstellungsprozesses dar (HELTBERG et al. 1993; HÖGMAN et al. 1993). Andererseits ist die Haut des Spenders während der Punktion der Vene eine Erregerquelle, vor allem vernarbte Einstichstellen, die sich schlecht desinfizieren lassen. Das durch die Phlebotomie ausgestochene Hautareal mit Haarwurzeln und Drüsen gilt als hochkontaminiert (BLAJCHMAN et al. 1994). Hautkommensalen wie *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* und *Bacillus cereus* dominieren vor allem in Thrombozytenpräparaten (GOLDMAN und BLAJCHMAN 1991; BLAJCHMAN et al. 1994). Allerdings gibt der Nachweis bei septischen Patienten mittels einer Blutkultur keine Aussage über die Herkunft der Keime, zum Beispiel kann der Eintritt über einen zentralvenösen Katheter dabei nicht ausgeschlossen werden (WILLIAMSON 2000). Andererseits treten auch häufig psychrophile Keime auf wie z.B. *Yersinia enterocolitica*, die in kühl gelagerten Erythrozytenkonzentraten vermehrungsfähig bleiben, auch *Pseudomonas* und *Enterobacter spp.* kommen vor (RAMSEY 1994; SAZAMA 1994; WILLIAMSON et al. 1999).

Obwohl eine minimale auslösende Dosis nicht bekannt ist, ist ab einer Keimkonzentration von 10^8 koloniebildenden Einheiten (KBE)/ml mit fatalen Reaktionen zu rechnen (KRISHNAN und BRECHER 1995).

Visuell lassen sich mit Yersinien kontaminierte Präparate ab einer Konzentration von 10^8 KBE/ml durch Verfärbung erkennen (KIM et al. 1992), durch Gramfärbung kann eine Konzentration von etwa 10^5 - 10^6 KBE/ml entdeckt werden, moderne Detektionssysteme finden schon 10 KBE/ml (YOMTOVIAN et al. 1993).

Plasmapräparate führen wegen ihrer Gefrierlagerung nur selten zu bakterieller Sepsis, beschrieben sind Kontaminationen mit *Pseudomonas spp.* während des Auftauens im Wasserbad, wenn der Port mit dem Wasser in Kontakt kommt (WAGNER et al. 1994).

Zu den Faktoren, die über das Outcome des Patienten entscheiden, dem eine kontaminierte Blutkonserve verabreicht wurde, gehören die Virulenz des Erregers, der Immunstatus und der Allgemeinzustand des Patienten, die Konzentration der transfundierten Bakterien, die Intensität der Patientenüberwachung und Medikamente, die der Patient bekommt, z.B. Antibiotika (KRISHNAN und BRECHER 1995).

Auch beim Hund stellen bakteriell kontaminierte Konserven ein großes Risiko dar. Viele Autoren empfehlen die Gram-Färbungen und kulturelle Anzucht bei verdächtigen Blutprodukten, z.B. bei Vorhandensein einer Dunkelfärbung, Luftblasen oder festen Bestandteilen wie Blutkoagula (PICHLER und TURNWALD 1985; TURNWALD und PICHLER 1985). In der aktuellen Veröffentlichung einer experimentellen Studie wird das Achten auf Farbveränderungen, mikroskopische Kontrolle der bakteriellen Besiedlung und Testung auf 16sRNA bei allen Ec-Konzentraten empfohlen, zudem die aseptische Gewinnung, temperaturkontrollierte Lagerung und regelmäßige visuelle Kontrolle (KESSLER et al. 2010).

2.2.2.4. Koagulopathie

In der Humanmedizin tritt eine erhöhte Blutungsneigung entweder im Zusammenhang mit einer DIC als Folge einer Unverträglichkeitsreaktion auf oder durch die Gabe gelagerter Blutprodukte, in denen Thrombozyten und/oder Gerinnungsfaktoren bereits abgebaut wurden (BEUTLER 2005).

Werden Hunden gelagerte Blutprodukte, die wenig Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten enthalten, transfundiert, kann auch hier eine Verdünnungskoagulopathie entstehen (BRECHER und TASWELL 1991).

Durch Rekalzifizierung des Antikoagulans durch Verdünnung mit kalziumhaltigen Infusionslösungen besteht das Risiko, dass das Blutprodukt gerinnt, weshalb lediglich mit NaCl-Lösung verdünnt werden sollte (TURNWALD und PICHLER 1985).

2.2.2.5. Hypotension

Obwohl Hypotension meist eine Folge von verschiedenen Transfusionskomplikationen wie hämolytischen und allergischen Reaktionen, Septikämien und der transfusionsassoziierten Acute Lung Injury (TRALI) ist, wird sie als eigenständige Transfusionsreaktion betrachtet (HUME et al. 1996). Seit The American Association of Blood Banks 1993 erste Berichte erhielt, beschäftigt sich das Transfusion Practices Committee mit den möglichen Ursachen. In dem Report wurden 24 gemeldete Fälle untersucht, von denen 17 keiner bekannten Reaktion zugeordnet werden konnten und primär durch das Vorkommen eines plötzlichen

Blutdruckabfalls während einer Thrombozytentransfusion bestimmt war (HUME et al. 1996). Die Reaktion trat überwiegend innerhalb der ersten Stunde nach Transfusionsbeginn ein (88%), ging mit Dyspnoe (82%) und z. T. mit Fieber einher und verschwand schnell nach Aussetzen der Transfusion (82%). 88% der verabreichten Blutkomponenten waren durch Filtration leukozytenreduziert.

Ob die Reaktion auf das Vorhandensein von Zytokinen, auf allergene Komponenten, das Filtermaterial, eine durch Antibiotikatherapie abgeschwächte Reaktion auf kontaminierte Konserven oder die überwiegend maligne Grunderkrankung zurückzuführen war, konnte bisher nicht geklärt werden (SREELAKSHIMI und ELDRIDGE 2009).

Beim Hund ist Hypotension nicht als eigenständige Transfusionsreaktion beschrieben.

2.2.2.6. Zitratintoxikation

Das Zitrat aus dem Antikoagulans bindet Kalzium und führt so zu einer Hypokalzämie des Empfängers von Blutprodukten, wenn zu schnell große Mengen transfundiert werden. Beim Menschen muss einem Erwachsenen mehr als 1 Liter innerhalb von 10 Minuten transfundiert werden, um EKG-Veränderungen bedingt durch eine Abnahme des ionisierten Kalziums auszulösen (BEUTLER 2005).

Da in der Veterinärmedizin Massentransfusionen selten sind und Zitrat in der Leber metabolisiert wird, sind hier Patienten mit Leberfunktionsstörung besonders gefährdet (HOHENHAUS 2006). Die Zitratkonzentration in Vollblut, frisch gefrorenem Plasma und thrombozytenreichem Plasma ist besonders hoch (COTTER 1988). Durch die Zitratbindung kann außer der Hypokalzämie auch eine Hypomagnesämie entstehen (SNYDER und STACK 1991). Klinische Anzeichen einer Hypokalzämie stellen bei Mensch und Hund Unruhe, Tremor, Hypotension, ventrikuläre Arrhythmien, Erbrechen und Krämpfe dar (TURNWALD und PICHLER 1985; COTTER 1988; COTTER 1991; SNYDER und STACK 1991).

2.2.2.7. Hyperammonämie

In gelagerten Blutprodukten steigt der Ammoniakgehalt proportional mit der Lagerungsdauer, so dass die Verabreichung überlagerter Konserven bei Mensch und Hund eine Hyperammonämie verursachen kann (COTTER 1991; SNYDER und STACK 1991). Da Ammoniak in der Leber verstoffwechselt wird, sind Patienten mit einer gestörten Leberfunktion besonders gefährdet (AUTHEMENT 1991) und sollten nach Möglichkeit nur frische oder kurz gelagerte Erythrozytenpräparate erhalten (TURNWALD und PICHLER 1985).

Klinische Anzeichen einer Hyperammonämie stellen beim Hund Ataxie, Anpressen des Kopfes, Zwangsbewegungen, Krämpfe und andere zentralnervöse Symptome dar.

2.2.2.8. Hyperkaliämie

Aus Erythrozyten wird während der Lagerung Kalium freigesetzt. Bei Menschen kann die schnelle Verabreichung mehrerer Ec-Konserven (>60ml/h) zu einer Hyperkaliämie führen, vor allem, wenn der Patient an einem Nierenversagen leidet (BUNDESÄRZTEKAMMER 2008; HENDRICKSON und HILLYER 2009).

Bei Hunden ist die Gefahr einer transfusionsbedingten Hyperkaliämie gering, da die caninen Erythrozyten im Vergleich zu den humanen einen geringeren Kaliumgehalt aufweisen. Eine Ausnahme stellen Akita und Shiba Inu, Shar Pei sowie Chow Chow und deren Mischlinge dar, bei denen häufig neben einer (Pseudo)Hyperkaliämie auch eine Mikrozytose auftritt (DEGEN 1987; GOOKIN et al. 1998; ABRAMS-OGG 2000; BATTISON 2007). Daher sind diese Rassen als Spender nicht ideal.

2.2.2.9. Hypothermie

Diese Komplikation ist in der Humanmedizin kaum beschrieben, obwohl eine Erwärmung bei Verabreichung normaler Volumina (<3l) mit normaler Geschwindigkeit (<100ml/min) nicht erforderlich ist, bei Massentransfusionen werden Infusionswärmer verwendet (BEUTLER 2005; HENDRICKSON und HILLYER 2009). Allerdings kann die Körpertemperatur bei schneller Substitution von 50% des Blutvolumens auf lebensbedrohliche 32-34°C abfallen (BUNDESÄRZTEKAMMER 2008).

Bei jungen, schwerkranken, anästhesierten oder kleinen Tieren kann die Verabreichung von kalten Blutprodukten zu einer Hypothermie führen (BRECHER und TASWELL 1991; KRISTENSEN 1996). Dadurch ist der Ablauf des Zitratmetabolismus gestört, es kommt zu einer Linkerschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve und somit zu einer verringerten Abgabe von Sauerstoff an das Gewebe sowie zu einer gestörten Thrombozytenfunktion (POHLMAN und CARRICO 1992). Eine schwere Hypothermie kann bei schwerkranken Patienten zu Arrhythmien und zum plötzlichen Tod führen (SNYDER und STACK 1991), was durch vorsichtiges Erwärmen der Blutprodukte vor der Verabreichung verhindert werden kann.

2.2.2.10. Luftembolie

Die Gefahr einer Luftembolie besteht bei der Transfusion großer Mengen Luft. In der Humanmedizin ist das Vorkommen durch die modernen Transfusionsbestecke sehr selten.

Der betroffene Patient hat Schmerzen, Husten und plötzlich einsetzende Dyspnoe (BEUTLER 2005).

Auch in der Veterinärmedizin ist bei der Verwendung geschlossener Systeme das Risiko gering (TURNWALD und PICHLER 1985; HARRELL und KRISTENSEN 1995).

2.2.2.11. Pulmonäre Mikroembolie

Bei länger als 7 Tage gelagerten Konserven von Mensch und Hund bilden sich Mikroaggregate aus Thrombozyten, Fibrin und Leukozyten, die zu klein sind, um von Standardfiltern erfasst zu werden (BEUTLER 2005). Dass diese Aggregate jedoch tatsächlich pulmonäre Mikroembolien mit klinischer Bedeutung verursachen können, ist sowohl in der Humanmedizin (CONNELL und SWANK 1973; BARRETT et al. 1975a; BARRETT et al. 1975b) als auch in der Veterinärmedizin unwahrscheinlich (COTTER 1991; HARRELL et al. 1997).

2.2.2.12. Azidose

Der Glukosemetabolismus in den gelagerten Erythrozytenprodukten lässt Laktat und Pyruvat entstehen und bedingt somit einen Abfall des pH-Wertes. Bei Mensch und Hund könnte durch die Verabreichung von Ec-Konzentraten eine Azidose entstehen (WARDROP et al. 1994). Patienten mit normaler Leberfunktion können diese Stoffwechselprodukte schnell zu Bikarbonat metabolisieren. Liegt jedoch eine Leberfunktionsstörung vor, besteht bei Verabreichung größerer Transfusionsmengen die Gefahr einer metabolischen Azidose (COTTER 1991).

2.3. Verzögerte Reaktionen

2.3.1. Verzögerte immunbedingte Reaktionen

2.3.1.1. Verzögerte hämolytische Reaktion

Eine verzögerte hämolytische Reaktion tritt erst 3 Tage bis 3 Wochen nach Transfusion in Erscheinung. Sie stellt eine Reaktion auf Antigene von Spenderzellen dar, wenn der Empfänger durch frühere Transfusionen oder Schwangerschaften sensibilisiert wurde. Die Antikörper sind soweit dezimiert, dass im Kreuztest keine Inkompatibilität ersichtlich wird. Sie entstehen jedoch durch den Memory-Effekt und führen nach 3 bis 21 Tagen zur Zerstörung der transfundierten Erythrozyten. Die Antikörper richten sich beim Menschen meist gegen Erythrozytenantigene des Rh- oder Kidd-Systems (HENDRICKSON und HILLYER 2009). Klinisch tritt nicht der gewünschte Hämatokritanstieg ein, der Patient zeigt Schwäche und Übelkeit, manchmal tritt auch Fieber auf. Die Symptome sind jedoch meist mild,

Todesfälle kommen nicht vor (BEUTLER 2005). In der Humanmedizin werden in Abhängigkeit von den beteiligten IgG-Antikörpern hämolytische oder serologische, also klinisch inapparente Transfusionsreaktionen unterschieden. Eine hämolytische Reaktion tritt nach Inkompatibilitäten unter komplementbindenden Jk- und Fy-Antikörpern auf, während serologische Reaktionen auf Rh- und andere nicht-komplementbindende Antikörper zurückgeführt werden können (VAMVAKAS et al. 1995). Da es sich bei den beteiligten Antikörpern vor allem um solche der Klasse IgG handelt, findet die Hämolyse in erster Linie extravaskulär statt (TIZARD 2006a).

Auch bei Hunden tritt die verzögerte Hämolyse nach 3 bis 21 Tagen in Erscheinung (PICHLER und TURNWALD 1985; OAKLEY und SHAFFRAN 1987). Experimentell konnte dieser Effekt bei DEA 1.1-negativen Hunden ausgelöst werden, die DEA 1.1-positives Blut erhielten (YOUNG et al. 1949; YOUNG et al. 1952), klinisch ist das Vorkommen jedoch unzureichend dokumentiert (HOHENHAUS 2000). Klinische Hinweise wären ein plötzlicher Hämatokritabfall, Hyperbilirubinämie und -urie (AUTHEMENT et al. 1987), sowie ein positiver Coombs'-Test (COTTER 1988). Weiterhin kann es zu Anorexie und Ikterus kommen (TURNWALD und PICHLER 1985).

2.3.1.2. Transfusionsbedingte Purpura

Transfusionsbedingte Purpura durch Thrombozytopenien kommen mit weniger als 300 bekannten Fällen bei Menschen relativ selten vor (LAU et al. 1980; HENDRICKSON und HILLYER 2009). Sie treten 5 bis 12 Tage nach der Transfusion auf und wurden nach der Verabreichung von Vollblut, Erythrozytenkonzentrat und Plasma festgestellt (SHULMAN und REID 1994). Die Aggregation und Zerstörung der transfundierten und körpereigenen Thrombozyten erfolgt durch Thrombozytenantikörper, wobei HLA der Klasse I die häufigsten antithrombozytären Antikörper multitransfundierter Patienten darstellen (BRANDT et al. 1996a). Fast ausschließlich sind Frauen im mittleren oder höheren Lebensalter betroffen, die eine Schwangerschaft oder Transfusion in ihrer Anamnese aufweisen (BUNDESÄRZTEKAMMER 2008). Die Thrombozytopenie kann bis zu 2 Monate bestehen bleiben, ist jedoch nur selten mit klinischen Symptomen wie Petechien, skleralen Blutungen oder Hämaturie verbunden (SHULMAN und REID 1994). Die Entstehung von Thrombosen aufgrund der forcierten Thrombozytenaggregation kommt selten vor oder kann selten mit der Verabreichung von Blutprodukten in Verbindung gebracht werden (BRANDT et al. 1996a).

In der Veterinärmedizin ist bisher nur ein Fallbericht veröffentlicht worden von einem Hund mit Hämophilie (WARDROP et al. 1997a).

2.3.1.3. Neonatale Isoerythrolyse

Schwangere Frauen mit placentaren Abnormalitäten bilden die Risikogruppe der Schwangeren, die am häufigsten auf eine Bluttransfusion angewiesen ist (WIDMAN 1993). Während für die Frau die Gefahr einer hämolytischen Transfusionsreaktion besteht, kann der Fetus anschließend eine neonatale Isoerythrozytolyse entwickeln. Diese Komplikation ist auch bei Hundewelpen beschrieben (PARADIS 1991). Wenn DEA 1.1-positive Erythrozyten einer DEA 1.1-negativen Hündin transfundiert werden, bildet diese Antikörper gegen DEA 1.1. Wird die Hündin trächtig, können diese Antikörper in hohen Konzentrationen in das Kolostrum gelangen und über mehrere Wochen persistieren. Durch die Aufnahme des Kolostrums in den ersten 24 Stunden nach der Geburt durch die DEA 1.1-negativen Welpen tritt bei diesen 3 bis 10 Tage später eine hämolytische Anämie auf. Die betroffenen Welpen zeigen Schwäche, eine geringe Gewichtszunahme, Anämie, Ikterus und Hämoglobinurie, in schweren Fällen sterben sie innerhalb der ersten 2 bis 3 Lebenstage (YOUNG et al. 1951; HARRELL et al. 1997). Im Gegensatz zum Menschen scheint beim Hund keine placentare Passage von Antikörpern möglich zu sein, so dass eine Immunisierung der Hündin gegenüber den Erythrozyten der Welpen während der Trächtigkeit nicht stattfinden kann (YOUNG et al. 1952; BLAIS et al. 2009).

2.3.1.4. Immunsuppression

Viele humanmedizinische Studien zeigen eine kurzzeitige oder längerfristige Immunsuppression, die sich bei Empfängern einer Bluttransfusion einstellt (GEORGE und MORELLO 1986; BLUMBERG und HEAL 1989; BLUMBERG und HEAL 1990; BRUNSON und ALEXANDER 1990; VAN TWUYVER et al. 1991), wobei dieser Effekt meist auf die Anwesenheit von Leukozyten (GASCON et al. 1984; BORDIN et al. 1994b; DZIK 1994b; NUSBACHER 1994), aber auch auf Erythrozyten (KEOWN und DESCAMPS 1979; HOUBIERS et al. 1997) und Plasma (MARSH et al. 1990) zurückgeführt wurde. In einer Studie konnte der immunsuppressive Effekt über 30 Tage nachgewiesen werden, wenn während einer Operation die Transfusion von Vollblut erfolgte (JENSEN et al. 1992), andere Autoren sprechen von Jahren oder sogar Jahrzehnten (TARTTER et al. 1989).

In einer Studie zeigten Patienten, die durchschnittlich 14 Jahre vor ihrer Wirbelsäulenoperation eine allogene Bluttransfusion erhielten, eine Woche postoperativ einen deutlichen Abfall der B-Lymphozyten, der bei Patienten ohne Transfusionen in der Vergangenheit nicht vorkam (TRIULZI et al. 1992). Allerdings führt auch ein chirurgischer Eingriff alleine zu einer Immunsuppression über 6 bis 9 Tage (HAMMER et al. 1992).

In einem Mausmodell wurde die Auswirkung der Transfusion von Erythrozyten, Leukozyten und Plasma auf die bakterielle Translokation aus dem Darm, die Überlebensrate der translozierten Bakterien und die Mortalitätsrate durch Infektionen verglichen. Dabei zeigte sich, dass Leukozyten die Komponente in transfundiertem Blut darstellen, die für adverse Effekte auf die Abwehrkräfte des Empfängers gegen mikrobielle Translokation aus dem Darm mit einer entsprechend niedrigen Überlebensrate verantwortlich ist (GIANOTTI et al. 1993).

Eine andere Untersuchung zeigte bei Tumorpatienten, die leukozytenreduziertes Blut erhielten, eine Inzidenz postoperativer Infektionen von 2% verglichen mit 33% bei der Gruppe, der Vollblut verabreicht wurde (JENSEN et al. 1992). Donorleukozyten können bis zu 8 Wochen nach der Transfusion noch im Blut der Patienten nachgewiesen werden (VERVOORDELDONK et al. 1998).

Ein positiver Aspekt der Immunsuppression ist die dadurch bedingte längere Überlebenszeit von Nierentransplantaten bei Mensch (OPELZ et al. 1973; PERSIJN et al. 1979; OPELZ et al. 1997) und Hund (VAN DER LINDEN et al. 1982; FINCO et al. 1985; CROWELL et al. 1987). Auch Patienten, die an IBD (Inflammatory Bowel Disease) leiden, könnten durch die transfusionsassoziierte Immunsuppression profitieren (PETERS et al. 1989; WILLIAMS und HUGHES 1989), ebenso Frauen, die wiederholt eine spontane Fehlgeburt durchlebten (TAYLOR et al. 1985). Die Konserve darf allerdings nicht älter als 72 Stunden sein, wenn es zur Immunsuppression kommen soll (BRAND 1994b). Als negativer Effekt der Immunsuppression tritt eine höhere Rate an postoperativen (Wund-)Infektionen nach abdominalen, kardialen oder orthopädischen Eingriffen auf (MIHOLIC et al. 1985; TARTTER 1988; BRUNSON und ALEXANDER 1990; MURPHY et al. 1991; BRAGA et al. 1992; FERNANDEZ et al. 1992b; JENSEN et al. 1992; MEZROW et al. 1992; TRIULZI et al. 1992; HOUBIERS et al. 1994a; VAMVAKAS und MOORE 1994; BORDIN und BLAJCHMAN 1995; VIGNALI et al. 1996; HOUBIERS et al. 1997; EDNA und BJERKESET 1998a; CARSON et al. 1999; MYNSTER und NIELSEN 2000). Auch die schnellere Entstehung von Tumorrezidiven nach der Verabreichung von nicht-leukozytendepletierten Blutprodukten (TARTTER et al. 1986; BURROWS et al. 1987; FRANCIS 1991; MODIN et al. 1992; NESS et al. 1992; CHUNG et al. 1993; LEITE et al. 1993; BLUMBERG und HEAL 1994; BORDIN und BLAJCHMAN 1995; VAMVAKAS 1995) sowie eine erhöhte postoperative Morbiditätsrate wurden beschrieben (BRAGA et al. 1992; JAHNSON und ANDERSSON 1992; TANG et al. 1993; WHEATLEY und VEITCH 1997; FRANSEN et al. 1999). Es wurden insbesondere Patienten mit kolorektalen Tumoren untersucht, eine Gruppe, die besonders häufig Transfusionen erhält (HALLISSEY et al. 1992; JENSEN et al. 1992) und oft

postoperative Infektionen entwickelt (JENSEN et al. 1992; HOUBIERS et al. 1994a). Auch nach Trauma (EDNA und BJERKESET 1992; AGARWAL et al. 1993) oder Verbrennung (GRAVES et al. 1989; NIELSEN et al. 1997b) verabreichte Transfusionen führen zu einer erhöhten Rate an bakteriellen Infektionen. Bei der Untersuchung von Patienten mit Magenkarzinomen zeigte sich eine Dosisabhängigkeit zwischen den verabreichten Blutkonserven und dem Auftreten postoperativer Infektionen (PINTO et al. 1991). In einem Review der 1995 im Massachusetts General Hospital durchgeführten Bypass-Operationen zeigte sich ein um 5% erhöhtes Risiko einer postoperativen Pneumonie je erhaltener nicht-leukozytenreduzierter Erythrozyten- oder Thrombozytenkonserve (VAMVAKAS und CARVEN 1999).

Die dafür wahrscheinlich mitverantwortliche Immunsuppression zeigt sich in einem verringerten CD4:CD8-Verhältnis, einer verringerten Lymphozytenproliferation, Makrophagenaktivität und Antigenpräsentation und einer gesteigerten Freisetzung von Prostaglandinen, Thromboxanen, Prostacyclin, IL-2, sIL-2R (soluble interleukin 2 receptor) und IL-6 (GASCON et al. 1984; KAPLAN et al. 1984; NIELSEN et al. 1989; FERNANDEZ et al. 1992a; GAFTER et al. 1992; JENSEN et al. 1992; BORDIN und BLAJCHMAN 1995; JENSEN et al. 1996).

Andere bioaktive Substanzen, die in diesem Zusammenhang untersucht wurden, sind unter anderem Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) (MUYLLE et al. 1993; STACK und SNYDER 1994; AYE et al. 1995; FLEGEL et al. 1995), Histamin (FREWIN et al. 1984; NIELSEN et al. 1996a; NIELSEN et al. 1997a; EDVARDSSEN et al. 1998; MUYLLE et al. 1998; EDVARDSSEN et al. 2001), Serotonin (EDVARDSSEN et al. 1996), Myeloperoxidase (MPO) (NIELSEN et al. 1996a; HAMMER et al. 1997; NIELSEN et al. 1997a; NIELSEN et al. 1997b; EDVARDSSEN et al. 1998), Eosinophil Cationic Protein (ECP) (NIELSEN et al. 1996a; HAMMER et al. 1997; NIELSEN et al. 1997a; NIELSEN et al. 1997b), Eosinophil Protein X (EPX) (NIELSEN et al. 1996a; NIELSEN et al. 1997a; NIELSEN et al. 1997b), Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) (NIELSEN et al. 1996a; HAMMER et al. 1997; EDVARDSSEN et al. 1998; NIELSEN et al. 1999; EDVARDSSEN et al. 2001), Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 (TIMP-1) (HOLTEN-ANDERSEN et al. 2002), YKL-40 (CINTIN et al. 2001), IL-1 (MUYLLE et al. 1993; STACK und SNYDER 1994; AYE et al. 1995; STACK et al. 1995) und IL-8 (STACK und SNYDER 1994; AYE et al. 1995; STACK et al. 1995).

Dass Histamin zu den beteiligten Zytokinen gehört, zeigt sich in der Reduktion der postoperativen Immunsuppression nach Vollblut-Transfusion durch die Gabe von Ranitidin, welches als H₂-Rezeptor-Antagonist die Histaminwirkung teilweise aufhebt (NIELSEN et al. 1989). Histamin ist unter anderem an der Regulation der Freisetzung angiogener Substanzen

beteiligt (GOSH et al. 2001). Eine Studie belegt, dass durch den Einsatz von Ranitidin als H₂-Rezeptor-Antagonist lediglich bei Patienten, die vor ihrer kurativen Tumor-Operation keine Bluttransfusion erhielten und postoperativ keine Infektionen zeigten, eine Verlängerung des Überlebensintervalls durch die Verabreichung erreicht werden konnte (NIELSEN et al. 2001). So vermuten die Autoren, dass die Ranitidin-Wirkung durch hohe Konzentrationen bioaktiver Substanzen abgeschwächt werden könnte.

Der Anstieg von IL-6 konnte während der Lagerung bei 21°C, sofern Leukozyten anwesend waren, nicht aber bei 4°C gezeigt werden (NIELSEN et al. 1996a). Auch PAI-1 und TNF- α akkumulierten, es wurde eine fortgesetzte Synthese während der Lagerung vermutet (MUYLLE et al. 1993; EDVARSEN et al. 1996). Da während des Präparationsprozesses Histamin- und MPO-Konzentrationen stiegen ohne eine weitere Erhöhung im Lagerungsverlauf, kann ein großer Anteil des Zytokinanstiegs auf die Zerstörung von Zellen zurückgeführt werden (EDVARSEN et al. 1998).

In einer Untersuchung erhielten Patienten, die aufgrund eines kolorektalen Tumors operiert wurden, entweder allogene oder autologe Transfusionen (HEISS et al. 1997). Als Indikatoren für ein supprimiertes Immunsystem dienten die Aktivitäten von natürlichen Killerzellen (NK) und von lymphokinaktivierten Killerzellen (LAK). In der Gruppe, der allogene Blutprodukte transfundiert wurden, verringerte sich die Aktivität von NK um ca. 50%, während die der LAK um 60,7% abnahm. Die Patienten, die autologe Transfusionen erhielten, zeigten einen nicht-signifikanten Abfall der NK-Aktivität um 33,7%, die Aktivität der LAK erhöhte sich sogar um 17,4%, so dass auch allogenen Transfusionen ein immunmodulatorischer Effekt zugeschrieben werden kann. Die NK-Aktivität korrelierte in Studien mit Tiermodellen mit der Tumorprogression (CLARKE et al. 1993; OKUNO 1994), ebenso in einer klinischen humanmedizinischen Studie (TARTTER et al. 1987). Ein möglicher Grund für die unterschiedlichen Killerzellaktivitäten könnte die gesteigerte Zytokinexpression der T₂-Helferzellen mit erhöhten IL-10- und IL-4-Werten durch allogene Blutprodukte und die Modulation der T₁-Helferzellen mit verminderten IL-10- und erhöhten IL-2-Plasmakonzentrationen nach autologen Transfusionen sein (KIRKLEY et al. 1995a; KIRKLEY et al. 1995b; VAMVACAS 2002).

Eine andere Studie wies eine frühe postoperative Lymphopenie bei orthopädischen Patienten nach der Verabreichung von 3 oder mehr Einheiten Erythrozytenkonzentrat nach, die bei nicht-transfunden Patienten und solchen, die vor der Lagerung gefilterte Konserven erhielten, nicht auftrat (BORDIN et al. 1999).

Eine andere Untersuchung zeigte dagegen eine Verringerung der Aktivität von natürlichen und lymphokinaktivierten Killerzellen durch orthopädische chirurgische Eingriffe ohne signifikante Unterschiede zwischen der Patientengruppe, die transfundiert wurde und der, die keine Blutkonserve erhielt (CORDINGLEY et al. 1994).

Im Tiermodell zeigten Mäuse, die Milzzellen zuvor transfundierter Mäuse erhielten, eine höhere Rate an pulmonären Metastasen als die Mäuse, denen Zellen von nicht-transfundierten Mäusen injiziert wurden. Entscheidend für die Tumorpromotion war dabei die Übertragung von T-Zellen, während von den B-Zellen lediglich eine unterstützende Wirkung auf die konditionierten T-Zellen ausging (BLAJCHMAN et al. 1993). In einem weiteren Experiment wurden konditionierte Milzzellen intraperitoneal in Diffusionskammern eingebracht, die lediglich die Freisetzung löslicher Substanzen wie Zytokine zuließ. Auch hier fand eine verstärkte Implantation von Mikrometastasen statt (BLAJCHMAN et al. 1993).

Für die Erklärung des Zusammenhangs zwischen Transfusion und Tumorrezidivrate auf immunologischer Ebene gibt es noch andere Ansätze. In einer Studie mit murinen endothelialen Zellkulturen führte der Zusatz von Lungenkarzinom-Zellen bei der Gruppe, der um den Erhalt einer Transfusion zu simulieren allogene Leukozyten zugesetzt wurde, zu einem höheren Grad an Tumoradhäsion an die Endothelzellen als bei der Gruppe, der keine Leukozyten zugesetzt worden waren (QUINGLEY 1996).

Andere Autoren sehen die Ursache in der schlechteren Ausgangsposition der Patienten, die aufgrund ihres Zustands eine Transfusion benötigen (VAMVAKAS 1995).

Eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung von postoperativen Komplikationen nach Transfusionen fällt dem Zeitpunkt der Verabreichung des Blutproduktes in Bezug auf den chirurgischen Eingriff zu (NIELSEN et al. 1991; HAMMER et al. 1992; LEITE et al. 1993; BENOY et al. 2006), wobei die präoperative im Gegensatz zu der intra- oder postoperativen Gabe keinen Einfluss zu haben scheint (JENSEN und KISSMEYER-NIELSEN 1996). Andere Autoren raten, wenn medizinisch vertretbar, zu der Verabreichung von Transfusionen erst ab dem 3. postoperativen Tag, wenn die operationsbedingte Immunsuppression überstanden ist (NIELSEN 1995).

Einige Reviews und Meta-Analysen beschäftigen sich mit der Prognose von Patienten mit kolorektalen Tumoren in Abhängigkeit von Bluttransfusionen, die überwiegend zeigen, dass ca. 2/3 der Studien, die sich mit dem Effekt von Transfusionen auf Patienten mit kolorektalen Tumoren beschäftigen, adverse Effekte in Bezug auf Überlebens- und Rezidivrate sowie postoperative Komplikationen nachweisen (BORDIN und BLAJCHMAN 1995; VAMVAKAS 1995; AMATO und PESCATORI 1998; MCALLISTER et al. 1998; WILLIAMSON 2000). Die

Zusammenfassung der analysierten Studien ergab eine deutliche Korrelation, vor allem wenn die Patienten mehr als eine (BLUMBERG et al. 1988; BEYNON et al. 1989; LEITE et al. 1993), mindestens 2 (BRAGA et al. 1992) (Untersuchung von Patienten mit gastrointestinalen Tumoren), mindestens 3 (WOBES et al. 1990; HOUBIERS et al. 1997; AMATO und PESCATORI 1998; EDNA und BJERKESET 1998a), mindestens 4 (JAHNSON und ANDERSSON 1992) bzw. 6 oder mehr (WOBES et al. 1989) Konserven erhielten. Eine Untersuchung bestätigte einen Zusammenhang zwischen postoperativen Infektionen und Bluttransfusionen mit einer signifikant höheren Rate ab 1 Konserve mit signifikanter Entwicklung bei steigender Anzahl der verabreichten Konserven (VIGNALI et al. 1996).

Bei Tumoren anderer Lokalisationen ließ sich ein das Tumorwachstum fördernder Effekt nach der Verabreichung von Blutprodukten nur bei etwa jeder zweiten Studie nachweisen (WILLIAMSON 2000).

Verschiedene Studien, die sich mit den Folgen von autologer versus allogener Transfusion (HEISS et al. 1992; NESS et al. 1992; BUSCH et al. 1993; HEISS et al. 1994a; BUSCH et al. 1995b) bzw. zwischen leukozytenarmen und leukozytenfreien Blutpräparaten (HOUBIERS et al. 1994a) befassen, kommen überwiegend zu dem Ergebnis, dass die Verabreichung einer Transfusion an sich (oder die Umstände, die zu dem Bedarf führen) (BUSCH et al. 1995b) zu einer schlechteren Prognose des Tumorpatienten führen unabhängig von der Art der Transfusion. Einer Studie, die der autologen Transfusionsgruppe eine geringere postoperative Infektionsrate zuschreibt (HEISS et al. 1993), wird entgegengesetzt, dass die Unterschiede zu der allogenen Gruppe nur marginal signifikant und wahrscheinlicher auf Unterschiede in Alter, Tumorstadium und Transfusionsdosis zurückzuführen waren (BUSCH et al. 1993; HOUBIERS et al. 1994b). Allerdings kommen auch andere Autoren zu dem Ergebnis, dass autologe Transfusionen weniger Infektionen bedingen, vergleichbar mit nicht-transfunden Patienten (MURPHY et al. 1991; FERNANDEZ et al. 1992b; MEZROW et al. 1992; TRIULZI et al. 1992). Bei dem Einsatz autologer Blutprodukte muss allerdings auch bedacht werden, dass Untersuchungen einen immunsuppressiven Effekt durch Entnahme der Eigenblutspende festgestellt haben, der bei Tumorpatienten ausgeprägter als bei gesunden Blutspendern ist und sich somit zusätzlich negativ auf das Outcome auswirken könnte (MARQUET et al. 1993).

Andere Autoren sehen die Durchführung von Bluttransfusionen bei anämischen Tumorpatienten als so risikoreich an, dass über Alternativen wie die Verabreichung von Erythropoetin auch bei nicht-myeloischen Tumoren nachgedacht wird, vor allem wenn der Patient durch Chemotherapie myelosupprimiert ist (MOHANDAS und ALEDORT 1995).

Heutzutage stehen Autoren den Erythropoese stimulierenden Faktoren nicht zuletzt wegen der hohen Kosten kritisch gegenüber (KLARENBACH et al. 2010).

Es wurde beobachtet, dass Patienten, die aufgrund von benignen Erkrankungen transfundiert wurden, ein erhöhtes Risiko aufwiesen, in den folgenden 3-9 Jahren eine maligne Erkrankung wie ein Non-Hodgkin Lymphom oder ein Nierenkarzinom zu entwickeln (BLOMBERG et al. 1993; CERHAN et al. 1993; BRANDT et al. 1996b; MYNSTER et al. 1998). Dies ist auch durch Immunsuppression anderer Genese wie durch eine HIV-Infektion (BERAL et al. 1991), eine Transplantation (KINLEN et al. 1983) oder unter immunsuppressiver Therapie (PENN 1986) beschrieben.

Durch Transfusion ausgelöste Immunsuppression wird heute im Rahmen der transfusionsassoziierten Immunmodulation gesehen, die neben suppressiven auch pro-inflammatorische Mechanismen umfasst (VAMVACAS und BLAJCHMAN 2007; MARIK 2009).

2.3.2. Verzögerte nicht immunbedingte Reaktionen

2.3.2.1. Übertragung von Infektionserregern beim Menschen

2.3.2.1.1. Viren

Das *Zytomegalievirus (CMV)* gehört zu der Gruppe der Herpesviren, kommt ubiquitär vor und ist für Menschen pathogen. Es stellt die am häufigsten auftretende transfusionsassoziierte Infektion in den USA dar (PREIKSAITIS 1991). Zwar verläuft die Infektion meist asymptomatisch, jedoch kommt es häufig zur Latenz mit einer Serumprävalenz von 30-80% in den USA (PREIKSAITIS 1991), und Schwangere, immunsupprimierte oder schwerkranke Personen und Neonaten können durchaus schwere Symptome wie Leukopenie, Pneumonie, Gastroenteritis, Hepatitis, Retinitis und gelegentlich Enzephalitis entwickeln, das Risiko der Transplantatabstoßung erhöht sich (MILLER und MINTZ 1995). CMV-assoziierte Pneumonien betreffen bis zu 20% der Empfänger von Knochenmarktransplantaten und nehmen bei nahezu 85% einen fatalen Verlauf (SAYERS 1994). Die Übertragung findet über Blut und Blutprodukte, Transplantationen, aber auch über die Plazenta, Muttermilch, Urin und andere Körperflüssigkeiten statt. Spendet ein positiv getesteter Spender Blut, liegt die Wahrscheinlichkeit bei etwa 10%, dass die Konserve infektiös ist (SMITH et al. 1993; SAYERS 1994). Ein seropositiver Empfänger unterliegt einer höheren Wahrscheinlichkeit, eine schwere Infektion zu entwickeln als ein seronegativer Patient (BOWDEN 1995). Besonders gefährdet sind Neonaten mit einem Gewicht unter 1250g seronegativer Mütter, die Morbiditätsrate liegt bei 38% (ADLER et al. 1983). Die Prävalenz reicht von 20% der Bevölkerung in wenig besiedelten Industriestaaten bis zu 100% in dicht bevölkerten

Entwicklungsländern (BOWDEN 1995). Weltweit werden Blutkonserven in vielen Kliniken auf die Präsenz von Antikörpern gegen CMV getestet, da diese Viren eine hohe Morbiditäts- und Mortalitätsrate bei Transfusionsempfängern nach sich ziehen können (SMITH et al. 1993). Doch auch seronegative Spender können Virusträger sein (LARSSON et al. 1998). In der Latenzphase kann sich der Erreger vermutlich in hämatopoetische Vorläuferzellen im Knochenmark zurückziehen. Reifen diese Zellen zu Makrophagen und Monozyten heran, besteht die Möglichkeit der Übertragung. Der Träger kann in der Latenzphase bleiben oder eine klinische Erkrankung entwickeln (ZHURAVSKAYA et al. 1997). Da das Virus leukozytenassoziiert vorkommt, findet die Übertragung vor allem über Erythrozyten- und weniger über Thrombozytenkonserven und nicht über Plasmapräparate statt (BOWDEN 1995). Andere zellassoziierte Viren wie das *humane Immundefizienzvirus (HIV)*, das *Epstein-Barr-Virus (EBV)* oder *die humanen T-Zell-lymphotrophen Viren I und II (HTLV I/II)*, welche zu den Retroviren zählen, werden seit der Einführung von Screeningtests kaum mehr durch Transfusionen übertragen (SANDLER et al. 1991; SNYDER und DODD 2001). Interessanterweise nimmt das Risiko der Retrovirusinfektion mit dem Alter der Blutprodukte ab, da die Viren lebende Leukozyten zu benötigen scheinen (KLEINMAN et al. 1993; DONEGAN et al. 1994; WILLIAMSON 2000).

Jedoch können latente Virusinfektionen wie mit HIV oder CMV bei Empfängern durch Transfusionen reaktiviert werden (BUSCH et al. 1992; KLEIN 1992; SLOAND et al. 1994). Findet eine Übertragung von *HIV1-Viren* durch Transfusion statt, kommt es schneller zu dem Ausbruch des Acquired Immundefizienzsyndroms (AIDS), als wenn die Infektion auf anderem Weg erfolgte, zudem sind die Inzidenz opportunistischer Infektionen und die Sterblichkeitsrate höher (GIESECKE et al. 1988; VAMVAKAS und KAPLAN 1993; SLOAND et al. 1994). Allerdings wird die Aussage, dass die Transfusion HIV-positiver Patienten eine Krankheitsprogression bewirkt, auch kritisch beurteilt, da die Erforderlichkeit einer Transfusion allein schon für das Vorliegen einer schwereren Erkrankung spricht (BALFOUR 1993).

Retroviren steht als einziger Virusgruppe eine reverse Transkriptase zur Verfügung, die sie in die Lage versetzt, DNA nach ihrer RNA-Vorlage zu synthetisieren, die dann in das Genom des Wirtes eingebaut werden kann. Seit 1980 werden 3 Kategorien von Retroviren unterschieden: das zu den Oncornaviren gehörige HTLV, das durch seine Eigenschaft charakterisiert wird, zelluläre Transformation, insbesondere Leukämie und Lymphome, auslösen zu können, Lentiviren inklusive die AIDS-auslösenden HI-Virus-1 und -2 und drittens das *humane Foamy Virus*, dessen klinische Bedeutung und Übertragbarkeit über

Transfusionen im Gegensatz zu den beiden erstgenannten Kategorien ungeklärt ist (WILLIAMS und SULLIVAN 1995).

Die Prävalenz transfusionsassoziierter HIV-Übertragungen und AIDS-Erkrankungen ist ab 1983 durch Aussonderung von Spendern, die einer der Gruppen mit erhöhtem HIV-Risiko wie die Konsumenten injizierbarer Drogen, homo- oder bisexuelle Männer oder Personen mit häufig wechselnden Sexualpartnern angehören, stark zurückgegangen. Nach Einführung von Antikörper-Screeningtests 1985 nahm die Anzahl in den Industriestaaten weiter ab, seit 1986 besteht für Spender in einigen Blutspendezentren weiterhin die Möglichkeit, ihre abgegebene Spende durch eine Markierung auf dem vor der Spende ausgeteilten Formular von der Anwendung auszuschließen. Seit 1992 wird ein kombinierter Antikörpertest verwendet, der Antikörper sowohl gegen HIV-1 als auch gegen HIV-2 detektiert, obwohl HIV-2 im Gegensatz zu HIV-1 eine sehr niedrige Prävalenz hat, zu weniger virusassoziierten Erkrankungen führt und lediglich im westlichen Afrika endemisch ist (WILLIAMS und SULLIVAN 1995). Die transfusionsassoziierte Übertragung von HIV-1 ist durch diese Maßnahmen selten geworden und liegt bei etwa 1 von 60 000 bis 1 von 250 000 transfundierten Einheiten (DONAHUE et al. 1991; DODD 1992; NELSON et al. 1992).

Seit Screeningtests zur Verfügung stehen, wurde versucht, rückblickend die Spender und Empfänger HIV-infizierter Blutprodukte zu ermitteln (GILL et al. 1997), gleiches fand in Bezug auf HTLV-Infektionen statt (KLEINMAN et al. 1993).

Das Vorkommen von *HTLV-Viren* und ihre Übertragung durch Blutprodukte wurden zunächst in Japan und in der Karibik beobachtet. Seit 1988 werden Blutpräparate mittels eines indirekten Immunfluoreszenzassays (EIA) auf das Vorhandensein von HTLV-I getestet (WILLIAMS und SULLIVAN 1995). Zu HTLV-II besteht nur ein gewisser Grad an Kreuzreaktivität (KLEINMAN et al. 1993), so dass heute die zusätzliche Anwendung von Antikörperscreeningtests auf Antikörper gegen beide Viren erfolgt (WILLIAMS und SULLIVAN 1995). HTLV-I wird neben Transfusionen auch über infizierte Nadeln und Spritzen sowie sexuelle Kontakte übertragen und kann zu adulter T-Zell-Leukämie (ATL) und HTLV-I-assoziiierter Myelopathie/Tropischer Spastischer Paraparese (HAM/TAP), einer chronischen neurodegenerativen Erkrankung, führen. Die Transmission von HTLV-II verläuft ähnlich, jedoch sind die Vorgänge nicht im Einzelnen bekannt. Auch das Hervorrufen von neoplastischen und neurologischen Erkrankungen infizierter Patienten kann im Moment nur vermutet werden (WILLIAMS und SULLIVAN 1995).

Das Risiko der Übertragung von HTLV-I(-II) durch Transfusionen liegt gegenwärtig bei weniger als 1 zu 50 000, von den Empfängern, die serokonvertieren, erfahren nur wenige

klinische Konsequenzen (DODD 1992). Die Virustransmission von seropositiven Spendern lag in einer Studie bei 30%, allerdings handelt es sich um einen Rückblick, die Spender hatten in den Jahren 1983-1989 Blut gespendet, doch der Infektionstyp stimmte bei jedem Spender-Empfänger-Paar überein (KLEINMAN et al. 1993).

Eine andere Untersuchung zeigte eine Übertragungsrate der HTL-Viren von 27% bei zellulären Blutprodukten im Vergleich zu 89% bei zellulären und azellulären Blutprodukten das HI-Virus betreffend (DONEGAN et al. 1994).

Das HI-Virus, aber auch andere Viren wie die Verursacher von *Hepatitis B (HBV)* und *C (HCV)* und das *humane Herpesvirus 6* kommen nicht nur zellassoziert sondern ebenso im Plasma vor (LANE et al. 1992).

Hepatitis stellt die erste virale Erkrankung dar, deren Übertragung durch Transfusion erkannt wurde. In den 1950er Jahren erfolgte die Unterscheidung in Hepatitis A als klassische infektiöse Form und Hepatitis B als parenteral übertragbare Form. 1975 wurde eine weitere Form bei Empfängern von Blutprodukten unterschieden, die zunächst die Bezeichnung non-A, non-B-Hepatitis erhielt, bis 1989 das *Hepatitis C-Virus* als das wichtigste auslösende Agens entdeckt wurde. Inzwischen werden viele weitere Hepatitisviren unterschieden, und man weiß, dass das HBV zu den Hepadnaviren gehört und dass auch das zu den Picornaviren gehörige Virus der Hepatitis A durch Transfusion übertragen werden könnte (DODD 1995).

Die Übertragung findet überwiegend über Blut oder andere Körperflüssigkeiten auf verletzter Haut oder intakter Schleimhaut statt, eine Impfung ist möglich. In den USA und Deutschland wird eine Rate von HBV-kontaminierten Blutprodukten von 2,05-4,88/1 Million Spenden angenommen, während sie in Hong Kong bei bis zu 200/1 Million Spenden liegt. Die Prävalenz variiert stark in verschiedenen demographischen Gruppen (CANDOTTI und ALLAIN 2009). Bei der Übertragung von der infizierten Mutter auf das Kind während der Geburt bleibt das Kind oft lebenslang Carrier und der Zyklus setzt sich von Generation zu Generation fort (DODD 1995). Eine frühe Infektion bei Neonaten oder in früher Kindheit nimmt oft einen chronischen Verlauf. Das Antigen bleibt in der Zirkulation, ein Antikörpernachweis gelingt nicht, da diese mit dem Antigen Komplexe bilden. Bei einer akuten Infektion wie sie meist bei Erwachsenen eintritt ist zunächst das Antigen nachweisbar, später können nur noch die Antikörper bestimmt werden. Beide Infektionsformen können asymptomatisch bis fatal verlaufen, aus der chronischen Form kann ein primäres hepatozelluläres Karzinom entstehen (DODD 1995; CANDOTTI und ALLAIN 2009).

Durch Screeningtests auf Antigen und Antikörper, die Anamneseerhebung in Hinblick auf Hepatitis auch im Umfeld, neue Piercings und Tattoos, Drogenkonsum und dadurch, dass in

den USA keine Gefängnisinsassen und bezahlte Spender mehr spenden, meldet das amerikanische Rote Kreuz weniger als 100 Fälle von transfusionsassoziiertes Hepatitis B von jährlich etwa 2 Millionen Empfängern von Blutkonserven (DODD 1995).

Die Übertragung des *Hepatitis C-Virus* erfolgt ebenfalls parenteral, jedoch weniger über sexuellen Kontakt als über Spritzbesteck von Drogenkonsumenten. Die Gefahr, sich über eine infizierte Nadel anzustecken liegt jedoch im Vergleich zu 30% bei HBV hier nur bei 3%.

Hepatitis C verläuft meist mild mit der Gefahr eines späten Leberversagens und meist chronisch mit zirkulierenden Antikörpern und einer erhöhten Alaninaminotransferase (ALT). Durch die routinemäßige quantitative ALT-Bestimmung sank das Infektionsrisiko Mitte der 1980er Jahre von 0,45% auf 0,06% pro Konserve (DODD 1995), heute werden Antikörpertiter ermittelt, da eine erhöhte ALT häufig andere Ursachen hat und sich nicht in der frühen Infektionsphase zeigt (BUSCH et al. 1995a; CANDOTTI und ALLAIN 2009).

Die anderen *Hepatitisviren* wie das der *Hepatitis D, E* und *Non A, non B, non C* scheinen bei der transfusionsassoziierten Hepatitis so gut wie keine Rolle zu spielen (DODD 1995).

Lipidumhüllte Viren, zu denen *HIV, HBV, HCV* und *CMV* gehören, können durch die Behandlung von FFP mit der Solvens-Detergens(SD)-Methode oder der Photoinaktivierung mit Methylenblau oder anderen Zusätzen inaktiviert werden, wodurch das Übertragungsrisiko gegen null geht. Allerdings sind die Verfahren sehr kostenintensiv, und es kommt zur Inaktivierung von Gerinnungsfaktoren. Unbehüllte Viren wie das *Hepatitis A-* und das *Parvovirus* werden nicht erfasst (GÜRTLER und SCHRAMM 1993; WIEDING et al. 1993; LIN et al. 1994; TAKAHASHI et al. 1994; PEREIRA 1999). Zu den erst kürzlich entdeckten Viren gehören das *TT-Virus* (SIMMONDS et al. 1998) und das *SEN-Virus* (UMEMURA et al. 2001), die jedoch nur bei mit anderen Viren co-infizierten Menschen klinisch relevant werden.

Das einzige klinisch relevante humane Parvovirus ist das *Parvovirus B19*. Die Infektion verläuft bei gesunden Kindern und Erwachsenen meist mild, lediglich bei Schwangeren und schwerkranken Patienten kann sie lebensgefährlich werden. Die Übertragung durch Blutkomponenten ist nur in Einzelfällen beschrieben, meist erfolgt sie über Tröpfcheninfektion (LUBAN 1994; KLEINMAN et al. 2009).

In den USA ist die Transmission des *West Nile Virus*, dem Erreger des West Nile Fiebers, von Bedeutung (BIGGERSTAFF und PETERSON 2003).

Weiterhin steht das *humane Herpesvirus 8*, das an der Pathogenese von Kaposi Sarkomen beteiligt sein soll, in Verdacht, über Blutprodukte übertragen werden zu können. Der Vermutung liegt die Virusisolation aus mononukleären Zellen eines gesunden Blutspenders

zugrunde (BLACKBOURN et al. 1997). Bisher konnte jedoch lediglich die Übertragung via Organtransplantationen nachgewiesen werden (PARRAVICINI et al. 1997).

Viele weitere Viren sind möglicherweise über Blutprodukte übertragbar, so auch das *Dengue-Virus* oder das *Chikungunya-Virus* und andere über Vektoren übertragene Erreger. Bisher wurde kein Fall der Transmission durch Transfusion beschrieben, jedoch werden auch stetig neue Viren entdeckt (ALLAIN et al. 2009).

In den USA wird jeder Spender auf *HIV*, *HBV*, *HBC*, *Treponema* und *HTLV-I und -II* Antikörper, bei Spende für immunsupprimierte Empfänger auch auf *CMV* getestet (MCCULLOUGH 2005), außerdem auf Antikörper gegen das *West Nile Virus* (seit 2003) und *Trypanosoma cruzi* (seit 2007) (DODD 2009). In Deutschland wird jede Blutspende seit Mitte der 1990er Jahre mittels PCR auf *HIV*, *HBV* und *HCV* untersucht (Information DRK 2009).

2.3.2.1.2. Prionen, Protozoen, Bakterien

Neben Viren können auch *abnormale Prionen*, die im Gegensatz zu den Verursachern der klassischen Creutzfeldt-Jakob Erkrankung (CJD) in lymphatischen Zellen vorkommen, durch die Verabreichung von Blutprodukten auf den Empfänger übertragen werden (TURNER 1999). Diese Prionen stehen in Verdacht, die neue Variante der CJD auszulösen. In Großbritannien sind bisher 166 Patienten mit dieser Krankheit beschrieben worden, in dem Rest der Welt 39 Fälle vor allem in Frankreich, gefolgt von Irland (ALLAIN et al. 2009). Vier Patienten in Großbritannien haben sich mit dem Erreger durch Blutprodukte bisher infiziert (BROWN 2007; FÖLSCH und CASSENS 2009). Weitere Empfänger können sich zur Zeit in der Inkubationsphase befinden, da deren Länge nach wie vor nicht bekannt ist und vermutlich zwischen 5 und 25 Jahren liegt (COUSENS et al. 1997; BARCLAY et al. 1999). Zudem wurden normale zellgebundene Prionen, deren Konformationsänderung die Erkrankung ausmacht, auf Thrombozytenoberflächen und frei im Plasma nachgewiesen (PERINI et al. 1996; BARCLAY et al. 1999). Auch eine Studie mit einem Mausmodell sowie humanem Blut, welches mit lysierten Scrapie-infizierten Gehirnzellen von Hamstern versehen wurde, zeigt eine potentielle Gefahr der Ansteckung über zelluläre Blutkomponenten, Plasma und Plasmafraktionen (BROWN et al. 1998).

Außerdem ist die Übertragung von Protozoen wie *Babesia microti*, *Plasmodium falciforme*, dem Erreger der Malaria, und *Trypanosoma cruzi*, dem Erreger der Chagas Krankheit, beschrieben (SMITH et al. 1986; MINTZ et al. 1991; POPOVSKY 1991; DOBROSZYCKI et al. 1999; WILLIAMSON et al. 1999; MCQISTON et al. 2000; CANGELOSI et al. 2008; CASTRO 2009). Weiterhin ist die Transmission von *Leishmania tropica*, *Leishmania donovani* und

Toxoplasma gondii möglich (GERBER et al. 1994; ARGUIN et al. 1999; SNYDER und DODD 2001; LEIBY und GILL 2004).

Das bekannteste transmissible Bakterium ist *Treponema pallidum*, der Erreger der Syphilis, doch seit 1969 ist in den USA keine Übertragung durch Transfusion mehr beschrieben worden (SNYDER und DODD 2001). Ehrlichien wie *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia phagozytophila* und *Ehrlichia ewingii* sowie *Rickettsia rickettsii* als Erreger des Rocky Mountain Spotted Fever stellen mögliche übertragbare Erreger dar (WELLS et al. 1978; MCKECHNIE et al. 2000; SNYDER und DODD 2001), zu *Ehrlichia chaffeensis* gibt es einige Veröffentlichungen über die Transmission via Transplantation (SADIKOT et al. 1999; TAN et al. 2001; LIDDELL et al. 2002; SADFAR et al. 2002). Die Übertragung mittels Transfusion von *Anaplasma phagozytophilum* wurde in mehreren Fallberichten beschrieben (EASTLUND et al. 1999; WAXMAN 2009). Zu den über Blut transmissiblen Erregern nimmt in Deutschland der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit Stellung. So wird bestimmten Arbobakterien eine gewisse Gefährdung unter transfusionsspezifischen Aspekten zugestanden, ein routinemäßiges Screening deutscher Blutspender auf *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma marginatum*, *Bartonella henselae*, *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, *Coxiella burnetii*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Francisella tularensis*, *Rickettsia prowazekii*, *Rickettsia akari*, *Rickettsia rickettsii* und *Yersinia pestis* jedoch derzeit nicht empfohlen (BUNDESGESETZBLATT 2007).

In der Transfusionsmedizin spielen vor allem Bakterien wie *Yersinia enterocolitica* (MILLER und MINTZ 1995), *Serratia spp.*, *Pseudomonas spp.* und *Enterobacter spp.* als über Transfusionen übertragbare Erreger eine große Rolle, wobei deren Vorhandensein in Blutprodukten meist auf Kontamination und weniger auf eine Infektion des Spenders zurückzuführen ist (WILLIAMSON 2000). Um das Risiko der Übertragung einer transienten Bakteriämie zu minimieren, werden Spender umfangreich befragt, besonders in Bezug auf Infektionen in den letzten 4 Wochen, Zahnbehandlungen, gastrointestinale Endoskopien, Untersuchungen des Urogenitaltraktes und Stillzeit (HOPPE 1992; KRISHNAN und BRECHER 1995).

Auch Bakterien, die sich wie *Bartonella henselae*, bekannt als Erreger der Katzen-Kratz-Krankheit, in Erythrozyten asymptomatischer Träger aufhalten können, stellen eine mögliche Gefahr für Empfänger von zellhaltigen Blutpräparaten dar (MAGALHAES et al. 2008).

2.3.2.2. Übertragung von Infektionserregern beim Hund

2.3.2.2.1. Protozoen und andere Parasiten

Bei Hunden stellen Babesien die wichtigsten durch Transfusion übertragene Erreger dar, wobei *Babesia canis* und *Babesia gibsoni* weltweit vorkommen (JERANT und ARLINE 1993; BIRKENHEUER et al. 1999). Natürlicherweise findet die Übertragung über verschiedene Zeckenspezies wie *Dermacentor reticulatus* und *Rhipicephalus sanguineus* als Vektor statt, auch die perinatale Transmission oder die direkte Übertragung mittels mechanischer Vektoren ist möglich. Die durch Erythrozytendestruktion charakterisierte Erkrankung kann perakut (Hypothermie, Schock, Koma, DIC, Tod), akut (hämolytische Anämie, Ikterus, Splenomegalie, Lymphadenopathie, Vomitus), chronisch (intermittierende Fieberphasen, Anorexie, Konditionsverlust) oder subklinisch verlaufen. Greyhounds zeigen eine hohe Serumprävalenz von *B. canis* (BREITSCHWERDT et al. 1983), während American Pitbull Terrier und American Staffordshire Terrier mittels PCR besonders häufig positiv auf *B. gibsoni* getestet wurden (MACINTIRE et al. 2002). In Deutschland ist die Infektionsgefahr sowohl mit *B. canis* als auch mit *B. gibsoni* gegeben (HARTELT et al. 2007). Babesien können durch canine Blutprodukte übertragen werden und zu schweren Erkrankungen führen (FREEMAN et al. 1994; STEGEMANN et al. 2003).

Leishmanien werden durch Sandmücken der Gattungen *Phlebotomus* und *Lutzomyia* übertragen und kommen weltweit in warmen Gebieten vor. Empfänglich für die Infektion sind Menschen, Haustiere und verschiedene Wildtiere. Beim Hund ist *Leishmania infantum* das wichtigste Agens. Es befindet sich bei infizierten Hunden in den Makrophagen, die über Hautläsionen von Sandfliegen aufgenommen werden. Die Freisetzung und Replikation erfolgt im Gastrointestinaltrakt der Sandfliege. Durch Regurgitation während der Nahrungsaufnahme wird der nächste Wirt infiziert. Beim Menschen werden in Abhängigkeit von der Manifestation die kutane, die mukokutane und die viszerale Leishmaniose unterschieden, während bei der caninen Leishmaniose meist Haut und Organe involviert sind. Die Erkrankung beim Hund verläuft chronisch und immer systemisch, wobei die Symptome sehr variabel sind. Zu den Beschwerden gehören Hautläsionen mit Ulzerationen an Nase, Pinnae und mukokutanen Übergängen, Belastungsintoleranz, Gewichtsverlust, Polydipsie, Anorexie, Konjunktivitis, abnormes Krallenwachstum, Bewegungsstörungen, Vomitus, Diarrhoe, Polyphagie, Epistaxis, Rhinitis, Meläna oder okuläre Symptome. Durch eine immunkomplexbedingte Glomerulonephritis kann sich ein nephrotisches Syndrom entwickeln (TABOADA und LOBETTI 2006).

Die Transmission von *Leishmania infantum* über canine Blutprodukte wurde anhand natürlich infizierter z.T. asymptomatischer Hunde gezeigt (OWENS et al. 2001; DE FREITAS et al. 2006). Auch *Mikrofilarien* des Herzwurms können durch Transfusionen übertragen werden, jedoch besteht hierzulande keine Gefahr für den Empfänger, da Moskitos für die Entwicklung der adulten Form obligatorisch sind (HARRELL und KRISTENSEN 1995).

Trypanosoma cruzi, der Erreger der Chagas Krankheit kann beim Hund akute oder chronische Myokarditiden hervorrufen und ist theoretisch über canine Blutprodukte übertragbar (REINE 2004; WARDROP et al. 2005), es liegen jedoch keine experimentellen Studien vor.

2.3.2.2.2. Bakterien, Pilze und Viren

Anaplasmataceae sind gram-negative, obligat intrazellulär vorkommende Organismen, die in Leukozyten, Erythrozyten, Endothelzellen oder Thrombozyten parasitieren (GREIG und ARMSTRONG 2006). Die Übertragung erfolgt in erster Linie über bestimmte Zeckengattungen. Die für den Hund bedeutsamen Spezies stellen *Anaplasma phagozytophilum* (USA, Südamerika, Asien und Europa) sowie *A. platys* (USA, Australien, Südeuropa, Südamerika, Asien und Afrika) dar. Während *A. platys* thrombozytroph ist und sich vor allem durch eine Thrombozytopenie mit meist milden Symptomen äußert, ist *A. phagozytophilum* vor allem in den neutrophilen Granulozyten lokalisiert und geht mit unspezifischen, z.T. schweren Symptomen wie Fieber, Lethargie und Anorexie einher (GREIG und ARMSTRONG 2006).

Rickettsia rickettsii ist ein obligat intrazellulär lebendes Bakterium und Erreger des in den USA bei Mensch und Hund vorkommenden Rocky Mountain Spotted Fever (RMSF). Die Übertragung auf Hunde findet vornehmlich über Zecken der Gattungen Dermacentor und Rhipicephalus statt. Durch die Replikation des Erregers in den Endothelzellen kleiner Arteriolen und Venen mit Plättchenaktivierung geht die Infektion mit einer immunbedingten Thrombozytopenie und einer nekrotisierenden Vaskulitis einher, die vor allem Haut, Gehirn, Herz und Nieren betrifft. Bevor jedoch organspezifische Symptome wie Hautnekrosen oder Meningoenzephalitiden auftreten, sind meist unspezifische Anzeichen wie Fieber, Gewichtsverlust, Lethargie, Anorexie, Erbrechen und Durchfall vorhanden. Akutes Nierenversagen als fatale Komplikation tritt beim Hund wesentlich seltener als beim Menschen auf (GREENE und BREITSCHWERDT 2006).

Ehrlichien gehören wie Neorickettsien zu den durch Zecken übertragenen gram-negativen obligat intrazellulär lebenden kokkoiden Bakterien, die primär Leukozyten (Monozyten, Makrophagen) infizieren. Beim Hund sind vor allem *Ehrlichia canis* (weltweit in warmen Gebieten), *E. chaffeensis* (USA), *E. ewingii* (USA) und *Neorickettsia risticii* (USA, Canada)

von Bedeutung. Infizierte Hunde zeigen meist unspezifische Symptome wie Fieber, Lethargie, Gerinnungsstörungen, Lymphadenomegalien, neuromuskuläre oder okuläre Symptome. Auch chronische Verläufe sind möglich. Labordiagnostisch liegt meist eine Anämie, Thrombozytopenie oder Panzytopenie (v.a. *E. canis*) vor. Infektionen mit *E. ewingii* oder *N. risticii* gehen häufig mit Polyarthritiden einher, während die Blutbildveränderungen meist eher mild sind (NEER et al. 2002; NEER und HARRUS 2006).

Die Übertragung von (Neo)Rickettsien durch canine Blutprodukte ist nur theoretisch denkbar, es gibt dazu bisher keine Daten. Da es jedoch einen Bericht über die experimentelle Infektion von Katzen mit *Neorickettsia risticii* gibt (DAWSON et al. 1988), könnte die Übertragung auch für den Hund möglich sein. In einer Untersuchung wurde das Vorkommen von *Anaplasma phagozytophilum* bei 10/254 gesunden Hunden, die Deutschland nie verlassen hatten, mittels PCR gezeigt. Es gab einen Fall der Übertragung durch Transfusion (GALKE 2009).

Borrelia burgdorferi gehört zu den Spirochäten und wird über Zecken der Gattung Ixodes übertragen. Bei Hunden verläuft die Infektion häufig klinisch inapparent, doch in einigen Fällen wird die Lyme Disease ausgelöst, die sich in systemischen Symptomen wie Fieber, wechselnder Lahmheit durch Arthritiden, Anorexie und Lymphknotenschwellung äußert. Auch Protein-Verlust-Glomerulopathien, Meningitiden oder andere Manifestationen kommen vor (GREENE und STRAUBINGER 2006). Borrelien überleben nachweislich in bei 4°C gelagerten Erythrozytenkonzentraten und sogar in bei -18°C gefrorenem Plasma; es ist also theoretisch möglich, bei dem Empfänger die Lyme Disease hervorzurufen (AOIKI und HOLLAND 1989; BADON et al. 1989). Im ACVIM Consensus Statement wird ein Screening gesunder Blutspender nicht empfohlen (WARDROP et al. 2005), da in einer Studie nur 1,6% von 576 Blutproben experimentell infizierter Hunde positiv mittels PCR auf *Borrelia burgdorferi* getestet wurden. Wahrscheinlich ist die Phase der Bakteriämie zu kurz (STRAUBINGER 2000).

Brucellose wird beim Hund durch *Brucella canis*, ein kokkoides gram-negatives aerobes Bakterium, hervorgerufen. Die natürliche Eintrittspforte stellen die Schleimhäute von Gastrointestinal- und Genitaltrakt dar, wo die Erreger von Makrophagen und anderen phagozytierenden Zellen aufgenommen werden. In diesem Stadium ist eine Übertragung via Blutkonserven theoretisch möglich. Erwachsene Hunde bleiben meist klinisch unauffällig, Störungen der Trächtigkeit, Aborte, Testikulitiden und Uveitiden sind jedoch möglich (GREENE und CARMICHAEL 2006).

Auch *Mycoplasma canis* und *Bartonella vinsonii* scheinen durch Transfusion übertragen werden zu können (LESTER und HUME 1995; PAPPALARDO et al. 2001).

In Amerika werden canine Blutspender abhängig von der geographischen Lokalisation (Südwesten der USA, Mexiko) teilweise auch auf endemisch vorkommende mykotische Erreger wie *Coccidioides immitis*, der sich vornehmlich in einer okulären Infektion zeigt, getestet (HOWARD et al. 1992).

Das *West Nile Virus* ist ein seit 1937 in Afrika bekanntes zu den Flaviviren gehörendes Virus, das durch *Culex spp.* und seltener durch Zecken übertragen wird. Seit einem Ausbruch in New York 1999 bei Vögeln, Pferden und Menschen wurden auch Fälle bei Hunden und anderen Haustieren in den USA gemeldet. Die Infektion kann bei Hunden klinisch inapparent bis tödlich verlaufen, wobei Enzephalitis, Myelitis und Myokarditis vorkommen. Das Virus lässt sich in multiplen, auch nicht entzündeten Organen nachweisen. Da beim Menschen die Transmission über Blutprodukte beschrieben wurde, ist die Möglichkeit der Übertragung mittels caniner Konserven theoretisch möglich (LICHTENSTEIGER und GREENE 2006).

2.3.2.2.3. Spenderscreening

Antigennachweise und serologische Untersuchungen des Spenderblutes bei Hunden werden von verschiedenen Autoren empfohlen (COTTER 1991; BÜCHELER und COTTER 1992; REINE 2004; HOHENHAUS 2006).

Im ACVIM Consensus Statement, welches von den Arbeitsgruppen für Infektionskrankheiten und Hämatologie und Transfusionsmedizin gemeinsam erarbeitet wurde, wird zwischen 2 Gruppen von Erkrankungen unterschieden (WARDROP et al. 2005). Die erste Gruppe umfasst empfohlene Tests auf Erkrankungen, die mindestens 3 der folgenden Kriterien erfüllen: 1. das Agens verursacht klinische Infektionen bei Empfängern durch die Übertragung von Blut, 2. das Agens verursacht subklinische Infektionen, so dass möglicherweise Carrier Blut spenden, 3. das Agens kann aus dem Blut eines infizierten Tieres kultiviert werden, 4. die beim Empfänger ausgelöste Erkrankung ist schwerwiegend oder schwierig zu behandeln. In der zweiten Gruppe werden Krankheiten erfasst, deren Testung unter Vorbehalt empfohlen wird und folgende Kriterien erfüllen: 1. die experimentelle Übertragung ist dokumentiert, aber klinische Transmission über Blutprodukte ist nicht beschrieben, 2. die Erkrankung stellt keine Bedrohung für einen Großteil der Empfänger dar oder ist leicht zu behandeln. Zu der ersten Gruppe mit Erregern, deren Testung empfohlen wird, zählen *Babesia canis* (IFA, ggf. PCR) und *Babesia gibsoni* (IFA, ggf. PCR), *Leishmania donovani* bei Hunden aus endemischen Gebieten oder Hunden, die sich dort aufhielten (IFA, ggf. PCR), sowie *Ehrlichia canis* (IFA, ELISA, ggf. PCR), *Anaplasma phagocytophilum* (IFA, ggf. PCR), *Anaplasma platys* (IFA, ggf. PCR), *Neorickettsia risticii* und *Neorickettsia helmintheca* (Antikörper, ggf. PCR).

Brucella canis (Agglutinationstest) ist hier ebenfalls zu nennen, obwohl dessen Übertragung via Transfusion bisher beim Menschen nicht aber beim Hund beschrieben wurde. Die zweite Gruppe enthält Erreger, deren Testung möglich ist und unter Vorbehalt empfohlen wird: *Trypanosoma cruzi* (IFA) bei Hunden aus endemischen Gebieten, *Ehrlichia ewingii* (PCR), *Ehrlichia chaffeensis* (PCR), *Bartonella vinsonii* (IFA) und *Mycoplasma haemocanis* (früher: *Hämobartonella canis*, Mikroskopie, PCR). Erreger, deren Testung möglich ist, aber bei gesunden Blutspendern nicht empfohlen wird, sind *Borrelia burgdorferi* und der Erreger des Rocky Mountain Spotted Fever *Rickettsia rickettsii*. Um über den Einsatz fakultativer Tests zu entscheiden, gehören zu der Anamnese des Blutspenders die Fragen nach der Zeckenprophylaxe und nach Auslandsaufenthalten in Bezug auf endemische Gebiete.

2.3.2.3. Hämosiderose

Die Hämosiderose ist beim Menschen eine Folge der Eisenüberladung, die auftreten kann, wenn Patienten, die nicht bluten und keine Erythrozytensubstitution brauchen, mehrfach erythrozytenhaltige Blutkonserven zugeführt werden (BOTTOMLEY 1998). Patienten mit chronischem Transfusionsbedarf sind ab etwa 100 transfundierten Ec-Konzentraten gefährdet und meist auf Chelatbildner angewiesen (BUNDESÄRZTEKAMMER 2008).

Auch beim Hund kann Hämosiderose auftreten (HARRELL et al. 1997). Das Vorkommen dieser Komplikation ist äußerst selten und kann effektiv vermieden werden, indem Blutkomponenten Verwendung finden, deren Einsatz vorher sorgfältig überdacht wird (COTTER 1991).

2.3.2.4. Toxizität des Weichmachers

Um möglichen Schäden v.a. bei Früh- und Neugeborenen durch den in den Transfusionsbeuteln enthaltenen Weichmacher Diethylhexylphthalat vorzubeugen, werden heute zitratbasierte Substanzen als Weichmacher verwendet (SNYDER et al. 1993; BUNDESÄRZTEKAMMER 2008).

3. Lagerung von Blutkonserven

3.1. Veränderungen an Erythrozyten

Die Lagerung von Blutkonserven geht mit diversen physikalischen und biochemischen Veränderungen der Zellen einher, die als Lagerungsschäden („storage lesions“) zusammengefasst werden. Dadurch, dass sich die Zellmorphologie verändert, die ATP-Konzentration abnimmt und 2,3-DPG an eine Hämoglobinuntereinheit bindet, nehmen die

Elastizität und die Sauerstoffaffinität der Erythrozyten ab (WOLFE 1985; CARD 1988; TINMOUTH und CHIN-LEE 2001). Es besteht eine geringe Regenerationsfähigkeit innerhalb der ersten Stunden nach Transfusion (STUART und NASH 1990). Die Veränderungen in der Membranstruktur und die Deformierung sind jedoch irreversibel, und auch die reversiblen Schäden stellen erhöhte metabolische Ansprüche an einen geschwächten Patienten (AKERBLOM und KREUGER 1975).

Im Hundemodell wurde gezeigt, dass die Sauerstoffabgabe bei der Reperfusion ischämischen Gewebes durch frisches Blut wesentlich effektiver erfolgt als durch gelagertes (YHAP et al. 1975). Zudem wird Stickoxid freigesetzt, das an Hämoglobin bindet und somit seine vasodilatative Wirkung verliert, wodurch es zur Minderdurchblutung von Organen kommen kann (JIA et al. 1996), zumal deformierte Erythrozyten auch die Viskosität des Blutes erhöhen (STUART und NASH 1990). In einer Studie konnte außerdem *in vitro* gezeigt werden, dass im Verlauf einer vierwöchigen Lagerung von Erythrozytenkonzentrat der Grad der Adhäsion von Erythrozyten an endotheliale Zellen zunimmt (LUK et al. 2003). Laut FDA-Standard für gelagertes humanes Vollblut sollen die Erythrozyten eine Posttransfusions-Lebensfähigkeit (PTV) von 75% aufweisen (WALKER 1993). Zur Ermittlung der PTV von Hunde-Erythrozyten stellt die Biotinylierung eine anwendbare Technik dar (WARDROP et al. 1998). Canine Erythrozyten wiesen wie humane Blutzellen nach 35tägiger Lagerung in Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin mit dem Additiv Saline-Adenin-Glukose eine akzeptable Qualität auf (WARDROP et al. 1997b).

In einer neuen humanmedizinischen Studie waren leukozytenreduzierte Erythrozytenkonzentrate über eine Lagerungszeit von 7 Wochen nur minimal in ihren rheologischen Eigenschaften wie Aggregabilität, Deformabilität und osmotische Fragilität beeinflusst, lediglich die ATP-Konzentration sank um 54% (HENKELMAN et al. 2010).

3.2. Veränderungen an Leukozyten

Leukozyten haben in gelagerten Blutprodukten eine geringere Stabilität als Erythrozyten, sie verlieren zunächst ihre Funktion und zerfallen dann während zunehmender Lagerungsdauer (HUMBERT et al. 1991; MEMKE-MÖLLERS et al. 1992; MINCHEFF 1998).

In Abhängigkeit von dem Gehalt an Leukozyten fällt der pH-Wert im Lagerungsverlauf ab, dagegen nehmen der Glukoseverbrauch, die Laktatproduktion und die Freisetzung von Laktatdehydrogenase zu, so dass der Leukozytenwert in Thrombozytenpräparaten nicht höher als 10^7 Zellen pro Einheit liegen sollte (PIETERSZ et al. 1988). Hundeleukozyten dienen dabei häufig als Modell für die Humanmedizin (JEMIONEK et al. 1983).

Leukozyten setzen im Zuge ihres Zerfalls Zytokine und anderen bioaktive Substanzen frei (FREWIN et al. 1984; STACK und SNYDER 1994; FEDEROWICZ et al. 1996; NIELSEN et al. 1996a; NIELSEN et al. 1996b; NIELSEN et al. 1997a), die zu nicht-hämolytischen febrilen Transfusionsreaktionen führen können (MUYLLE et al. 1993; HEDDLE et al. 1994; SNYDER 1995; MUYLLE et al. 1996; SARKODEE-ADOO et al. 1998; LIN et al. 2002). Eine Studie ergab, dass mit zunehmender Lagerungsdauer von Thrombozytenpräparaten die Inzidenz von nicht-hämolytischen Transfusionsreaktionen stieg, sofern die Präparate nicht gefiltert wurden, während sich das Risiko einer allergischen Reaktion nicht erhöhte und auch die Effektivität der Transfusion unbeeinflusst blieb (SARKODEE-ADOO et al. 1998). Ein positiver Aspekt des Lymphozytenzerfalls stellt das mit zunehmendem Alter der Blutprodukte abnehmende Risiko der Retrovirusinfektion dar, da die Viren lebende Leukozyten zu benötigen scheinen, HTLV mehr als HIV (KLEINMAN et al. 1993; DONEGAN et al. 1994; WILLIAMSON 2000).

3.3. Veränderungen an Thrombozyten

Auch Thrombozyten unterliegen lagerungsbedingten Veränderungen in Abhängigkeit von vielen Faktoren wie Temperatur, pH-Wert, umgebendem Medium, Leukozytenpräsenz, mechanischem Stress und Beschaffenheit des Plastikbeutels (CHERNOFF und SNYDER 1992). Wenn Plasma einen Großteil des umgebenden Mediums darstellt, unterliegen die Thrombozyten dem Einfluss von Thrombin und Faktoren des Komplementsystems. Thrombin induziert die Sekretion von Granula, die Entwicklung neuer Oberflächenantigene und die Lyse vorhandener Glykoproteine. Teilweise können diese Aktivitäten durch bestimmte Zusätze wie Theophyllin oder Aprotinin und ein geringes Oberflächen-Volumen-Verhältnis unterbunden werden. Komplementaktivierung bedingt Veränderungen, die letztlich zu einer gesteigerten Adhäsion und zur Aggregation führen (CHERNOFF und SNYDER 1992). Auch die Herstellungsmethode spielt eine entscheidende Rolle. In einer Untersuchung wurden die 3 wichtigsten Verfahren verglichen: Thrombozytenkonzentrat aus thrombozytenreichem Plasma (PRP-PC), aus dem Buffy coat (BC-PC) und Apherese (AC-PC) (METCALFE et al. 1997). Alle führten zu Veränderungen, die auf eine Thrombozytenaktivierung hinwiesen, wobei PRP-Thrombozyten am stärksten und die Buffy coat Thrombozyten am wenigsten betroffen waren. Je deutlicher sich die Veränderungen der Marker nach der Präparation zeigten, desto größer war am Ende der Lagerungszeit der Grad an aktivierten Thrombozyten.

Lagerungsschäden von Thrombozyten können in 4 Kategorien eingeteilt werden (LI et al. 2005). Die erste betrifft den Metabolismus, es kommt zu einem gesteigerten Glukoseverbrauch und einer vermehrten Laktatproduktion, um die ATP-Konzentration unter

Ausschluss von Sauerstoff konstant zu halten. Die zweite Kategorie umfasst morphologische Veränderungen von einer diskoiden zu einer sphärischen Form. Thrombozytenaktivierung als die dritte Kategorie zeigt sich in gesteigerter P-Selektin-Expression, Degranulation und Formierung von Mikropartikeln. Die vierte Kategorie entspricht dem Apoptosevorgang, der als normale Lagerungsfolge auftritt und durch eine Lagerung bei 37°C beschleunigt wird. Diese Vorgänge können experimentell durch UV-Licht forciert und durch den Zusatz von 2-DOG in Bezug auf die erste Kategorie reduziert werden (LI et al. 2005). Somit werden die Veränderungen der Kategorien 2 bis 4 nicht durch die gesteigerte Glykolyse oder die daraus entstehenden Endprodukte bedingt. Bei dem Vergleich von Plasma und einer additiven Lösung (glukosefreies Zitrat-Acetat-NaCl) als umgebendes Thrombozytenmedium zeigten die in Plasma gelagerten Zellen eine größere Stabilität, die sich unter anderem in einer geringeren Freisetzung von VEGF und weniger morphologischen Veränderungen äußerte (WAGNER et al. 2002).

Die Möglichkeit, durch in vitro Untersuchungen von Thrombozyten eine Aussage über die Überlebensfähigkeit und Funktionalität in vivo erhalten zu können, wird kontrovers diskutiert (MURPHY 2004), ein Fluoreszeintest zur Beurteilung der Membranintegrität und die Biotinylierung scheinen jedoch aussagekräftig zu sein (HEILMANN et al. 1993; REID et al. 1999).

3.4. Veränderungen in der Plasmafraktion

Sowohl in Thrombozyten- (EDVARSEN et al. 1996) als auch in Erythrozytenkonzentraten (NIELSEN et al. 1996a; NIELSEN et al. 1996b) und sogar Plasmapräparaten (NIELSEN et al. 1997a) findet die Freisetzung bioaktiver Substanzen statt. Die in nicht-gefilterten Plasmakonserven enthaltenen Leukozyten zerfallen unabhängig von der Lagerung durch die Einfrier- und Auftau-Vorgänge, die zu der Freisetzung von Zytokinen führen (NIELSEN et al. 1997a), auch Lipide sammeln sich in der Plasmafraktion (SILLIMAN et al. 1996).

Plasmaprodukte bleiben im Verlauf der Lagerung ein relativ stabiles Produkt. Eine Studie mit caninem Plasma zeigte während einer 30tägigen Lagerung keine signifikanten Veränderungen in Bezug auf seine hämostatischen Parameter, unabhängig davon, ob die Aufbewahrung bei 2°C oder -30°C erfolgte (IAZBIK et al. 2001).

Die Lagerung von caninem FFP bei -18°C bis zu einem Jahr ist Standard, während in der Humanmedizin -30°C vorgeschrieben sind (HEMATOLOGY 2004).

3.5. Folgen der lagerungsbedingten Veränderungen

Die Folgen von transfundierten morphologisch veränderten Erythrozyten und Zytokinen können gerade bei schwerkranken Patienten fatal sein (PURDY et al. 1997), zumal die Veränderungen überproportional mit der Lagerungsdauer zunehmen (SHANWELL et al. 1997). So kann es bei der Verabreichung von Erythrozytenprodukten nach einer Lagerung von mehr als 15 Tagen bei Intensivpatienten mit Sepsis zu einer verminderten Gewebedurchblutung kommen (MARIK und SIBBALD 1993). Bypass-Patienten haben nach dem Erhalt einer älteren Konserve ein signifikant höheres Mortalitätsrisiko (VAN DE WATERING et al. 1998), ihr Risiko, an einer postoperativen Pneumonie zu erkranken, steigt um etwa 1% je Lagerungstag der jeweiligen Blutkonserve (VAMVAKAS und CARVEN 1999). Eine andere Studie lässt jedoch keinen Zusammenhang zwischen postoperativer Infektionsrate und der Lagerungsdauer erkennen (EDNA und BJERKESET 1998a).

In Erythrozytenkonzentraten unterliegt das mikrobielle Wachstum einer 21tägigen Verzögerung, bei längerer Lagerungsdauer steigen Bakterienanzahl und Endotoxinspiegel rapide (ARDUINO et al. 1989).

Eine Studie zeigte eine steigende mitogene Aktivität von gelagerten Blutprodukten ab Tag 1 mit einem Plateau nach 2 Wochen Lagerung (HOH et al. 1990), wahrscheinlich durch die Freisetzung von Wachstumsfaktoren. Eine andere Untersuchung beschäftigte sich mit Patienten, die wegen eines kolorektalen Tumors operiert und transfundiert wurden (MYNSTER und NIELSEN 2000). Die Gruppe, die postoperative Infektionen entwickelte, hatte zu 60% Konserven erhalten, die 21 Tage oder länger gelagert worden waren, während der Anteil bei Patienten ohne Infektion bei 25% lag. Somit erwies sich das Lagerungsintervall der Blutkonserve als einer der Risikofaktoren bei der Entwicklung postoperativer infektiöser Komplikationen. Weiterhin soll die Lagerungszeit von Erythrozytenprodukten mit anaphylaktoiden Reaktionen, Minderdurchblutung der Milz und Tumorrezidiven in Verbindung gebracht werden können (FREWIN et al. 1989; HOH et al. 1990; HEDDLE et al. 1993; MARIK und SIBBALD 1993).

Eine Veröffentlichung liefert einen Überblick über klinische Studien im Hinblick auf negative Auswirkungen durch die Verabreichung gelagerter Ec-Konserven. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass die Minderzahl der Untersuchungen und keine der prospektiv durchgeführten Studien einen Zusammenhang zwischen schlechterem Outcome der Patienten und der Verabreichung länger gelagerter Konserven herstellen konnten (ZIMRIN und HESS 2008).

In einer retrospektiven Untersuchung adverser Reaktionen erfolgte die Herstellung von Thrombozytenpräparaten aus dem Buffy coat (RICCARDI et al. 1997). Es zeigte sich einerseits eine Beeinflussung durch die Zeitspanne zwischen der Gewinnung des Buffy coats und der Herstellung der Thrombozytenkonserven und andererseits durch die Lagerungszeit und den Zeitpunkt der Filtration. Die Inzidenz einer adversen Reaktion (febril, nicht hämolytisch n=23, allergisch n=5, febril und allergisch n=2, andere n=7) lag bei der Herstellung aus dem Buffy coat nach 2 Tagen Lagerung 1,98mal höher als bei der Verarbeitung innerhalb des ersten Tages. Thrombozytenpräparate brachten nach 5tägiger Lagerung ein 10,7mal höheres Risiko als die 1 Tag alten Konserven mit sich. Die bei der Herstellung und nach der Lagerung gefilterten Einheiten zeigten ein Risiko mal 0,65 und 1,87 verglichen mit nicht-gefilterten Präparaten.

In anderen Studien führte die Verabreichung über längere Zeit gelagerter Thrombozytenpräparate selbst dann zu einer höheren Rate an adversen Reaktionen, wenn die Leukozyten früh entfernt wurden (MUYLLE et al. 1992; HEDDLE et al. 1993). Außerdem stieg mit zunehmender Lagerungsdauer von Thrombozytenpräparaten das Risiko einer bakteriellen Kontamination und damit die Gefahr einer Sepsis des Empfängers (MORROW et al. 1991; CHIU et al. 1994; WAGNER et al. 1995). Eine Untersuchung an Thrombozytenpräparaten ergab eine Kontaminationsrate von 1,8 pro 10 000 Einheiten nach 4tägiger Lagerung versus 11,9 pro 10 000 Einheiten nach einem Lagerungsintervall von 5 Tagen (YOMTOVIAN et al. 1993).

4. Vascular endothelial growth factor (VEGF)

4.1. Molekularbiologie und Funktion

VEGF (alt: vascular permeability factor, VPF) ist ein Wachstumsfaktor aus dimeren glykosilierten Polypeptiden mit einem Molekulargewicht von ca. 45 000 KD (DVORAK et al. 1995; SCHEIDEGGER et al. 1999), der para- und autokrin von der glatten Muskulatur (TISCHER et al. 1991; STAVRI et al. 1995) und den endothelialen Zellen (SEGHEZZI et al. 1998) von Gefäßen unter bestimmten Bedingungen sezerniert wird. Auch mesangiale Zellen (IJIAMA et al. 1993), Perizyten (NOMURA et al. 1995) und Pneumozyten (MURA et al. 2010) können VEGF exprimieren. Fibroblasten können zur VEGF-Produktion angeregt werden durch den Austritt von Serum aus Blutgefäßen von Tumoren (IYER et al. 1999) und Keratinozyten während der Wundheilung (BROWN et al. 1992). Zudem findet in den Hepatozyten gesunder Rattenlebern die Expression von VEGF statt, das auf die Rezeptoren der sinusoidalen Endothelzellen wirkt (YAMANE et al. 1994). Die Synthese wird außerdem von Thrombozyten (MÖHLE et al. 1997; BANKS et al. 1998; WARTIOVAARA et al. 1998), Lymphozyten (FREEMAN

et al. 1995; IJIAMA et al. 1996), neutrophilen (GAUDRY et al. 1997; MCCOURT et al. 1999) und eosinophilen Granulozyten (HORIUCHI und WELLER 1997), Makrophagen (BERSE et al. 1992; HARMEY et al. 1998) und Megakaryozyten (MÖHLE et al. 1997) durchgeführt.

Das VEGF-Gen ist schon seit mehreren Jahren gut erforscht (TISCHER et al. 1991). Es besteht aus acht Exons und sieben Introns, durch alternatives Splicing der messengerRNA entstehen fünf Isoformen aus 121, 145, 165, 189 oder 206 (nur in der fetalen Leber) Aminosäuren. VEGF₁₆₅ stellt die wichtigste Isoform dar, es bindet an Heparin und Proteoglykane von Zelloberflächen und liegt wie das nicht-heparinbindende VEGF₁₂₁ in einer löslichen Form vor, während die anderen Isoformen an Zelloberflächen gebunden sind (HOUCK et al. 1991).

Alle Isoformen des Menschen kommen auch beim Hund vor, allerdings wie bei den meisten untersuchten Säugetieren mit einer Aminosäure weniger. Canines VEGF₁₆₄ ist zu 95% identisch mit dem humanen VEGF₁₆₅. In der Loopregion, die für die Rezeptorbindung verantwortlich ist, besteht kein Unterschied in der Aminosäuresequenz, und so kommt es bei der Stimulation humaner und aviärer Zelllinien durch humanes und canines VEGF in vitro zu derselben biologischen Antwort (SCHEIDEGGER et al. 1999).

Die Effekte von VEGF₁₆₅ und VEGF₁₂₁ werden durch die Bindung an die Tyrosinkinase-Rezeptoren VEGFR-1/Flt-1, VEGFR-2/Flk/KDR und VEGFR-3/Flt-4 vermittelt, zusätzlich existieren noch VEGF₁₆₅ spezifische Neuropillin-Corezeptoren (NEUFELD et al. 1999; VEIKKOLA et al. 2000; SHIBUYA 2006).

Vor allem VEGFR-1 spielt eine wichtige Rolle bei der morphologischen Organisation von Gefäßendothel und erfährt bei Hunden und Menschen dasselbe alternative Splicing (SCHEIDEGGER et al. 1999). Dadurch existieren alternativ eine membrangebundene vollständige Form und eine lösliche, die zwar die VEGF-Bindungsregion enthält, nicht aber das transmembrane Segment und die Kinase-Domäne. So ist eine negative Rückkopplung der VEGF-Aktivität gewährleistet (KENDALL und THOMAS 1993).

Der VEGFR-2 ist strukturell bei Menschen und Hunden ebenfalls identisch, es existieren keine alternativen Varianten (SCHEIDEGGER et al. 1999).

Zudem scheinen erst kürzlich entdeckte purinergische Rezeptoren VEGFR-2 in Abwesenheit von VEGF aktivieren zu können (RUMJAHN et al. 2009).

VEGF ist an verschiedenen physiologischen und pathologischen Vorgängen, die mit Mitose und Angiogenese assoziiert sind, beteiligt (DVORAK et al. 1995; ZACHARY 1998).

In gesundem Gewebe ist Angiogenese in ihrer Geschwindigkeit durch ein Erneuerungsintervall endothelialer Zellen von mehr als 1000 Tagen stark limitiert. Sind

jedoch schnell neue Gefäße erforderlich wie z.B. während der Wundheilung, kann das Erneuerungsintervall auf fünf Tage reduziert werden (DAMERON et al. 1994).

VEGF wirkt angiogen, mitogen und permeabilitätssteigernd spezifisch auf Gefäßendothel (CONNOLLY et al. 1989; FOLKMAN 1990; KENNETH 1996; O'REILLY et al. 1996; FERRARA und DAVIS-SMYTH 1997; MANIWA et al. 1998; MCNAMARA et al. 1998; ZACHARY 1998; DVORAK et al. 1999) und ist einer der wirksamsten angiogenen Faktoren (KLAGSBURN und SOKER 1993; DVORAK et al. 1995; MUKHOPADHYAY et al. 1995; SCHEIDEGGER et al. 1999). Die Proliferation der vaskulären Endothelzellen bewirkt eine Ausbreitung neuer Gefäße von präexistierenden Gefäßen, doch auch für das Bestehen bereits vorhandener Gefäße kann VEGF unter Umständen von Bedeutung sein (FERRARA et al. 1992). Gleichzeitig erhöht sich die Permeabilität durch Fenestration des Gefäßendothels sowie durch die Produktion von vesikulo-vakuolären Organellen, die Kanäle zur Ausschleusung von Proteinen wie Fibrinogen bilden (ROBERTS und PALADE 1997; DVORAK und FENG 2001). An der dafür notwendigen Energiebereitstellung scheint VEGF durch Stimulation des Hexose-Transportes unmittelbar mitzuwirken (PEKALA et al. 1990). Die Aktivierung und Chemotaxis von Monozyten (CLAUSS et al. 1990; SHEN et al. 1993; BARLEON et al. 1996) und Mastzellen (GRUBER et al. 1995) durch VEGF scheint sich ebenfalls positiv auf die Angiogenese auszuwirken.

Physiologisch zirkuliert eine geringe Menge von VEGF im Blut, beim Hund liegt der Durchschnittswert bei <1pg/ml (CLIFFORD et al. 2001; WERGIN et al. 2004), beim Menschen dagegen mit 0 – 38 (HYODO et al. 1998), 17,7 +/- 5,4 (JINNO et al. 1998), 0 – 42 (BANKS et al. 1998), Median 9,0 (GEORGE et al. 2000), 13 – 37 (NIELSEN et al. 1999), 17 – 38 (EDVARSDEN et al. 2001) pg/ml Plasma bzw. von 20 bis 1000 mit einem Median von 120 (WERTHER et al. 2001), bis zu 500 (DIRIX et al. 1997), 44 – 450 (HYODO et al. 1998), 75 – 609 (WYNENDAELE et al. 1999), 76 – 854 (BANKS et al. 1998), Median 151,5 (GEORGE et al. 2000), 20 – 303 (NIELSEN et al. 1999) pg/ml Serum deutlich höher. Es scheint tageszeit- und aktivitätsbedingte Schwankungen zu geben (HETLAND et al. 2008).

Ab einer Menge von 1ng/ml wurde experimentell ein signifikanter Effekt auf die endotheliale Proliferation beobachtet (SHEN et al. 1993). Die Halbwertszeit von VEGF in der Zirkulation liegt bei 3 Minuten (FOLKMAN 1995a).

In Zusammenhang mit der Reproduktion zeigen murine (SHWEIKI et al. 1993) und humane (CHARNOCK-JONES et al. 1993) endometriale Zellen sowie humane (YAMAMOTO et al. 1997) und canine (MARIANI et al. 2006) und andere (PLENDL 2000; KAESSMEYER und PLENDL 2009) Ovarien eine hormon- und zyklusabhängige VEGF-Produktion. Während der Schwangerschaft erhöht sich die Serum-VEGF-Konzentration (EVANS et al. 1997; HOLTAN et

al. 2009). Während der Entwicklung menschlicher Embryonen kann VEGF-Expression schon wenige Tage nach der Implantation gezeigt werden (BREIER et al. 1992), im weiteren Verlauf wurde VEGF mRNA-Expression in allen untersuchten Geweben, in erster Linie Lunge, Niere und Milz nachgewiesen (SHIFREN et al. 1994).

In einem Mausmodell konnte gezeigt werden, dass transgene Mäuse mit einer monoallelen Ausschaltung des VEGF-Gens schon in der frühen embryonalen Entwicklung sterben (FERRARA et al. 1996).

Die Aktivierung der VEGF-Expression kann direkt oder indirekt erfolgen (SHWEIKI et al. 1992; PARK et al. 2001). Die direkte Stimulation scheint an die Aktivierung der mitogenaktivierten Proteinkinase (MAPK) gekoppelt zu sein, die sehr schnell oder verzögert eintreten kann. Die Differenzierungsvorgänge von Geweben scheinen indirekt bei der VEGF-Gen-Expression eine Rolle zu spielen (CLAFFEY et al. 1992), ebenso wie verschiedene Zytokine (PERTOVAARA et al. 1994; FRANK et al. 1995; SALGADO et al. 1999; GOSH et al. 2001), Lipopolysaccharide (MCCOURT et al. 1999) und Glutamin (BOBROVNIKOVA-MARJON et al. 2004; MARJON et al. 2004). Die Wirkung von VEGF wird auch durch den pH-Wert beeinflusst (GOERGES und NUGENT 2004). Ist er niedrig, erhöht sich die Bindungsfähigkeit von VEGF an das für die Angiogenese wichtige Fibronectin (MONTESANO 1992). Dieser Effekt wird durch die Anwesenheit von Heparin verstärkt, neben VEGF₁₆₅ ist unter azidotischen Bedingungen auch VEGF₁₂₁ in der Lage, Heparin zu binden (GOERGES und NUGENT 2004).

Hypoxie und oxidativer Stress gehören zu den indirekten Stimuli, die die Bildung von VEGF anregen, sowohl in vitro (SHWEIKI et al. 1992; MICHENKO et al. 1994; LEVY et al. 1995; LIU et al. 1995; NAMIKI et al. 1995) als auch in vivo (BECKER et al. 2001). So erhöht sich die Plasma- bzw. Serumkonzentration nach chirurgischen Eingriffen, Wunden, Verbrennungen, Infarkten und anderen mit verminderter Sauerstoffversorgung einhergehenden Ereignissen (BROWN et al. 1992; BANAI et al. 1994; FRANK et al. 1995; NISSEN et al. 1996; MANIWA et al. 1998; ZACHER et al. 1998). Auch bei Retinopathien (AIELLO et al. 1994), rheumatoiden Erkrankungen (MCNAMARA et al. 1998), Endometriose (MCLAREN et al. 1996), chronischen Lebererkrankungen (JINNO et al. 1998), Inflammatory Bowel Disease (IBD) (SCHÜRER-MALY et al. 1997), Morbus Crohn (NIELSEN et al. 2001), Psoriasis (FOLKMAN 1995a), bestimmten Autoimmunerkrankungen (BROWN et al. 1995b) und Neoplasien (SHWEIKI et al. 1992) wird vermehrt VEGF exprimiert. Einige Autoren vermuten eine Erhöhung der Konzentration bei Vorliegen einer Anämie aufgrund der dadurch entstehenden hypoxischen Zustände (SHWEIKI

et al. 1992; DUNST et al. 1999), schon eine milde Anämie kann die Oxygenierung vorhandener Tumoren verschlechtern (DUNST et al. 2001).

Die Erhöhung der VEGF-Konzentration bei Hypoxie wird durch den Hypoxia-Inducible Faktor-1 (HIF-1) vermittelt (LIU et al. 1995). HIF-1 besteht aus zwei Untereinheiten, HIF-1 α und HIF-1 β . Unter normalen Bedingungen wird HIF-1 α durch Proteosomen schnell inaktiviert. Bei hypoxischen Zuständen ist HIF-1 α jedoch stabil und bindet an HIF-1 β . Die vereinigten Untereinheiten binden in hypoxischen Zellen an bestimmte DNA-Regionen, den sogenannten Hypoxia-Responsive Elements (HRE). Somit erfolgt die Transkription bestimmter Gene, so auch die des Gens für die VEGF-Expression.

Bei der stimulierten Expression der kodierenden Gene für VEGF und Erythropoetin (EPO) konnten viele Gemeinsamkeiten nachgewiesen werden (GOLDBERG und SCHNEIDER 1994; LIU et al. 1995). So findet eine Verstärkung der mRNA-Expression durch Hypoxie und die Anwesenheit von Kobaltchlorid, das bei Hypoxie die Chemorezeptoren im Aortenbogen stimuliert, statt, während Kohlenstoffmonoxid hemmend wirkt. Cycloheximid wirkt ebenfalls hemmend, wenn es vorab anwesend ist, verlängert jedoch die Halbwertszeit der mRNA, wenn der hypoxische Zustand bereits besteht. Das lässt das Vorhandensein eines gemeinsamen Regulationsmechanismus für die Gene von EPO und VEGF wahrscheinlich erscheinen (GOLDBERG und SCHNEIDER 1994).

4.2. VEGF und Tumoren

4.2.1. Allgemeines

Tumoren können sich über einen langen Zeitraum unbemerkt in einer prävasculären Phase befinden. Bei einer Größe von 2-3mm³ entspricht die Replikationsrate der sterbenden Zellen. Bei dem Übergang zur angiogenen Phase ändert sich Verhältnis zwischen positiven und negativen Wachstumsregulatoren von Blutgefäßen (FOLKMAN 1995b). Es werden proangiogene Faktoren wie VEGF freigesetzt, während die Expression der hemmenden Faktoren abnimmt (MARME 1996). So kann der Tumor Mikrogefäße bilden, Anschluss finden an das existierende Gefäßsystem und damit seine eigene Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen verbessern und durch die erhöhte Gefäßpermeabilität auch die lokale und metastatische Ausbreitung erleichtern (LIOTTA et al. 1974; FOLKMAN 1990; FOLKMAN 1996; MARME 1996; O'REILLY et al. 1996; FERRARA und DAVIS-SMYTH 1997; SKOBE et al. 1997; MANIWA et al. 1998; MCNAMARA et al. 1998). Gleichzeitig kommt es durch VEGF zu einer Hemmung der antigenpräsentierenden dendritischen Zellen, zu einer Verschiebung der T-/B-Lymphozyten zugunsten der B-Lymphozyten (GABRILOVICH et al. 1998; ISHIDA et al. 1998)

und so zu einer Verminderung der Tumorzellentdeckung durch das Immunsystem (ALMAND et al. 2000). Die ebenfalls durch VEGF verursachte Chemotaxis und Aktivierung von Monozyten scheint sich positiv auf die Tumorentwicklung auszuwirken (CLAUSS et al. 1990; BARLEON, SOZZANI et al. 1996). Doch nicht nur Hypoxie ist der auslösende Faktor für die VEGF-Produktion von Tumorgewebe (NEUFELD et al. 1999), auch die Mutation bestimmter Tumor-Suppressorgene kann möglicherweise zu einer forcierten Angiogenese führen (KIESER et al. 1994; MUKHOPADHYAY et al. 1995; SIEMEISTER et al. 1996), obwohl dies nicht in allen Untersuchungen nachvollzogen werden konnte (PLATE et al. 1994).

Die Inhibition von VEGF durch monoklonale Antikörper ist in der Lage, das Wachstum verschiedener Tumorgewebe in vitro und in vivo zu hemmen (KIM et al. 1993; GERBER et al. 2009). Tumoren, die viel VEGF produzieren, zeigen eine schnellere Angiogenese und ein expansiveres Wachstum als Tumoren aus Zelllinien, die wenig VEGF bilden (CLAFFEY und ROBINSON 1996), und führen somit zu einem schlechteren Outcome der Patienten (BERGER et al. 1995).

Die permeabilitätssteigernde Wirkung von VEGF ist möglicherweise ein an malignen Ergüssen und tumorassoziiertem Aszites beteiligter Faktor (SENGER et al. 1983; NAGY et al. 1989; DONOVAN et al. 1997; LUO et al. 1998).

4.2.2. VEGF in Tumorgewebe

In der Humanmedizin wurden Gewebe diverser Tumoren auf VEGF und seine Rezeptoren untersucht. In den Zellen endometrialer Karzinome (CHARNOCK-JONES et al. 1993; ANTHONY et al. 1996) (im Gegensatz zu Zellen aus benignen endometrialen Hyperplasien) (GUIDI et al. 1996) konnte eine gesteigerte Expression nachgewiesen werden, ebenso wie in Tumorzellen anderer Herkunft (DVORAK et al. 1991; BERSE et al. 1992) wie aus Ovar (OLSON et al. 1994; BOOCOCK, CHAROCK-JONES et al. 1995; ABU-JAWDEH et al. 1996), Zervix (GUIDI et al. 1995), Brust (TOI et al. 1994; BROWN et al. 1995a; ANAN et al. 1996; GREENBERG und RUGO 2010), Schilddrüse (VIGLIETTO et al. 1995), Gastrointestinaltrakt (BROWN et al. 1993a; WERTHER et al. 2002; CHIN et al. 2003; SVENDSEN et al. 2004) incl. Ösophagus (INOUE et al. 1997) und Leber (SUZUKI et al. 1996), Niere (BROWN et al. 1993b), Harnblase (BROWN et al. 1993b), Lunge (MATTERN et al. 1996), Vestibularapparat (CAYE-THOMASEN et al. 2005), Angiomen im Kopf-/Nackenbereich (CAI et al. 2010) und ZNS (PLATE et al. 1992; BERKMAN et al. 1993; SAMOTO et al. 1995). In Gliomazellen kommt die Expression der VEGF-Rezeptoren nicht bei gesunden Erwachsenen vor, jedoch im entarteten Zustand (PLATE et al. 1994). Unbestritten ist die Beteiligung von VEGF an der Vaskularisation von Tumoren, inwiefern jedoch andere

Angiogenesefaktoren eine obligatorische Rolle spielen, ist bisher ungeklärt, da Angiogenese in Tumorgewebe ein komplexes Geschehen darstellt (FOLKMAN und SHING 1992; FIDLER und ELLIS 1994; MCNAMARA et al. 1998).

4.2.3. VEGF in Serum, Plasma und Thrombozyten

Die Bestimmung der Serum-VEGF-Konzentration bei Tumorpatienten wurde erstmals 1994 beschrieben, sie erfolgte mittels eines Enzym-Immunoassay (KONDO et al. 1994). Seitdem entstanden viele Untersuchungen, die sich mit dem erhöhten Serum- (YAMAMOTO et al. 1996; DIRIX et al. 1997; SALVEN et al. 1997a; SALVEN et al. 1997b; KITAMURA et al. 1998; KUMAR et al. 1998; SALVEN et al. 1998; TEMPFER et al. 1998; CHEN et al. 1999; GADDUCCI et al. 1999; GRAEVEN et al. 1999; LI et al. 1999; MIYAKE et al. 1999; MOLICA et al. 1999; SALGADO et al. 1999; SALVEN et al. 1999b; SATO et al. 1999; JONES et al. 2000; QIAN et al. 2000; TAKEDA et al. 2000; WERTHER et al. 2000; BECKER et al. 2001; POON et al. 2001b; WERTHER et al. 2001; CHIN, GREENMAN et al. 2003; HARLOZINSKA et al. 2004) bzw. Plasmagehalt (HYODO et al. 1998; JINNO et al. 1998; DUQUE et al. 1999; DAVIES et al. 2000; YOSHIKAWA et al. 2000) oder beidem (WYNENDAELE et al. 1999; GEORGE et al. 2000; HORMBREY et al. 2003) von VEGF bei Patienten mit verschiedenen neoplastischen Erkrankungen beschäftigten. Neben der Produktion von VEGF durch Tumorzellen erfolgt die Freisetzung proangiogener Faktoren auch aus aktivierten Thrombozyten, die durch Bildung von Mikrothromben den metastatischen Zellen die Möglichkeit zur Adhäsion bieten (KORTE 2000). Außerdem entstehen durch expansives Tumorwachstum Gefäßschäden, die auch wiederum zu der Aktivierung von Thrombozyten und damit zur Freisetzung von VEGF führen (GASIC 1984; MAHALINGAM et al. 1988; MALONEY et al. 1998; HORMBREY et al. 2003).

Bei Patienten mit malignen Erkrankungen werden höhere Gesamtthrombozytenzahlen bzw. VEGF-Gehalte in Thrombozyten gemessen (VERHEUL et al. 1997; SALGADO et al. 1999; SALVEN et al. 1999a). In einer Untersuchung wird die mittlere VEGF-Konzentration mit $0,56 \text{ pg}/10^6$ Thrombozyten im Vergleich zu $0,3 \text{ pg}/10^6$ Thrombozyten bei gesunden Probanden angegeben (WYNENDAELE et al. 1999). In anderen Studien wurden $2,51 - 2,39 \text{ pg}/10^6$ Thrombozyten gemessen (GUNSILIUS et al. 2000) bzw. ein theoretischer Gehalt von $0,16 - 3,64$ (Median $1,37$) $\text{pg}/10^6$ Thrombozyten errechnet, der desto höher liegt, je mehr Interleukin-6 im Serum der Patienten vorhanden ist (SALGADO et al. 1999). In einer anderen

Untersuchung wurden 0,16 – 4,96 (Median 1,39) pg/10⁶ Thrombozyten ermittelt (VERMEULEN et al. 1999).

In einer Untersuchung wurde die VEGF-Konzentration von gesunden Menschen und Tumorpatienten in Serum, in Plasma in verschiedenen antikoagulatorischen Medien, in thrombozytenarmem Plasma und in thrombozytenreichem Plasma nach Thrombozytenaktivierung bestimmt. Die VEGF-Konzentration war in allen Medien bis auf das thrombozytenreiche Plasma signifikant höher in der Patientengruppe, zur Unterscheidung von den gesunden Probanden eignete sich am besten das thrombozytenarme Plasma (WYNENDAELE et al. 1999).

Eine andere Studie zeigte eine deutliche Korrelation der Thrombozytenzahl mit der Plasma-VEGF-Konzentration, die bei Patienten mit hepatozellulären Karzinomen, nicht jedoch bei Patienten mit chronischer Hepatitis, Leberzirrhose und der gesunden Kontrollgruppe bestand (JINNO et al. 1998). Auch in anderen Untersuchungen bestand diese Korrelation, wenn maligne Erkrankungen vorlagen (BANKS et al. 1998; O'BYRNE et al. 1999; SALGADO et al. 1999; VERMEULEN et al. 1999; GEORGE et al. 2000).

Bei Patienten mit malignen Mesotheliomen wurden im Vergleich zu Patienten mit kolorektalem oder Brustkrebs zweifach höhere VEGF-Konzentrationen im Serum gemessen (KUMAR-SINGH et al. 1997). Bei Mesotheliom-Patienten liegt eine besonders hohe Inzidenz an Thrombozytose vor (NAKANO et al. 1998). Einige Autoren vertreten die Theorie, dass Thrombozyten zirkulierendes VEGF aufnehmen und speichern (GEORGE et al. 2000), bisher bleibt es aber eine Vermutung.

Es scheint weiterhin ein Zusammenhang zu bestehen zwischen hohen VEGF-Konzentrationen im Serum von Patienten mit verschiedenen Tumorerkrankungen und einem verkürzten rezidivfreien Intervall bzw. einer verkürzten Überlebenszeit, so dass die präoperative VEGF-Konzentration als guter Prognosefaktor geeignet zu sein scheint (SALVEN et al. 1997b; SALVEN et al. 1998; GADDUCCI et al. 1999; SALVEN et al. 1999b; WERTHER et al. 2001; WERTHER et al. 2002b; CHIN et al. 2003). Patienten mit kolorektalen Tumoren und weniger als 575 pg/ml Serum-VEGF wiesen ein längeres krankheitsfreies Intervall auf als Patienten mit einem darüberliegenden Wert (WERTHER et al. 2002b). Bei Brustkrebspatienten gab es einen signifikanten Zusammenhang zwischen hohen Plasma-VEGF-Konzentrationen und einem verkürzten Überlebensintervall und einer verringerten rezidivfreien Zeit (WU et al. 2002; NAKAMURA et al. 2003). Einige Untersuchungen zeigten eine positive Korrelation zwischen VEGF-Konzentration und Schwere der Erkrankung bezogen auf Malignitätskriterien des Tumors bzw. Ansprechen auf Therapie (DIRIX et al. 1996;

YAMAMOTO et al. 1996; DIRIX et al. 1997; HYODO et al. 1998; KUMAR et al. 1998; KRAFT et al. 1999; OEHLER und CAFFIER 1999; GEORGE et al. 2000).

Es bleibt schwierig, einen direkten Zusammenhang zwischen Tumorverhalten und VEGF-Werten in Serum oder Plasma herzustellen. Zum einen kann die lokale Kumulation des VEGF dabei nicht berücksichtigt werden. So zeigte eine Studie eine um mehr als 900% höhere VEGF-Konzentration in der Wundflüssigkeit als im Blut nach Brustoperationen, was eine Gewebebarriere vermuten lässt (HORMBREY et al. 2003). Zum anderen stellt Angiogenese ein komplexes Funktionsgeschehen dar (HANNAHAN und FOLKMAN 1996) und schon geringe, nicht-signifikante Erhöhungen der VEGF-Konzentration können das Wachstum von Mikrometastasen einleiten, wenn das Gleichgewicht zugunsten der Angiogenese kippt (MANIWA et al. 1998), indem Angiogenese hemmende Faktoren gleichzeitig supprimiert werden (FOLKMAN 1995a).

Andere bioaktive Substanzen, die im Zusammenhang mit Tumorstromatisierung untersucht wurden und zum Teil synergistisch mit VEGF wirken, sind zum Beispiel Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) (GOLD et al. 1994; DIRIX et al. 1997; SALGADO et al. 1999), Transforming Growth Factor- β (TGF- β) (GOLD et al. 1994; HARMAY et al. 1998; CHIN et al. 2003), Transforming Growth Factor- α (TGF- α) (MUYLLE und PEETERMANS 1994; SANTINI et al. 1994; ANAN et al. 1996), Epidermal Growth Factor (EGF) (SANTINI et al. 1994), Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) (GARCIA et al. 1994; ANAN et al. 1996), Hypoxia-Inducible Faktor 1 α (HIF-1) (ZHONG et al. 1999; COUVELARD et al. 2005a), YKL-40 (CINTIN et al. 1999; CINTIN et al. 2002), Carcinoembryonic Antigen (CEA) (HOLTEN-ANDERSEN et al. 2006), Soluble Urokinase-Plasminogen-Aktivator (STEPHENS et al. 1997; BRÜNNER et al. 1999; STEPHENS et al. 1999; RIISBRO et al. 2001), IL-6 (MUYLLE und PEETERMANS 1994; SALGADO et al. 1999; BENOY et al. 2002) und Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) (ANAN et al. 1996), außerdem Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 (TIMP-1) (HOLTEN-ANDERSEN et al. 2000; HOLTEN-ANDERSEN et al. 2002b; HOLTEN-ANDERSEN et al. 2004; HOLTEN-ANDERSEN et al. 2006; MOLLER SORENSEN et al. 2006) und Plasminogen-Aktivator Inhibitor (PAI) als hemmende Faktoren der Angiogenese (NIELSEN et al. 1998). Im Gegensatz zu den Untersuchungen mit VEGF liegen zu den anderen Faktoren weniger Daten vor und ihre klinische Relevanz scheint begrenzt zu sein (POON et al. 2001a).

4.2.4. Einfluss von Chirurgie, Chemo- und Bestrahlungstherapie, therapeutische Optionen

Da in Bezug auf die Angiogenese bei der Wundheilung und bei Tumoren viele Prozesse gleich ablaufen, bieten chirurgische Wundgebiete Tumorzellen ein günstiges Medium

(EGGERMONT et al. 1987; EGGERMONT et al. 1988; DA COSTA et al. 1996). Die erhöhte Konzentration von angiogenen Faktoren ist in den ersten 7 Tagen postoperativ im Wundsekret nachzuweisen (NISSEN et al. 1996; NISSEN et al. 1998). Mäuse zeigen nach Laparotomie im Vergleich zu Mäusen, die laparoskopiert wurden, ein stärkeres Tumorwachstum (DA COSTA et al. 1996). In Anastomose- und Laparotomiewunden besteht für neoplastische Zellen innerhalb einer bestimmten Frist eine im Vergleich zu normalem Gewebe 1000fach höhere Wahrscheinlichkeit, zu Mikrometastasen zu werden (SKIPPER et al. 1989). Wie operative Eingriffe kann auch die Translokation von Endotoxinen und Lipopolysacchariden z.B. durch eine Laparotomie eine erhöhte VEGF-Expression bedingen (PIDGEON et al. 1999; NIELSEN et al. 2001). Ein weiterer Aspekt der verbesserten Situation für Mikrometastasen nach chirurgischen Eingriffen ist die Produktion von angiostatischen Zytokinen wie Angiostatin und Endostatin durch den Primärtumor, die nach dessen Entfernung als Hemmung der Angiogenese wegfällt (FOLKMAN 1995a). Es konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass Patienten, die aufgrund von Lungenmetastasen operiert wurden, anschließend einen Anstieg der VEGF-Serumkonzentration mit Peak nach 12 Stunden aufwiesen, der eine mehr als dreifache Erhöhung im Vergleich zu der Messung unmittelbar postoperativ darstellte (33,1 +/- 19,9 pg/ml im Vergleich zu 10,8 +/- 2,8 pg/ml unmittelbar postoperativ und 12,9 +/- 3,9 pg/ml präoperativ) (MANIWA et al. 1998). In einem zweiten experimentellen Teil der Studie lassen intravenös verabreichte Mikrotumoren bei Mäusen, die sich als schlafende Mikrometastasen in der Lunge etablierten, unter VEGF-Einfluss ein starkes Wachstum erkennen, was die Autoren als Erklärung der hohen Rate von 10% an Patienten, die sekundäre Lungenmetastasen entwickelten, vermuten. Dass das chirurgische Trauma die VEGF-Konzentration in Plasma und Serum erhöht unabhängig von der Art der Operation, zeigten Untersuchungen, in denen auch Patienten, die aufgrund benigner Erkrankungen operiert wurden, diesen Anstieg 4-6 Stunden postoperativ und nach 14-20 Stunden wieder normale Werte aufwiesen (GEORGE et al. 2000).

Die Bestrahlung von Tumoren kann die VEGF-Expression in verschiedenen Tumorgeweben verstärken (GORSKI et al. 1999), eine erhöhte VEGF-Konzentration korreliert mit einer verminderten Effizienz von Bestrahlungstherapie bei fortgeschrittenem Zervixkarzinom (LONCASTER et al. 2000), da VEGF endotheliale Zellen vor bestrahlungsinduzierter Apoptose schützt (VEIKKOLA et al. 2000). Umgekehrt kann durch eine Blockade von VEGF durch neutralisierende Antikörper der Antitumor-Effekt der ionisierenden Strahlung erhöht werden, sogar deutlicher als es die additive Wirkung von Bestrahlung und VEGF-Neutralisation erwarten lassen würde (GORSKI et al. 1999).

Auch die Effizienz einer Chemotherapie kann durch hohe VEGF-Werte eingeschränkt werden (HYODO et al. 1998; SALVEN et al. 1998).

So wie untersucht wird, ob bei Gefäßbildungsstörungen VEGF therapeutisch genutzt werden kann (FERRARA und DAVIS-SMYTH 1997; BURNOUF et al. 2010), gibt es Überlegungen, bei der Tumorthherapie selektive Angiogenese-Inhibitoren einzusetzen, die direkt angiostatisch wirken wie Angiostatin und Endostatin (O'REILLY et al. 1996; O'REILLY et al. 1997) oder indirekt wie Thalidomid, Tamoxifen, Interferon-alpha 2b, AGM-1470 oder Matrixmetalloproteinase- oder Thyrosinkinasehemmer (MANIWA et al. 1998; GASPARINI 1999; BRASTIANOS und BATCHELOR 2009). Eine Schwierigkeit stellt dabei die Möglichkeit von Tumoren dar, ihren angiogenen Phänotyp während der Therapie umzustellen (LINDER et al. 1998; MOSERLE et al. 2009), aber als Ergänzung zu Chirurgie, Chemo- und Bestrahlungstherapie könnte sich eine solche Strategie als sinnvoll erweisen (MCNAMARA et al. 1998; KORPANTY et al. 2010). Neuere Ansätze stützen sich auf die Expression künstlicher Transkriptionsfaktoren, die in hypoxischem Milieu, also in hypoxischen Tumoren, die VEGF-Expression unterdrücken sollen (MORI et al. 2010). Auch Augenerkrankungen wie die altersbedingte Makuladegeneration durch Neovaskularisation scheint eine Indikation für VEGF-Inhibitoren zu sein (FERRARA 2009).

Dennoch ist es zur Zeit noch schwierig, die Patientengruppe zu definieren, die von einer solchen Anwendung profitiert, sowie ein Vorgehen zu entwickeln, den Therapieerfolg kontrollieren zu können (MURUKESH et al. 2010).

4.2.5. Untersuchungen in der Veterinärmedizin

Bei einer Untersuchung an Hunden war der VEGF-Anstieg nach Bestrahlung erst ab einer gewissen kumulativen Dosis signifikant (WERGIN et al. 2004). Eine andere Untersuchung zeigte eine höhere Effizienz der Bestrahlungstherapie bei einer Plasmakonzentration von VEGF <5pg/ml (WERGIN et al. 2006). Das Tumorverhalten scheint dabei in Zusammenhang mit der Oxygenierung des Tumorgewebes zu stehen (ACHERMANN et al. 2004). Je höher die Dichte der Mikrogefäße ausgeprägt ist, desto besser ist die Oxygenierung und desto geringer ist die VEGF-Expression (COUVELARD et al. 2005b).

Es gibt verschiedene veterinärmedizinische Studien, in denen die Plasma-VEGF-Konzentration bei Hunden mit Tumoren bestimmt wurde. Bei der Untersuchung von 30 Hunden mit makroskopisch sichtbaren inoperablen Tumoren lagen 10 Hunde unter dem Referenzwert von 1pg/ml, die mittlere Konzentration betrug 7,7 +/- 11,1pg/ml. Die höchsten Konzentrationen wurden bei Melanomen bestimmt, auch Karzinome und Osteosarkome

wiesen hohe Werte auf, geringe Konzentrationen zeigten Hunde mit Fibrosarkomen. Es lagen jedoch keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Histologie, Ausdehnung und Stadium des Tumors vor, die Autoren führten die geringe Patientenzahl und das fortgeschrittene Stadium der meisten Neoplasien als mögliche Erklärung an (WERGIN et al. 2004). Eine Studie derselben Autoren mit 70 Hunden kam zu signifikanten Unterschieden der VEGF-Konzentration in Abhängigkeit des Tumortyps. Es wurde eine mittlere Plasmakonzentration von 7,2 +/- 7,8 pg/ml ermittelt, orale Melanome als besonders aggressive Tumoren zeigten mit 12,4 pg/ml die höchste mittlere VEGF-Konzentration (WERGIN und KASER-HOTZ 2004). Auch andere Untersuchungen ergaben bei Hunden einen Zusammenhang zwischen der VEGF-Expression und der Schwere der Erkrankung, die sich in Histologie und Tumorstadium ausdrückt (MAIOLINO et al. 2000; RESTUCCI et al. 2002; GENTILINI et al. 2005; PLATT et al. 2006; WERGIN et al. 2006).

In einer Untersuchung wurde VEGF sowohl im Plasma als auch im Serum von gesunden Hunden und caninen Patienten mit Mammatumor bestimmt. Das VEGF im Plasma aller gesunder (n=19) und 13/28 Hunden mit Mammatumor lag unterhalb der Nachweisgrenze von 1 pg/ml, während die Serum-Konzentration nur bei 2 gesunden und einem Hund mit Tumor nicht nachweisbar war. Die Tumorpatienten wiesen einen medianen Plasma-Wert von 2,1 (<1 – 895,7) pg/ml und eine mediane Serum-Konzentration von 14,85 (<1 – 992,9) pg/ml auf. Die gesunden Hunde zeigten eine mediane Serum-Konzentration von 8,3 (<1 – 27,5) pg/ml. Sowohl im Plasma als auch im Serum lagen die VEGF-Werte der Hunde mit Tumoren signifikant höher als bei den gesunden Hunden. Zwischen der Patientengruppe mit benignen und der mit malignen Tumoren waren die Unterschiede ebenfalls signifikant. Zudem wurde eine Korrelation von hohen VEGF-Werten mit Tumorgöße und der postoperativen Entwicklung von Lungenmetastasen festgestellt (KATO et al. 2007).

Eine andere Studie beschäftigte sich mit der Serumkonzentration von VEGF bei gesunden Hunden, Hunden mit Tumoren und Hunden mit nicht-neoplastischen Erkrankungen. Von den gesunden Hunden konnte bei 3/44 (7%) eine VEGF-Konzentration oberhalb der unteren Referenzgrenze von 2,5 pg/ml nachgewiesen werden. Die Hunde mit Tumoren hatten bei 24/54 (44%) messbare VEGF-Konzentrationen im Bereich von 2,5 – 274 pg/ml, während von den 42 Hunden mit nicht-malignen Erkrankungen nur einer eine messbare Serumkonzentration von VEGF aufwies. Die Schwere der neoplastischen Erkrankung wurde in dieser Untersuchung jedoch nicht berücksichtigt (TROY et al. 2006).

Eine Studie an 60 Hunden mit verschiedenen Tumoren ermittelte eine mittlere Plasmakonzentration von 5,2 pg/ml. Die Patienten mit einem VEGF-Wert <5 pg/ml hatten ein

signifikant besseres Outcome als die Hunde mit Werten >5 pg/ml, wobei die Effekte unabhängig von Art und Stadium des Tumors waren (WERGIN et al. 2006).

In einer weiteren Studie wurden die VEGF-Konzentrationen von Patienten mit Hämangiosarkom mit denen gesunder Hunde verglichen (CLIFFORD et al. 2001). Das Hämangiosarkom ist eine maligne Neoplasie des Gefäßendothels, die mit einer Prävalenz von 0,3-2% aller caniner Tumoren beim Hund relativ häufig vorkommt. Die 17 gesunden Hunde wiesen bis auf einen Hund mit einer Plasmakonzentration von 17,7 pg/ml VEGF-Konzentrationen unterhalb des kleinsten messbaren Wertes von 1 pg/ml auf. Von 16 Hunden mit Hämangiosarkomen lagen 4 unterhalb des Referenzwertes, die mittlere Konzentration betrug 17,2 pg/ml mit einer Breite von $<1 - 66,7$ pg/ml. Es konnte keine Korrelation zwischen der VEGF-Konzentration und dem Tumorstaging, dem Hämatokrit, der Leukozyten- oder Thrombozytenzahl hergestellt werden. Bei einem Cutoff-Wert von 1 pg/ml betrug die Sensitivität für die Entdeckung eines Hämangiosarkoms 76,5%, die Spezifität 94,1%. Die Autoren gaben als Begründung für die relativ niedrigen VEGF-Werte eine mögliche Sensibilisierung des Hämangiosarkom-Gewebes gegenüber niedrigen VEGF-Konzentrationen zu bedenken. Auch dass VEGF₁₆₅ bei der Angiogenese in manchen Fällen nicht die Hauptrolle spielt, sondern diese durch andere Wachstumsfaktoren oder lokal wirkende VEGF-Isoformen gefördert wird, erscheint möglich (CLIFFORD et al. 2001).

Nach der subkutanen Applikation von caninen Hämangiosarkomzellen bei Mäusen wurden dort verschiedene Wachstumsfaktoren wie VEGF, deren Rezeptoren und Gene exprimiert (KODAMA et al. 2009).

Eine weitere Studie beschäftigt sich mit der VEGF-Konzentration in Körperhöhlenergüssen von 35 Hunden (CLIFFORD et al. 2002). Es wurden neoplastische und nicht-neoplastische Ergüsse von Perikard, Pleura und Peritoneum untersucht. In 37 von 38 untersuchten Ergussflüssigkeiten konnte VEGF nachgewiesen werden in einer medianen Konzentration von 754 (18-3669) pg/ml. Damit lag die Konzentration wesentlich höher als bei zuvor ermittelten Werten von gesunden Hunden (Median <1 , $<1-17,7$ pg/ml) und Hunden mit Hämangiosarkom (Median 17,2, $<1-66,7$ pg/ml). In der genannten Studie zeigten 4 Hunde mit Hämangiosarkom eine wesentlich geringere VEGF-Konzentration im Plasma als im Erguss. Perikardiale und pleurale Flüssigkeiten wiesen signifikant höhere Werte auf als abdominale Ergüsse. Es gab keine Unterschiede zwischen benignen und malignen Ergüssen und keine Korrelation zwischen VEGF-Werten und Zellzahl, Proteingehalt oder Flüssigkeitsmenge.

Andere Untersuchungen, die sich mit der VEGF-Expression in verschiedenen caninen Tumoren beschäftigen, lassen diese als prognostischen Faktor möglich erscheinen

(ANDERSON et al. 1998; MAIOLINO et al. 2000; RESTUCCI et al. 2002; PLATT et al. 2006; ROSSMEISL et al. 2007).

4.3. VEGF in Blutkonserven

VEGF wird nicht nur von endothelialen und muskulären Zellen von Blutgefäßen, Fibroblasten und Tumorzellen exprimiert, die Produktion und Freisetzung erfolgt auch durch bestimmte Leukozytenfraktionen (BERSE et al. 1992; FREEMAN et al. 1995) und Thrombozyten z.B. physiologisch während der Blutgerinnung (MÖHLE et al. 1997; VERHEUL et al. 1997; BANKS et al. 1998; MALONEY et al. 1998; WARTIOVAARA et al. 1998; WEBB et al. 1998; SALGADO et al. 1999; SALVEN et al. 1999a; VERMEULEN et al. 1999; WELTERMANN et al. 1999; WYNENDAELE et al. 1999; GUNSILIUS et al. 2000; LEE et al. 2000).

Die VEGF-Konzentration in Thrombozyten gesunder Menschen wird in einer Untersuchung mit 0,3 bzw. 0,56 pg/10⁶ Thrombozyten angegeben (BANKS et al. 1998; WYNENDAELE et al. 1999).

Während der Lagerung von Blut oder Blutkomponenten werden durch den Zerfall verschiedener Zellen, in erster Linie Leukozyten und Thrombozyten, diverse bioaktive Substanzen freigesetzt, zudem findet durch Leukozyten auch die Produktion von Zytokinen statt, die extrazellulär kumulieren (FREWIN et al. 1984; STACK und SNYDER 1994; STACK et al. 1995; EDVARSDEN et al. 1996; NIELSEN et al. 1996a; NIELSEN 1998; REID et al. 1999).

In einer Studie wurde die VEGF-Konzentration nach 35tägiger Lagerung verschiedener humaner Blutpräparate gemessen. In Vollblut stieg der Wert von 35,86 pg/ml auf 126,9 pg/ml, das Ergebnis bei thrombozytenreichem Plasma war vergleichbar, die Untersuchung von leukozytenreichem Plasma, erythrozytenreichem Plasma und zellfreiem Plasma ergab jedoch einen Abfall von Median 35,86 pg/ml auf nichtmessbare Werte nach 15tägiger Lagerungsdauer (PATEL 2002).

Eine andere Untersuchung beschäftigte sich ebenfalls mit der VEGF-Konzentration in verschiedenen Blutprodukten wie Vollblut (VB) gefiltert und ungefiltert, Blut in Salin-Adenin-Glukose-Mannitol (SAGM) nach Entfernung des Buffy coats, thrombozytenreichem Plasma (PRP) und Thrombozytenkonzentrat aus dem Buffy coat (BC-PC) (NIELSEN et al. 1999). Für die Bestimmung des Gesamtgehalts wurden Proben der jeweiligen Blutkonserve verdünnt und fünfmal eingefroren und aufgetaut, um eine vollständige Zellzerstörung zu erreichen. Ungefiltertes SAGM-Blut enthielt 25,3 (3,3-48,4) ng VEGF pro Konserve, nach Filtration lag die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze, ebenso gefiltertes VB. Ungefiltertes VB enthielt 141,9 (64,4-174,9) ng pro Konserve, gefiltertes und nicht gefiltertes

PRP enthielt 29,2 (24,8-124,9) bzw. 28,7 (24,5-118,6) ng VEGF pro Konserve, nicht-gefiltertes BC-PC 127,2 (54,6-198,0) ng/Konserve, nach Filtration 73,9 (50,4-128,4) ng pro Konserve. Eine signifikante Akkumulation von VEGF trat während der 35tägigen Lagerung von VB und SAGM-Blut und im BC-PC im Lagerungsverlauf über 5 Tage ein.

Auch in durch Apherese gewonnenen Thrombozytenpräparaten findet ein Anstieg der VEGF-Konzentration statt (KANTER et al. 2008).

Weiterhin wurde in einer Untersuchung der Anstieg von VEGF (durchschnittlich um 118 pg/ml) und der Abfall von Endostatin als Zeichen einer Imbalanz angiogener Faktoren bei Empfängern von leukozytenreduzierten Erythrozytenpräparaten 24 Stunden nach Ende der Transfusion bestimmt (PATEL et al. 2004). Dieser Effekt zeigte sich bei 73% bzw. 70% der Patienten und war besonders deutlich, wenn 2 oder mehr Konserven verabreicht worden waren. Zudem zeigte sich eine Steigerung der Angiogenese in in vitro Assays. Die Konserven waren durchschnittlich 12 Tage alt.

Die Erhöhung der VEGF-Konzentration in Blutprodukten im Verlauf der Lagerung ist vermutlich in erster Linie auf den Zerfall von Thrombozyten zurückzuführen. Zwar enthalten auch neutrophile Granulozyten hohe Konzentrationen an VEGF (NIELSEN et al. 1999), doch zeigte sich in Konserven, deren Buffy coat entfernt worden war, eine stärkere Akkumulation von VEGF von Tag 0 nach der Präparation bis Tag 3, obwohl der Gesamtleukozytengehalt und der prozentuale Anteil an neutrophilen Granulozyten geringer war als in Konserven, die eine Apheresetechnik durchliefen (EDVARSEN et al. 2001).

Neben Immunsuppression und erhöhtem Risiko für postoperative Infektionen gehört auch ein schlechteres Outcome von Tumorpatienten zu den negativen Folgen von Bluttransfusionen, die diskutiert werden (siehe Kapitel 2.3.1.4). Experimentelle Studien belegen, dass Leukozyten und von ihnen freigesetzte bioaktive Substanzen mitotische Zellaktivität und das Wachstum von Tumoren anregen können (HOH et al. 1990; BLAJCHMAN et al. 1993). In einer Studie konnten vergleichbare VEGF-Konzentrationen, die sich in einer einzigen Buffy coat-depletierten Thrombozytenkonserve nach 7 Tagen Lagerung befanden, experimentell metastatische Prozesse stimulieren (MANIWA et al. 1998).

In humanmedizinischen Studien konnte gezeigt werden, dass Tumorpatienten, die im perioperativen Zeitraum eine Bluttransfusion erhielten, ein signifikant höheres Risiko, an einem Rezidiv zu erkranken, bzw. ein verkürztes Überlebensintervall aufwiesen (TARTTER 1992; BUSCH et al. 1993; HOUBIERS et al. 1994a; MAETA et al. 1994; AMATO und PESCATORI 1998; EDNA und BJERKESET 1998b; MYNSTER et al. 2000; WERTHER et al. 2001). Das Überlebensintervall war im Vergleich von Patienten, die autologe Blutprodukten erhielten,

mit denen, die allogene Konserven bekamen, ebenfalls verkürzt (BUSCH et al. 1993; MYNSTER und NIELSEN 2000). Worauf genau diese Effekte zurückzuführen sind und inwiefern VEGF eine Rolle spielt, kann noch nicht im Detail festgelegt werden, jedoch scheint eine Herabsetzung der Immunantwort in Kombination mit der Freisetzung von bioaktiven Substanzen aus Leukozyten und Thrombozyten wichtig zu sein (GAFTER et al. 1992; JENSEN et al. 1992; MAETA et al. 1994; JETER und SPIVEY 1995; NIELSEN 1995; DZIK et al. 1996; MYNSTER et al. 1998; NIELSEN 1998). Somit ist wahrscheinlich auch das Lagerungsintervall der Blutkonserve mitentscheidend (MYNSTER et al. 1998). So zeigte eine Studie eine steigende mitogene Aktivität von gelagerten Blutprodukten ab Tag 1 mit einem Plateau nach 2 Wochen Lagerung (HOH et al. 1990).

Eine Untersuchung ergab eine Korrelation der Überlebensrate mit dem perioperativen Erhalt von Blutprodukten für Patienten mit rektalen Tumoren (WERTHER et al. 2001). Bei Patienten mit Kolonkarzinomen bestand jedoch kein Zusammenhang. Die Autoren geben als mögliche Erklärungen an, dass Patienten mit rektalen Tumoren mehr Blut erhielten und zudem meist präoperativ transfundiert wurden, während die Patienten mit Kolontumoren die Blutprodukte eher intra- und postoperativ erhielten. Nachweislich bedingten präoperative Transfusionen einen höheren präoperativen VEGF-Wert, der in dieser und in anderen Studien mit einer schlechteren Prognose korrelierte (GADDUCCI et al. 1999; SALVEN et al. 1999; WERTHER et al. 2001; WERTHER et al. 2002b; CHIN et al. 2003). Bluttransfusionen sind dabei nur einer von verschiedenen Faktoren wie die Entfernung des angiogenesehemmenden Primärtumors, das chirurgische Trauma mit der anschließenden Wundheilung und die Präsenz von bakteriellen Bestandteilen, die den postoperativen VEGF-Wert beeinflussen und dadurch zu einem besseren Milieu für Mikrometastasen führen können (WERTHER et al. 2001).

Auch in der Tiermedizin ist Anämie und damit die Erforderlichkeit einer Transfusion in Verbindung mit Tumorerkrankungen beschrieben (MADEWELL und FELDMAN 1980; OLVER 2006).

5. Leukozytenfilter

5.1. Gründe für den Einsatz

5.1.1. Allgemeines

Die erste Erwähnung findet sich 1962, als der Leukopak Filter von Baxter zur Vermeidung febriler Transfusionsreaktionen eingeführt wurde (GREENWALT et al. 1962). Seit November 1999 werden diese Filter in Großbritannien flächendeckend eingesetzt, als unmittelbarer Auslöser dafür ist die neue Variante der Creutzfeld-Jakob Erkrankung (CJD) zu sehen.

Länder wie Irland, Frankreich, Portugal und Canada folgten, etwas später unter anderem auch die USA, die Schweiz, die Niederlande und Deutschland (WILLIAMSON 2000). Zwar ist die Übertragung der Prionen über transfundierte Leukozyten nicht gesichert, jedoch wurde befürchtet, dass sich junge gesunde Blutspender in der Inkubationszeit der neuen Variante der CJD befinden könnten, zumal 15% der in Großbritannien erkrankten Personen nachweislich Blut gespendet hatten (ESMONDE et al. 1993).

Vor diesen neuen Überlegungen wurden nur die Konserven gefiltert, die für besonders gefährdete Patienten gedacht waren (BRAND 1994b). Die Filtration fand in den frühen 90ern vornehmlich während der Verabreichung des Blutproduktes statt (WILLIAMSON et al. 1994), während heutzutage der Filter in erster Linie vor der Lagerung der einzelnen Komponenten eingesetzt wird.

Viele Studien beschäftigten sich mit den Unterschieden zwischen der Anwendung von Filtersystemen vor und nach der Lagerung von Blut oder Blutkomponenten (DZIK et al. 1992; DZIK 1994a; LEDENT und BERLIN 1994b; MUYLLE und PEETERMANS 1994; STACK und SNYDER 1994). Eine Studie zeigte dabei, dass qualitativ lediglich das etwas höhere Endvolumen des vor Auftrennung und Lagerung gefilterten Blutes einen deutlichen Unterschied darstellt, Leukozyten- und Thrombozytenreduktion sowie das Vorhandensein diverser Gerinnungsfaktoren war vergleichbar (RIGGERT et al. 1995). Auch qualitativ wurden in einer Studie mit Thrombozytenpräparaten weder in vitro noch in vivo signifikante Unterschiede zwischen vor der Lagerung gefilterten und nicht gefilterten Konserven festgestellt (DZIK et al. 1992; SWEENEY et al. 1995). In einem Tiermodell konnte gezeigt werden, dass Filtration vor der Lagerung eine längere Überlebensrate der Spenderthrombozyten zur Folge hatte als die Filtration nach der Lagerung (BLAJCHMAN et al. 1992). Eine andere Untersuchung zeigte eine signifikant geringere Anzahl an febrilen Transfusionsreaktionen bei Filtration vor der Lagerung im Vergleich zu der Gruppe, die nach der Lagerung filtrierte Thrombozyten- und Erythrozytenkonzentrate erhielten (FEDEROWICZ et al. 1996). Auch andere Autoren sprechen sich für die Filtration vor der Lagerung aus, da so die Freisetzung von Zytokinen aus Leukozyten verhindert wird (BORDIN et al. 1994a; SPROGOE-JAKOBSEN et al. 1995; NIELSEN et al. 1996a).

The American Association of Blood Banks (AABB) definiert leukozytenreduzierte Erythrozytenpräparate als weniger als 5×10^6 Leukozyten pro Einheit enthaltend (WIDMAN 1991).

Die International Society of Blood Transfusion (ISBT) gründete die Arbeitsgruppe Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST), die Richtlinien für die Beurteilung und

Kontrolle von leukozytenreduzierten Blutprodukten aufstellte (DUMONT et al. 1996). Darin wird die gemeinsame Verantwortung von Hersteller und Anwender der leukozytenreduzierenden Filter- oder Apheresesysteme betont. Neben der effektiven Leukozytendepletion stellen auch der Verlust an Erythrozyten und Thrombozyten zu beurteilende Qualitätsmerkmale dar.

5.1.2. Bioaktive Substanzen

Bioaktive Substanzen wie Interleukine, die vornehmlich von Leukozyten gebildet werden, waren in der Humanmedizin einer der Gründe, Leukozytenfilter einzuführen, so dass die Häufigkeit bestimmter Komplikationen verringert werden konnte (HEDDLE und BLAJCHMAN 1995; JENSEN und KISSMEYER-NIELSEN 1996; UPILE et al. 2008). Der Anstieg der Konzentration bestimmter Zytokine während der Lagerungszeit kann durch Filtration oder Entfernung des Buffy coats vor der Lagerung tatsächlich verhindert werden, wobei die Zytokinkonzentration in Erythrozytenpräparaten von vornherein geringer ist als in Thrombozytenkonserven (MUYLLE und PEETERMANS 1994; STACK und SNYDER 1994; STACK et al. 1995; HAMMER et al. 1997; NIELSEN et al. 1997; HAMMER et al. 1999). Allerdings gibt es eine Untersuchung, in der nach der Verabreichung von Blutprodukten, in denen kaum Leukozyten enthalten waren, eine erhöhte Serumkonzentration von VEGF feststellbar war, vermutlich durch die Freisetzung aus Thrombozyten (PATEL et al. 2004). Eine andere Untersuchung ergab eine Verhinderung des VEGF-Anstiegs während der Lagerung, die Autoren sehen die Begründung in dem Filtersystem, das nicht nur Leukozyten, sondern auch einen erheblichen Anteil der enthaltenen Thrombozyten entfernt (NIELSEN et al. 1999).

5.1.3. Übertragung von Infektionserregern

5.1.3.1. Viren

Ein weiterer großer Aspekt ist die Übertragung von Infektionserregern durch die Verabreichung von Transfusionen. Der Sepacell R-500CS-Filter von Hemonetics Corporation Brain-Tree, USA, der laut Beschreibung >99,5% der Granulozyten und >99% der Lymphozyten aus der Blutkonserve entfernt, führt zu der Entfernung von Zytomegalieviren aus dem Blut positiv getesteter Spender. Dies konnte anhand von PCR-Untersuchungen bei fünf Konserven nachgewiesen werden (SMITH et al. 1993). Auch andere Studien zeigen den Effekt der Leukozytenreduktion auf die Übertragungsrate von CMV (MURPHY et al. 1988; GILBERT et al. 1989; BOWDEN et al. 1991; EISENFELD et al. 1992; BOWDEN 1995; BOWDEN et al. 1995; WU et al. 2010). Bei der Verabreichung von Blutkomponenten an CMV-seropositive

Herztransplantationspatienten infizierten sich aus der Gruppe, die nicht-leukozytenreduzierte Konserven erhielt, 14 von 36 Patienten (43%), während sich von den 17 Personen, denen gefilterte Konserven verabreicht worden waren, niemand infizierte (THOMPSON et al. 1992). The Council of Europe, The American Association of Blood Banks und The British Committee for Standards in Hematology setzt zur Sicherung von zytomegalievirusfreien Blutprodukten die Methode der Leukozytendepletion vor der Auftrennung der Spendertestung gleich (WILLIAMSON 2000). Dennoch werden die Screeningtests nach wie vor routinemäßig durchgeführt. In einer Studie konnte die Übertragung trotz Leukozytenreduktion nachgewiesen werden (BOWDEN et al. 1995). Allerdings fand die Filtration erst nach der Lagerung statt, und Untersuchungen haben gezeigt, dass CM-Viren lediglich in gelagerten Blutprodukten, wenn ein Teil der Leukozyten bereits fragmentiert ist, nicht aber in frischen Konserven nachweisbar sind (JAMES et al. 1997).

Auch die Übertragung anderer zellassoziierter Viren wie EBV oder HTLV I/II scheint durch die Filtration verhindert werden zu können, während das Ergebnis bei HIV-infizierten Konserven unbefriedigend ausfiel (BRUISTEN et al. 1990). Andererseits konnte eine Leukozytenreduktion die Virusreaktivierung bei HIV-positiven Empfängern verhindern (MINTZ 1991; KLEIN 1992). Diese Beobachtung wird gestützt durch eine Untersuchung an HIV-infizierten Zellkulturen, bei denen durch die Zugabe von allogenen Leukozyten, nicht jedoch durch den Zusatz von Erythrozyten oder Thrombozyten, die Virusexpression stimuliert werden konnte (BUSCH et al. 1992). Ein Argument für den Einsatz eines Filtersystems bei jeder Konserve und nicht nur bei Konserven, die z.B. HIV-positiv getesteten Patienten zugeordnet sind, ist die relativ hohe Anzahl an Menschen, denen ihre HIV- oder sonstige Virusinfektion nicht bekannt ist.

5.1.3.2. Bakterien

Die Übertragung von Bakterien kann verhindert werden, wenn den Leukozyten vor der Entfernung eine 2-8stündige Frist gewährt wird, in der die Bakterien phagozytiert werden können, bei Thrombozytenpräparaten empfiehlt sich allerdings eine frühzeitige Filtration (NUSBACHER 1992; BLAJCHMAN et al. 1994).

Ohne Leukozytenreduktion kann das Vorliegen einer Kontamination bis zu einer gewissen Lagerungsdauer, nach der die Leukozyten fragmentieren und die phagozytierten Bakterien frei geben, verschleiert werden (HÖGMAN 1993). Auch die Entfernung freier Bakterien mittels Leukozytenfilter erscheint möglich (AUBUCHON und PICKARD 1993; BLAJCHMAN et al. 1994),

Filtration vor der Lagerung vermindert bakterielles Wachstum in den Präparaten (WENZ et al. 1992; BUCHHOLZ et al. 1994).

Bei routinemäßiger Filtration vor der Lagerung sollte das Auftreten febriler Transfusionsreaktionen einen eindeutigeren Hinweis auf das Vorliegen einer bakteriellen Kontamination liefern, da die Wahrscheinlichkeit, dass Leukozyten und/oder Zytokine die Ursache darstellen, relativ gering ist (WILLIAMSON 2000).

5.1.4. Mikroaggregate

Auch dass die Infusion von Mikroaggregaten, die während der Lagerung von Blutpräparaten entstehen, verhindert wird, wird als Argument für die Verwendung von Filtern angeführt (BRAND 1994b). Diese bestehen aus Thrombozyten, Leukozyten und Fibrin und sind zu klein, als dass die Übertragung durch die Verwendung von Standardfiltern während der Verabreichung des Blutes verhindert werden könnte. Inwiefern diese Aggregate klinisch relevant sind und z.B. mit dem Auftreten von pulmonären Mikroembolien einhergehen, ist jedoch nicht eindeutig geklärt.

5.1.5. Febrile Transfusionsreaktionen, Alloimmunisation und Thrombozytenrefraktion

Eine konventionelle humane Erythrozytenkonserve enthält durchschnittlich etwa $2-5 \times 10^9$, eine Thrombozytenkonserve ca. 4×10^7 Leukozyten (MILLER und MINTZ 1995).

Das Auftreten febriler Transfusionsreaktionen sowie die Alloimmunisierung, die definiert ist als das Vorhandensein von antiHLA- oder anderen Leukozytenantikörpern im Plasma des Empfängers, kann durch eine Reduktion auf weniger als 5×10^8 Leukozyten verringert (ANDREU et al. 1988; SNIĘCINSKI et al. 1988; SAARINEN et al. 1990; VAN MARWIJK KOOIJ et al. 1991; KLEIN 1992) und durch eine Reduktion auf weniger als 5×10^6 Zellen vermutlich sogar verhindert werden (OKSANEN et al. 1991; VAN MARWIJK KOOIJ et al. 1991; BRAND 1994b). Voraussetzung ist, dass die Filtration vor der Lagerung erfolgt, da andernfalls das Risiko mit zunehmender Lagerungsdauer zunimmt, doch die Mehrzahl der Studien zeigt die positiven Effekte durch Leukozytendepletion (MANGANO et al. 1991; HEDDLE et al. 1993; MUYLLE und PEETERMANS 1994; WILLIAMSON et al. 1994; FEDEROWICZ et al. 1996; KILLICK et al. 1997). Andere Autoren sehen nur einen kleinen positiven Effekt durch die Leukozytenreduktion vor allem bei Thrombozytenkonserven auf die Rate der Transfusionsreaktionen (MANGANO et al. 1991; GOODNOUGH et al. 1993) oder schreiben der Leukozytendepletion durch Entfernung des Buffy coats einen größeren Effekt als durch Filtration zu vor allem bei Anwendung vor der Lagerung (OKSANEN et al. 1994). Zu der

erstgenannten Untersuchung muss erwähnt werden, dass die Filtration der Thrombozytenpräparate erst während der Transfusion erfolgte (GOODNOUGH et al. 1993). Auch die gefürchtete Zerstörung von körpereigenen und transfundierten Thrombozyten nach Transfusion kann durch Leukozytenreduktion vermindert werden (SCHIFFER 1991), insbesondere, wenn sie vor der Lagerung erfolgt (BLAJCHMAN et al. 1992). In einer Studie konnte das Vorkommen der Thrombozytenrefraktion durch den Einsatz von leukozytenreduzierten Thrombozytenkonserven von 22 auf 3% gesenkt werden (OKSANEN und ELONEN 1993), andere Autoren berichten von ähnlichen Erfolgen (NOVOTNY et al. 1995). Die Thrombozytenrefraktion stellt mit den febrilen Transfusionsreaktionen die bekannteste Komplikation dar, die zusammen bei bis zu 50% der Empfänger auftreten und zum größten Teil auf HLA zurückzuführen sind (BORDIN et al. 1994b). Allerdings treten Alloimmunisation, febrile Transfusionsreaktionen und Thrombozytenrefraktion als Reaktion trotz Leukozytenreduktion bei bis zu 10-15% der Empfänger von Blutpräparaten auf (EERNISSE und BRAND 1981; ANDREU et al. 1988; SNIJCINSKI et al. 1988; SAARINEN et al. 1990; OKSANEN et al. 1991; VAN MARWIJK KOOIJ et al. 1991; WILLIAMSON et al. 1994; DZIECZKOWSKI et al. 1995; NOVOTNY et al. 1995; TRAP 1997). Dies ist wahrscheinlich unter anderem auf die antiHLA-Antikörper zurückzuführen, die auf Klasse I HLA reagieren, welches von Thrombozyten exprimiert wird, jedoch im Vergleich zu dem der Leukozyten wesentlich schwächer ist (MINTZ 1991). Die Begründung liegt darin, dass Thrombozyten lediglich Klasse I HLA exprimieren, während bei Leukozyten Klasse I und II HLA entstehen, die von derselben Zelle exprimiert einen starken Stimulus zur Produktion von Alloantikörpern darstellen (LANE et al. 1992; MILLER und MINTZ 1995). In einer der oben genannten Studien wurde das Blut allerdings erst nach der Lagerung gefiltert (WILLIAMSON et al. 1994). Somit stehen auch von Leukozyten freigesetzte Substanzen in Verdacht, zur Thrombozytenrefraktion beizutragen (MUYLLE und PEETERMANS 1994; STACK und SNYDER 1994). Die Konzentration an HLA verändert sich jedoch nicht im Verlauf der Lagerung (DZIK et al. 1994), so dass es sich bei den beteiligten Plasmakomponenten um Zytokine wie Interleukine und Tumornekrosefaktor und andere bioaktive Moleküle handeln dürfte (MUYLLE et al. 1992; HEDDLE et al. 1994). Die Konzentration von IL-6 in leukozytenreduziertem thrombozytenreichen Plasma korrelierte stark mit dem Auftreten febriler Transfusionsreaktionen (MUYLLE et al. 1996). Eine Studie zeigte, dass sowohl die Entfernung des Buffy coats als auch die Verwendung von Leukozytenfiltern vor der Lagerung den Anstieg von IL-1 β , IL-6, IL-8 und TNF in Konserven nach 5 Tagen Lagerung gleichermaßen verhindert (FLEGEL et al. 1995). Andere Untersuchungen kamen zu ähnlichen

Ergebnissen (MUYLLE et al. 1993; STACK und SNYDER 1994; AYE et al. 1995; FEDEROWICZ et al. 1996).

Plasmalösliche Moleküle scheinen der Grund dafür zu sein, dass durch Leukozytendepletion allergischen Transfusionsreaktionen nicht vorgebeugt werden kann (ANDERSON et al. 1991b; FEDEROWICZ et al. 1996), allerdings gibt es auch eine Untersuchung, in der die Reduktion allergischer Reaktionen gelang (MUYLLE et al. 1996).

Ältere Studien, in denen noch eine wenig effektive Leukodepletion angewendet wurde, zeigen schlechtere Ergebnisse in Bezug auf den Effekt der Leukozytenreduktion auf Thrombozytenalloimmunisation und Thrombozytenzerfall im Vergleich mit neueren Studien, die einen höheren Grad an Leukozytenreduktion erreichen (MILLER und MINTZ 1995). Vielleicht ist neben den HLA der Thrombozyten und den präformierten Antikörpern durch frühere Transfusion oder Schwangerschaft der Grad der Leukozytenreduktion durch konventionelle Filter noch immer nicht ausreichend für besonders kritische Patienten (SEMPLE et al. 1999).

Bei einer prospektiven Untersuchung auf die Konzentration von antiHLA-Antikörpern, Abfall der Thrombozytenzahlen und febrilen Transfusionsreaktionen bei Patienten, die an einer malignen hämatologischen Erkrankung litten und Erythrozyten- und Thrombozyten-Präparate erhielten, führte eine Filtration nach der Lagerung zu einer verminderten Ausbildung von antiHLA-Antikörpern (WILLIAMSON et al. 1994). Diese war besonders deutlich bei Patienten mit akuter Myeloid-Leukämie, jedoch auch hier nicht signifikant. Ein Unterschied in Bezug auf febrile Transfusionsreaktionen oder Thrombozytenzerfall konnte nicht festgestellt werden.

Eine andere Studie, in der Frauen mit akuter Leukämie und vorangegangenen Schwangerschaften Thrombozytentransfusionen erhielten, kam zu ähnlichen Ergebnissen (SINTNICOLAAS et al. 1995). Obwohl hier die Filtration innerhalb von 36 Stunden nach Abnahme des Blutes erfolgte, zeigte die Gruppe der Frauen, die gefilterte Konserven bekamen, keine signifikant geringere Rate an Thrombozytenzerfall und der Konzentration an antiHLA-Antikörpern. Die letztgenannte Studie zeigte außerdem, dass sich die Antikörper schneller entwickeln und Thrombozytenzerfall öfter auftritt bei Frauen mit vorangegangenen Schwangerschaften als bei Frauen, die nie schwanger waren. Daraus ergibt sich eine Risikogruppe für die Entwicklung von Transfusionsreaktionen. Fraglich bleibt, ob die wenigen verbliebenen Leukozyten für die Wiedererkennung und damit für die Bildung der Antikörper verantwortlich sind oder Leukozytenfragmente, die in Plasmapräparaten enthalten sein können.

Auch der Freisetzung von Histamin während der Lagerung von Blutkomponenten und damit dem Vorkommen von allergischen Reaktionen auf Transfusionen kann durch den Einsatz von Leukozytenfiltern vorgebeugt werden (FREWIN et al. 1991).

5.1.6. Graft-Versus-Host Disease

Die Graft-Versus-Host Disease (GVHD) kann durch 10^5 Leukozyten (BRAND 1994b) bzw. 10×10^6 Leukozyten (ANDERSON und WEINSTEIN 1990) ausgelöst werden, bei gefährdeten Patienten schon durch 10^4 Leukozyten /kg Körpergewicht des Empfängers (KLEIN 1992). Es wurde auch ein Fall von GVHD beschrieben, in dem der Patient ausschließlich leukozytenreduzierte Blutkomponenten erhielt (AKAHOSHI et al. 1992). Die Beurteilung von Transplantationspatienten ist in diesem Zusammenhang schwierig, da sie unter dem Einfluss starker immunsuppressiver Medikamente stehen (BRAND 1994b), jedoch scheint die effektivste Methode zur Prophylaxe der GVHD in der Bestrahlung zu bestehen (WALKER 1993). In der Humanmedizin wird bei besonderer Indikation (siehe Kap. 2.2.1.4.) mit 30 Gy bestrahlt (BUNDESÄRZTEKAMMER Novelle 2005).

Bei Hunden hat sich darüber hinaus die Bestrahlung mit ultraviolettem Licht als wirkungsvoll erwiesen (DEEG et al. 1989).

5.1.7. Immunsuppression

Einige Studien belegen, dass die Konzentration der für die in Kap. 2.3.1.4. beschriebenen Vorgänge mitverantwortlich gemachten Zytokine in gelagerten Blutkonserven im Verlauf der Lagerung ansteigt, nicht aber in leukozytenreduzierten Präparaten (DZIK et al. 1992; MUYLLE und PEETERMANS 1994; FLEGEL et al. 1995).

Eine Studie wies eine frühe postoperative Lymphopenie bei orthopädischen Patienten nach der Verabreichung von 3 oder mehr Einheiten Erythrozytenkonzentrat nach, die bei nicht-transfunden Patienten und solchen, die vor der Lagerung gefilterte Konserven erhielten, nicht auftrat (BORDIN et al. 1999).

Die suppressive Wirkung von Transfusionen auf das Immunsystem des Empfängers ist umso deutlicher, wenn Spender und Empfänger über ein gleiches HLA (human leukocyte antigen) verfügen (LAGAAY et al. 1989), da dieses zu einer Verringerung der spenderspezifischen T-Zell-Antwort führt, wenn durch manuelles Abklemmen ca. 70% der Leukozyten entfernt werden (VAN TWUYVER et al. 1991). Findet jedoch eine Entfernung von >97% durch ein

kommerzielles Filtersystem statt, um einer HLA-Alloimmunisation vorzubeugen, ist dieser Effekt, der sich positiv auf Transplantationspatienten auswirken würde, nicht mehr nachweisbar (VAN PROOIJEN et al. 1995).

Allerdings ist von einer bewusst ausgelösten Immunsuppression durch die Verabreichung einer nicht-gefilterten Blutkonserve dringend abzuraten (BRAND 1994b).

Bei Patienten, denen Stammzellen transplantiert wurden, scheint leukozytenreduziertes Blut dagegen zu einer besseren Annahme der fremden Zellen und zu einer Verbesserung der Überlebensrate zu führen (HEISS et al. 1993).

5.1.8. Postoperative Infektionen

Transfusionen ziehen eine erhöhte Rate an postoperativen Infektionen nach sich (VAMVAKAS und MOORE 1994; BORDIN und BLAJCHMAN 1995) und viele Studien beschäftigen sich mit dem Einsatz von Filtern und dessen Auswirkung (JENSEN et al. 1992; BUSCH et al. 1993; HEISS et al. 1993; JENSEN und KISSMEYER-NIELSEN 1996; HOUBIERS et al. 1997; TARTTER et al. 1998; VAN DE WATERING et al. 1998). In einem Mausmodell wurde die Auswirkung der Transfusion von Erythrozyten, Leukozyten und Plasma auf die bakterielle Translokation aus dem Darm, die Überlebensrate der translozierten Bakterien und die Mortalitätsrate durch Infektionen verglichen. Dabei zeigte sich, dass Leukozyten die Komponente in transfundiertem Blut darstellen, die für adverse Effekte auf die Abwehrkräfte des Empfängers gegen mikrobielle Translokation aus dem Darm verantwortlich ist, mit einer entsprechend niedrigen Überlebensrate (GIANOTTI et al. 1993).

In verschiedenen Berichten wurden Gruppen verglichen, von denen die eine Erythrozytenkonzentrat erhielt, bei dem der Buffy coat entfernt worden war, die andere gefiltertes Erythrozytenkonzentrat (HOUBIERS et al. 1994b; JENSEN und KISSMEYER-NIELSEN 1996; HOUBIERS et al. 1997). Als einander widersprechende Ergebnisse ist festgestellt worden, dass sowohl die Entfernung des Buffy coats als auch die Filtration einer erhöhten postoperativen Infektionsrate durch Transfusion vorbeugt bzw. eine vergleichbare erhöhte Rate im Vergleich zu nicht-transfunden Patienten bedingen (HOUBIERS et al. 1997). Andererseits zeigten beide Gruppen eine erhöhte Rate im Vergleich zu nicht-transfunden Patienten, bei der Verabreichung gefilterter Konserven jedoch geringer als bei Präparaten, deren Buffy coat entfernt wurde (JENSEN und KISSMEYER-NIELSEN 1996).

In einer Studie konnte ein positiver Effekt auf Überlebensrate oder postoperative Infektionsrate durch Leukozytendepletion nicht nachgewiesen werden (HOUBIERS et al. 1994a), doch andere Autoren kritisierten die Untersuchung, in erster Linie wegen des

multizentrischen Ansatzes und der damit verbundenen hohen Anzahl an Variablen (HEISS et al. 1994b; JENSEN 1994). Um das Argument, dass Empfänger von Blutkonserven aufgrund der Schwere ihrer Grunderkrankung eine höhere Rate an postoperativen Wundinfektionen aufweisen, zu entkräften, wurden Patienten in zwei Gruppen eingeteilt, von denen die erste autologe und die zweite allogene Blutprodukte erhielt (MURPHY et al. 1991). Die Gruppe, der körpereigene Transfusionen verabreicht wurden, wies eine Infektionsrate von 3% auf, die zweite Gruppe dagegen eine Rate von 32%. Auch die Anzahl der verabreichten Konserven spielt eine Rolle (AGARWAL et al. 1993; JENSEN und KISSMEYER-NIELSEN 1996). So wurde festgestellt, dass die Verabreichung von mehr als 3-4 Einheiten leukozytenreduzierten Blutes eine vergleichbare Infektionsrate nach sich zieht wie die nach Erhalt einer Vollblutkonserve (EDNA und BJERKESET 1998a).

5.1.9. Tumorrezidive

In einer Studie wurde gezeigt, dass nach Verabreichung von nicht oder erst nach der Lagerung gefilterten Konserven im Tiermodell bei Mäusen und Kaninchen intravenös verabreichte Fibrosarkomzellen zu einer signifikant höheren Rate an pulmonären Metastasen führten als die Verabreichung von vor der Lagerung gefiltertem Blut (BORDIN et al. 1994a). In einer anderen Studie wurden Mäusen Milzzellen zuvor transfundierter Mäuse injiziert (BLAJCHMAN et al. 1993). Hatten die Spendermäuse ungefiltertes Blut erhalten, zeigte sich eine höhere Rate an pulmonären Metastasen als bei den Mäusen, deren Spendertiere mit gefiltertem Blut transfundiert worden waren.

Viele Untersuchungen zeigen eine erhöhte Tumorrezidivrate nach Transfusion ungefilterter Konserven im Vergleich zu der von Patienten, die gefiltertes Blut erhielten. Es gibt jedoch auch Studien, in denen dieser Effekt durch Filtration nicht zu erzielen war (BUSCH et al. 1993; HOUBIERS et al. 1994a). Die Autoren führen die Durchlässigkeit der Filter für Leukozytenfragmente als mögliche Ursache an, jedoch ist hier auch der Zeitpunkt der Filtration, die nach der Lagerung erfolgte, zu bedenken. Die transfusionsassoziierten Effekte auf das Tumorwachstum konnten im Tiermodell durch nach der Lagerung filtrierte Blut, jedoch nicht durch vor der Lagerung leukozytenreduzierte Konserven gezeigt werden (BORDIN et al. 1994a). Der Teil der Studien, der den Zusammenhang zwischen der Verabreichung eines ungefilterten Blutpräparates und einer erhöhten Tumorrezidivrate vermuten lässt, überwiegt deutlich (MILLER und MINTZ 1995).

Bei dem Vergleich von gefiltertem mit Buffy coat-reduziertem Blut konnte keine erhöhte Rate an Tumorrezidiven oder tumorbedingter Mortalität nachgewiesen werden (HOUBIERS et

al. 1994b). Eine andere Untersuchung kam sogar zu dem Ergebnis, dass die Verabreichung von gefiltertem Blut bei Leukämiepatienten zu einem längeren krankheitsfreien Intervall führt (OKSANEN und ELONEN 1993). Allogene Leukozyten sollen andererseits dem Graft-Versus-Leukemia-Effekt, der als Komplikation nach Knochenmarktransplantationen bekannt ist, vorbeugen. Positive Auswirkungen auf die Überlebensrate durch die Verabreichung von leukozytenreduzierten Blutkonserven konnten jedoch nicht nachgewiesen werden (MUYLLE et al. 1993). Eine Studie zeigte einen positiven Effekt durch Leukozytendepletion, der sich auf das mediane krankheitsfreie Intervall, die hämatologische Regeneration und eine geringere Infektionsrate nach Knochenmarktransplantation bezieht (OKSANEN und ELONEN 1993).

5.1.10. Weitere Aspekte

Ein weiterer Aspekt des Einsatzes von Leukozytenfiltern ist der erhöhte Grad der Adhäsion von Erythrozyten an endotheliale Zellen, der sich im Verlauf der Lagerung von nicht-leukozytenreduziertem Erythrozytenkonzentrat einstellt, jedoch nur in geringerem Maße nach Einsatz eines Filters (LUK et al. 2003). Bypass-Patienten haben eine signifikant höhere Mortalitätsrate, wenn sie ungefiltertes Blut erhalten (VAN DE WATERING et al. 1998), durch Filtration wird die Rate an Lungenschäden bei Operationen am offenen Herzen reduziert (KOMAI et al. 1994) und das Risiko des akuten Nierenversagens vermindert (ROMANO et al. 2010). Die Reperfusion von ischämischem Myokard in der Herzchirurgie führt zu weniger Nekrosen und zu einer verbesserten kardialen Funktion, wenn das Blut vor der Reperfusion durch einen Leukozytenfilter läuft (APPLEYARD und COHN 1993). Eine Meta-Analyse hat ergeben, dass besonders Patienten mit kardialer Operation ein schlechteres Outcome haben, wenn sie ungefilterte Ec-Konzentrate erhalten (VAMVACAS 2003).

Eine Untersuchung mit Frühgeborenen hat ergeben, dass die Kinder, die gefilterte Ec-Konzentrate erhielten, keine verminderte Rate an Bakteriämie oder Sterblichkeit aufwiesen als die Patienten, denen nicht-gefilterte Blutprodukte transfundiert wurden. Allerdings war die Rate an klinischen Komplikationen wesentlich geringer (FERGUSON et al. 2003).

5.1.11 Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die hohen Kosten, die durch die Verwendung von Filtern entstehen, durch die Verringerung von Transfusionsreaktionen, Infektionsübertragungen, Virusreaktivierungen und möglicherweise postoperativen Infektionen, Tumorrezidivraten und Verbrauch an Thrombozytenpräparaten (wegen der stärkeren Thrombozytenrefraktion nach Verabreichung ungefilterter Konserven) durchaus rechnen

(BRAND 1994b; BRAND 1994a; MILLER und MINTZ 1995; BLUMBERG und HEAL 1996; BLAJCHMAN 1999). So wurden in Großbritannien jährlich 40-50 Millionen Pfund für die Anschaffung von Filtern ausgegeben, zum Ausgleich dieser Summe würde ein Rückgang der postoperativen Infektionsrate um 1-2% genügen (MURPHY et al. 1998; WILLIAMSON 2000).

5.2. Unerwünschte Nebeneffekte

Unerwünschte Nebeneffekte durch die Filtration sind kaum beschrieben. Untersuchungen berichten allerdings von hypotensiven Reaktionen bei Patienten, die ACE-Hemmer und während der Verabreichung gefilterte Blutprodukte erhielten (HUME et al. 1996; MAIR und LEPARC 1998). Eine Erklärung bietet die Bindung und Aktivierung von Bradykinin durch die negativ geladene Filteroberfläche, dessen Katabolismus aufgrund der Medikation verlangsamt ist. Gestützt wird diese Theorie durch eine Studie, die eine Beeinflussung der Bradykinin- und Prekallikreinspiegel bei der Verwendung von Filtern mit negativ geladener Oberfläche zeigte, während die Werte bei dem Einsatz positiv geladener Filter unbeeinflusst blieben (SHIBA et al. 1997). Bei normaler Enzymaktivität findet der Abbau von Bradykinin durch Peptidasen so schnell statt (Halbwertszeit 15 sec), dass es nicht zu entsprechenden Reaktionen kommen kann. Auch bei der Verabreichung von vor der Lagerung gefilterten Komponenten finden wegen der Kurzlebigkeit von Bradykinin solche Zwischenfälle nicht statt.

Weiterhin wurde über ein „red eye syndrome“ berichtet, das mehr als 100 Patienten in den USA innerhalb weniger Stunden nach der Transfusion betraf. Die Pathogenese ist bisher nicht geklärt (Williamson 2000). Neu auftretende Komplikationen werden durch das Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Meldesystem gesammelt und jährlich veröffentlicht (WILLIAMSON 2000).

5.3. Leukozytenfilter bei Hunden

Über den Einsatz von Leukozytenfiltern bei Hunden liegt bisher nur eine einzige Studie vor, die zudem mit 5 Hunden eine geringe Probenzahl beinhaltet (BROWNLEE et al. 2000). Die Untersuchung zeigte die Effektivität von humanen Leukozytenfiltern durch Zellzählung vor und nach Filtration bei Raumtemperatur innerhalb von einer halben Stunde nach Entnahme und nach 4stündiger Kühlung bei 4°C. Die sofortige Filtration führte zu einer Leukozytenreduktion von \log_{10} , die Filtration nach der Kühlung zu einer Verminderung von 4 \log_{10} , so dass nach der Filtration von gekühltem Blut eine Einheit ca. 1×10^5 Restleukozyten enthielt. Die Dauer der Filterpassage betrug durchschnittlich 7 min bei frischem und 15,6 min bei gekühltem Blut, der Verlust an Blut lag unabhängig von der Temperatur bei 51-52 ml. In

der Humanmedizin beträgt der durchschnittliche Verlust bei Verwendung desselben Filtermodells nur 35ml, da nach der Filtration Luft in den ersten Beutel zurückgepresst wird, um das filtrierte Volumen zu erhöhen (RAPAILLE et al. 1997). Auch der Verlust an Thrombozyten zeigte keinen temperaturabhängigen Unterschied und lag bei $2 \log_{10}$. Die untersuchten Parameter lassen einen Einsatz ohne Qualitätseinbußen in Bezug auf Lebensfähigkeit der Erythrozyten, biochemische Eigenschaften und Lagerungsfähigkeit möglich erscheinen.

5.4. Technik

Eine Einheit Vollblut enthält etwa 3×10^9 Leukozyten, die sich zu 40-70% aus Granulozyten, zu 20-50% aus Lymphozyten, zu 2-10% aus Monozyten und <1% aus dendritischen Zellen zusammensetzen (BRAND 1994b). Die Trennung der Erythrozyten von den Leukozyten kann durch Waschung, Einfrieren nach Deglycerolisierung, Entfernung des Buffy coats nach Zentrifugation oder Mikroaggregatfiltration (zweite Filter-Generation) oder Adhäsion (dritte Filter-Generation, Tab. 1) erreicht werden (MERYMAN und HORNBLOWER 1986; LANE et al. 1992). Eine vierte Generation ist bereits entwickelt worden, routinemäßig werden gegenwärtig noch Filter der dritten Generation eingesetzt. Filter der 4. Generation entfernen 4 log der Leukozyten (TRINDADE et al. 2003).

Tabelle 1: Filter verschiedener Generationen (nach Lane, 1992)

Generation	Porengröße (microns)	Filtermechanismus	Bemerkungen
Erste	170-260	Siebfilter	Entfernt lediglich groben Debris, Standardfilter für alle Blutkomponenten
Zweite	20-40	Mikroporensiebfilter, Mikroaggregatfilter	Entfernt 75-90% der Leukozyten, nur für Erythrozytenpräparate geeignet
Dritte	Nicht zutreffend	Adhäsionsfilter, Adsorptionsfilter	Entfernt 99-99,9% der Leukozyten, für Erythrozyten- und Thrombozytenpräparate geeignet

Als Filtermaterial wurden Baumwolle, Zellulose-Acetat und Polyesterfasern entwickelt, die zum Teil gute bis sehr gute Ergebnisse erzielten (CALLAERTS et al. 1993). Heute finden synthetische Materialien wie Fleece aus Polyester, oberflächen-modifiziertes Polyester, Polyurethan oder Polypropylenfasern Anwendung (CALLAERTS et al. 1993).

Polyesterfilter wirken durch verschiedene Mechanismen, zum einen durch eine gewisse Siebfunktion, zum anderen durch direkte Adhäsion von Leukozyten an das Filtermaterial und besonders die Granulozyten betreffend durch indirekte Adhäsion an haftende Thrombozyten (STENEKER et al. 1992). Somit besteht neben der Temperaturabhängigkeit auch ein Zusammenhang zu der Anzahl an Thrombozyten, wodurch der Grad an Leukozytenreduktion beeinflusst wird (VAN DER MEER et al. 1999). Abhängig vom Material gibt es jedoch auch Filter, die Leukozyten entfernen und Thrombozyten passieren lassen (DZIK 1993).

Die Filtration kann an dem entnommenen Vollblut oder an den aufgetrennten Komponenten vor oder nach der Lagerung (bedside filtration) vorgenommen werden. Die heute eingesetzten Filter der dritten Generation entfernen dabei 3-4 log (99,9%) der Leukozyten. Die Depletion lässt unabhängig vom Hersteller weniger als 5×10^6 Leukozyten zurück, der Gehalt in Präparaten, die bei 4°C durch Polyesterfilter filtriert wurden ist jedoch noch geringer als wenn die Filtration bei Raumtemperatur erfolgte. Bei Polyurethanfiltern dagegen spielt die Temperatur keine Rolle, da sie durch ihre noch geringere Porengröße in erster Linie über die Siebfunktion und kaum über den Adhäsionsmechanismus wirken (VAN DER MEER et al. 1999). Weitere Einflussfaktoren können die Leukozytenzahl (STENEKER et al. 1993; KAO et al. 1995), der Plasmagehalt (LEDENT und BERLIN 1994a) und andere Eigenschaften (DUMONT et al. 1996) des zu filternden Blutes darstellen. Auch der Filtrationsdruck (LEDENT und BERLIN 1994b), die Zeitspanne zwischen Blutentnahme und Auftrennung in die einzelnen Komponenten (BOS et al. 1994) sowie der Grad an Turbulenzen in der Bremsphase der Zentrifuge und dem Transfer von der Zentrifuge zur Plasmapresse scheinen dabei eine Rolle zu spielen (CHAMPION und CARMEN 1985).

Bei der Filterung von Vollblut werden gleichzeitig etwa 2 log Thrombozyten entfernt, weshalb sich als alternative Technik die Entfernung der Leukozyten durch Apherese anbietet und auch genutzt wird (MOOG und MÜLLER 1999; WILLIAMSON 2000). Eine andere Alternative zur Filtration bietet die Bestrahlung z.B. mit UV-Licht zur Zerstörung der Leukozyten (ANDREU et al. 1988; BUCHHOLZ et al. 1988; MENITOVE et al. 1990; PAMPHILON und BLUNDELL 1992).

Als Vorteil der Filterung von Vollblut vor der Auftrennung in die einzelnen Komponenten zeigt sich der wesentlich geringere Verlust der Gesamtmasse, der bei jeder Filtration bis zu

10% beträgt (WILLIAMSON 2000). Der Verlust an Erythrozyten liegt zwischen 2 und 10%, der an Thrombozyten zwischen 5 und 20% (LANE et al. 1992).

Bei der Herstellung von thrombozytenreichem Plasma durch sanfte Zentrifugation verbleiben >80% dieser Zellen bei den Erythrozyten. In der Humanmedizin findet noch eine zweite Methode mit härterer Zentrifugation Verwendung, bei der je nach Weiterverarbeitung durch Entfernung des Buffy coats mittels Separation oder Extraktion 40% bzw. weniger als 20% der Leukozyten bei dem Erythrozytenkonzentrat verbleiben. In dem endgültigen Thrombozytenpräparat befinden sich schließlich $<10^7$ - 10^9 Leukozyten. Nach Filtration enthalten sowohl das thrombozytenreiche Plasma als auch das Erythrozytenkonzentrat weniger als 5×10^6 Leukozyten pro Einheit (BRAND 1994b). Die Filtration bewirkt keine Thrombozytenaktivierung, beugt jedoch auch Lagerungsschäden von Thrombozyten nicht vor (BERTOLINI et al. 1990; PEDIGO et al. 1993; METCALFE et al. 1997), wobei beachtet werden muss, dass Qualität und Anzahl verbliebener Leukozyten in Thrombozytenpräparaten stark variieren (SOWEMIMO-COKER et al. 1998).

Die Filtration von Vollblut oder Erythrozytenkonzentrat findet routinemäßig direkt nach der Entnahme oder nach einer Nacht bei 4°C statt, die Filtration von Thrombozytenpräparaten erfolgt während des Herstellungsprozesses am Tag nach der Abnahme (WILLIAMSON 2000).

Bei der Filtration von Blutprodukten kommen häufig Zellulose-Acetat-Filter zum Einsatz (Cellselect, NPBI, Emmer-Compascuum, The Netherlands). In einer Studie wird die Aktivierung der Thrombozyten verhindert, indem vor der Filtration der pH-Wert auf zwischen 6,5 und 6,8 gesenkt wird oder indem $12,5 \mu\text{g}$ Prostacyclin zugegeben werden (SINTNICOLAAS, et al. 1995).

Qualitätseinbußen der Erythrozyten und Thrombozyten durch die Filterpassage wurden nicht festgestellt (SWEENEY et al. 1995), durch die frühzeitige Entfernung der granulozytären Proteasen konnte sogar ein protektiver Effekt auf die Erythrozyten gezeigt werden (HEATON et al. 1997).

FFP kann vor der Separation als Vollblut oder durch spezielle Plasmafilter filtriert werden, wobei der Grad an verloren gehenden Gerinnungsfaktoren bis auf den Komplementfaktor C3a sehr gering ist (WILLIS et al. 1998; CARDIGAN et al. 1999a; CARDIGAN et al. 1999b).

Allerdings stellt die Überprüfung der Rate an Leukozytenreduktion ein Problem dar, weil viele Geräte wie elektronische Zellzähler, konventionelle Hämozytometer oder Flow Zytometrie Techniken für die Erfassung einer so geringen Anzahl nicht geeignet sind (MASSE et al. 1992). Dennoch sind Kontrollen notwendig, da die Depletion durch Filter in einigen

Fällen ineffektiv ist (BODENSTEINER 1994). Als sehr sensitiv hat sich die automatische volumetrische kapilläre Zytometrie erwiesen (ADAMS et al. 1997).

In der einzigen Studie zum Einsatz von Leukozytenfiltern bei Hunden wurde ein Entnahmesystem mit einem zusätzlichen Beutel verwendet, der Leukozyten und Thrombozyten einerseits durch Zurückhaltung mittels einer Barriere und andererseits durch Adsorption der Zellen an die Membran zurückhält. Der Masseverlust betrug durchschnittlich 52ml pro 450ml-Einheit, wobei der Hämatokrit kaum beeinflusst wurde. Die Erythrozytenzahl wurde jedoch nicht bestimmt (BROWNLEE et al. 2000).

III. Eigene Untersuchungen

1. Studiendesign

Die vorliegende Arbeit hatte als Teilziel, die Anreicherung von VEGF in caninen Blutkonserven zu untersuchen. Dazu wurden als Ausgangswerte Zitratplasmaproben von Blutspendern entnommen und mittels ELISA untersucht. Direkt nach der Auftrennung der Vollblutspenden wurde die VEGF-Konzentration in den Erythrozytenkonzentraten (Ec-Konzentraten) und im frisch gefrorenen Plasma (FFP) bestimmt. Ein Teil der Vollblutpräparate wurde vor der Auftrennung gefiltert, um zu untersuchen, ob durch Leukozytendepletion ein lagerungsbedingter Anstieg der VEGF-Konzentration in Ec-Konzentraten vermindert oder verhindert werden kann. In wöchentlichem Abstand über insgesamt 3 Wochen wurden Proben aus Aliquoten der Ec-Konzentrate entnommen und nach Zentrifugation untersucht. Die Untersuchung des FFP erfolgte bei allen Proben direkt nach der Auftrennung und bei je 2 Proben nach ca. 4 bzw. 6 Wochen, von denen jeweils eine Probe der 4 Wochen alten und der 6 Wochen alten Proben nicht-gefiltert und jeweils eine gefiltert worden war.

In einem zweiten Teil erfolgte die Messung von Plasma-VEGF bei 5 Patienten, die erstmals transfundiert wurden, vor und direkt nach der Transfusion sowie 6, 12 und 24 Stunden nach deren Ende. Da bei Hämangiosarkompatienten erhöhte VEGF-Werte zu erwarten waren, wurden weiterhin 8 Hämangiosarkom-verdächtige Patienten mit ultrasonographisch festgestellter rupturierter abdominaler Masse in Milz (n=7) oder Leber (n=1) untersucht, die weder transfundiert noch operiert worden waren. Die Messungen fanden in Plasma und soweit verfügbar im abdominalen Erguss statt.

2. Material und Methoden

2.1. Bestimmung der VEGF-Konzentration

Die Messungen der VEGF-Konzentration wurden im Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Potsdam durchgeführt. Verwendet wurde ein humanmedizinischer ELISA (VEGF, R&D Systems, Abingdon, UK), der bereits durch andere Studien zur Bestimmung von caninem VEGF etabliert wurde (CLIFFORD et al. 2001; CLIFFORD et al. 2002; WERGIN et al. 2004; WERGIN und KASER-HOTZ 2004; WERGIN et al. 2006).

Den Angaben des Herstellers entsprechend wurden 100 µl des Diluents in jede Kavität der Mikrotiterplatte gegeben, welche mit monoklonalem anti-VEGF-Antikörper versehen war. 100 µl der jeweiligen Plasmaprobe wurden hinzugefügt und 2 Stunden bei Raumtemperatur

inkubiert, um die Bindung zu ermöglichen. Für jede Probe wurden jeweils 2 Kavitäten angesetzt, später wurde automatisch ein Mittelwert gebildet. Nach dreimaliger Waschung mit Pufferlösung (Columbus-Washer, Firma Tecan, Männedorf, Switzerland) zur Entfernung des ungebundenen VEGF, wurden 200 µl eines polyklonalen anti-VEGF-Antikörpers hinzugegeben. Die folgende zweistündige Inkubationszeit bei Raumtemperatur diente zur Bindung des immobilisierten VEGF. Nach erneuter Waschung wurden 200 µl Enzymsubstrat zugegeben. Nach 25 min bei Raumtemperatur wurden 50 µl einer Stop-Lösung hinzugefügt. Anschließend erfolgte die Messung der optischen Dichte bei 490 nm (Mikroplate-Reader, Bio-Rad Model 680 XR, UK). Für jede Mikrotiterplatte wurde durch die Erstellung einer siebenstufigen Verdünnungsreihe automatisch eine Eichkurve erstellt. Die kleinste nachzuweisende Konzentration lag bei 9 pg VEGF/ml.

2.2. Untersuchung von Blutkonserven

2.2.1. Blutspender

Es wurden 10 Hunde im Zeitraum vom 03/2007 bis 09/2007 zufällig ausgewählt, die zur Blutspende in der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin vorgestellt wurden. Es waren 7 verschiedene große Rassen vertreten, darunter 2 Labrador Retriever und 2 Mischlinge. Das Alter betrug zwischen 2 und 11 Jahren (Median 6 Jahre). Von den 8 Hündinnen waren 3 kastriert, von den 2 Rüden einer. Das Körpergewicht lag zwischen 25 und 46 kg (Median 28 kg) (Tab. 2 und 3). Alle Spendertiere waren anamnestisch gesund und zeigten keine Auffälligkeiten bei der klinischen Untersuchung und keine Laborwertveränderungen in Hämatologie (Tab. 4 und 5) und klinischer Chemie. Die Hunde wogen mindestens 25 kg, waren nie im Ausland gewesen, bekamen in den letzten 3 Monaten vor der Spende und zum Zeitpunkt der Spende keine Medikamente ausser Antiparasitika, waren niemals selbst transfundiert worden und wurden regelmäßig geimpft und entwurmt.

Die Einteilung in Gruppe 1 und 2 ergab sich aus der Auftrennung der Vollblutspende ohne (Gruppe 1) bzw. mit Filtration (Gruppe 2). Die Auswahl der eingeschlossenen Blutspender erfolgte zufällig. Die Gruppeneinteilung ergab sich aus dem Vorstellungsdatum, da zunächst 5 ungefilterte Vollblutspenden (Gruppe 1) untersucht wurden. Das Probenschema beider Gruppen ist in Abbildung 1 dargestellt.

Tabelle 2 Signalement der Blutspender aus Gruppe 1, deren Vollblut nicht gefiltert wurde

	S1	S2	S3	S4	S5	Median
Rasse	Rottweiler	Hovawart	Neufundländer	Labrador Retriever	Labrador Retriever	
Alter (J)	6	7	8	2	2	6
Geschlecht	m	w	wk	w	w	
Gewicht (kg)	46	31	55	26	28	31
Blutgruppe	DEA 1.1 +	DEA 1.1 -	DEA 1.1 -	DEA 1.1 +	DEA 1.1 -	

S1 – S5: Spender 1 – 5; J: Jahre; kg: Kilogramm; m(k): männlich(kastriert); w(k): weiblich(kastriert); DEA: dog erythrocyte antigen

Tabelle 3 Signalement der Blutspender aus Gruppe 2, deren Vollblut gefiltert wurde

	S6	S7	S8	S9	S10	Median
Rasse	Golden Retriever	Border Collie	Golden Retr.- Mischling	DSH	Boxer-Mischling	
Alter (J)	11	6	4	7	3	6
Geschlecht	wk	w	w	wk	mk	
Gewicht (kg)	28	31	25	32	26	28
Blutgruppe	DEA 1.1 +	DEA 1.1 +	DEA 1.1 +	DEA 1.1 -	DEA 1.1 -	

S6 – S10: Spender 6 – 10; J: Jahre; kg: Kilogramm; Retr.: Retriever; DSH: Deutscher Schäferhund; m(k): männlich(kastriert); w(k): weiblich(kastriert); DEA: dog erythrocyte antigen

Die Leukozytenzahl der Spender lag zwischen 7,22 und 15,9 G/l (Median: 11,2), die der Erythrozyten zwischen 6,06 und 7,66 T/l (Median: 6,9). Der Hämatokrit reichte von 0,39 bis 0,51 l/l (Median: 0,46), der Hämoglobingehalt von 14,4 bis 17,6 mmol/l (Median: 16,4) und die Thrombozytenzahl von 256 bis 500 G/l (Median: 315).

Die Referenzwerte der Tabellen 4, 5, 7 und 10 entstammen der Dissertation von S. Roleff (ROLEFF 2005).

Tabelle 4 Hämatologische Parameter der Blutspender aus Gruppe 1, deren Vollblut nicht gefiltert wurde

	Referenz	S1	S2	S3	S4	S5	Median
Leukozyten (G/l)	5,6 – 14	12,9	7,22	13,2	11,2	10,1	11,2
Erythrozyten (T/l)	5,9 – 8,3	7,33	7,08	6,99	6,43	7,66	7,08
Hämatokrit (l/l)	0,42 – 0,56	0,48	0,46	0,47	0,44	0,51	0,47
Hämoglobin (mmol/l)	9,1 – 12,4	16,5	16,2	16,4	15,2	17,6	16,4
Thrombozyten (G/l)	165 – 400	496	407	312	317	256	317

S1 – S5: Spender 1 - 5

Tabelle 5 Hämatologische Parameter der Blutspender aus Gruppe 2, deren Vollblut gefiltert wurde

	Referenz	S6	S7	S8	S9	S10	Median
Leukozyten (G/l)	5,6 – 14	9,08	11,2	15,9	12,1	11	11,2
Erythrozyten (T/l)	5,9– 8,3	6,06	6,81	7,36	6,19	6,63	6,63
Hämatokrit (l/l)	0,42 – 0,56	0,42	0,44	0,47	0,39	0,45	0,44
Hämoglobin (mmol/l)	9,1 – 12,4	15,3	16,6	17,2	14,4	16,4	16,4
Thrombozyten (G/μl)	165 – 400	295	344	500	274	293	295

S6 – S10: Spender 6 - 10

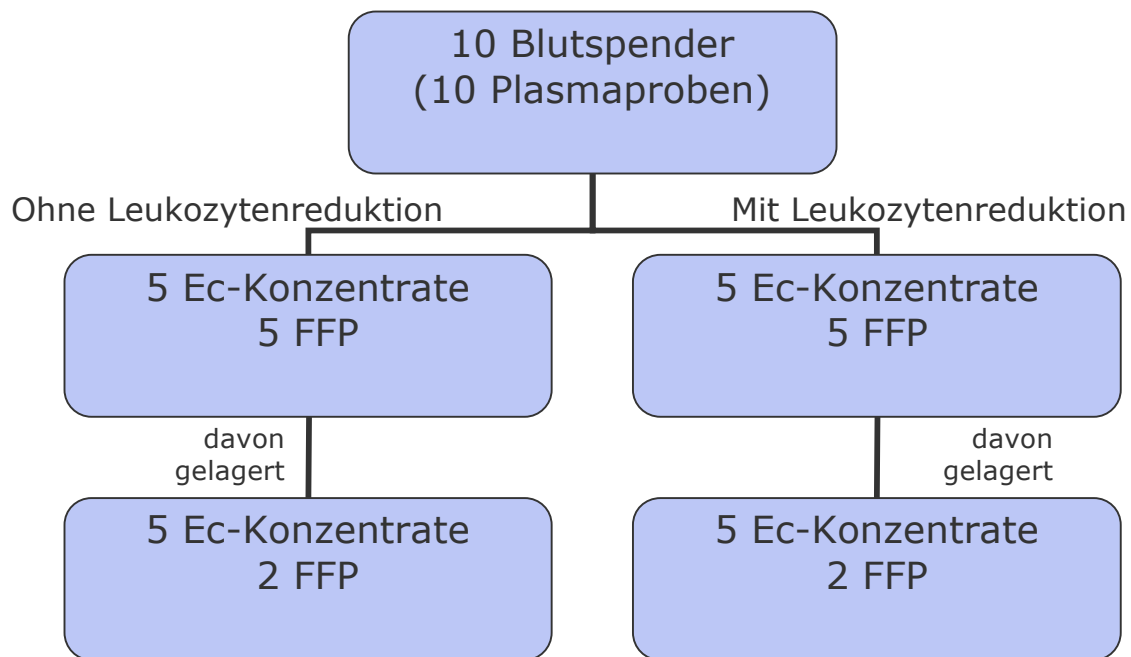


Abbildung 1 Probenentnahmeschema für die Messung der VEGF-Konzentration im Plasma von Blutspendern, nicht-gefilterten und gefilterten Ec-Konzentraten und FFP

2.2.2. Durchführung der Spende

2.2.2.1. Blutgruppenbestimmung

Die Blutgruppenbestimmung erfolgte mittels eines auf Agglutination beruhenden Schnelltestes (DiaMed Vet, 51120, DiaMed AG, Cressier s/Morat, Switzerland). Dazu wurde eine 5%ige Erythrozytensuspension mit dem dem Testsystem zugehörigen Diluent hergestellt und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden 12,5 µl der Suspension auf 2 Mikrotubes der Gel-Karte aufgetragen. Eines der beiden enthält Antikörper gegen DEA 1.1, das andere dient als Kontrolle. Durch Zentrifugation bilden nicht-agglutinierte Zellen ein Sediment, während agglutinierte Zellen an der Oberfläche bleiben. So kann zwischen DEA 1.1-positiven (Zellen sowohl im Sediment als auch an der Oberfläche) und -negativen Hunden (Zellen im Sediment und nicht an der Oberfläche) unterschieden werden.

2.2.2.2. Entnahme

Zur Entnahme der Blutspende wurde der Spender auf dem Behandlungstisch in Brust-Bauch-Lage manuell fixiert und am Hals geschoren und desinfiziert, bevor der Einstich in die Vena jugularis erfolgte (Abb. 2).

Bei der Spende wurden jeweils 10 ml Vollblut pro kg Körpermasse abgenommen, maximal jedoch 450 ml. Die Entnahme des Vollblutes erfolgte bei 5 Hunden mit einem 3-Beutel-System (Fenwal, PL 146, REF 6113, Baxter, Unterschleißheim) (Gruppe 1, Tab. 2, Abb. 3) und bei 5 Hunden mittels eines 4-Beutel-Systems mit integriertem Filter (PL 146, REF R8483, Baxter, Unterschleißheim) (Gruppe 2, Tab. 3, Abb. 6). Das Vollblut gelangte durch die Schwerkraft in den ersten Beutel, der 63 ml Citrat-Phosphat-Dextrose (CPD) als Antikoagulans und Erythrozytenstabilisator enthielt. Wurden weniger als 450 ml Blut gespendet, wurde vor der Spende die entsprechende Menge CPD aus dem Beutel abgelassen. Der sich füllende Beutel hing zur Kontrolle der entnommenen Menge an einer Federwaage (Pesola AG, Baar, Switzerland) und wurde, um eine Durchmischung mit dem Antikoagulans zu erreichen, vorsichtig geschwenkt. Bei Erreichen der zuvor errechneten Menge wurde die Nadel aus der Vene gezogen, die Punktionsstelle komprimiert, der Entnahmeschlauch incl. Kanüle mit dem daran befindlichen Plastikclip abgeklemmt und die Entnahmenadel entfernt. Die Filtration der Vollblutspenden der Gruppe 2 erfolgte unmittelbar vor der Auftrennung in Ec-Konzentrat und FFP (siehe Kap 2.2.3.).



Abb. 2 Durchführung der Blutspende



Abb. 3 3-Beutelsystem (Fenwal, PL 146, REF6113, Baxter, Unterschleißheim)

2.2.2.3. Auftrennung und Lagerung

Die Auftrennung des Vollblutes erfolgte direkt nach der Spende oder bis zu 2 Stunden später nach Aufbewahrung bei 4°C im Kühlschrank, die zu filternden Konserven wurden sofort weiterbehandelt. Die Auftrennung wurde mit einer Kühlzentrifuge (Cryofuge 6000, Thermo Fisher Scientific, Schwerte, Abb. 4) bei 3600 g über 15 min durchgeführt. Anschließend wurde das gesamte Plasma durch eine Plasmapresse (Fenwal Plasma Extractor FDR 4414, Travenol Laboratories, Lessines, Belgien, Abb. 5) über den Verbindungsschlauch in den dafür vorgesehenen Beutel geleitet. Der Verschluss des Plasmabeutels erfolgte mit einem Aluminiumclip, ebenso der des Beutels mit Ec-Konzentrat, nachdem das Additiv SAG-Mannitol hinzugefügt wurde. Nach Beschriftung der Konserven wurden die Beutel mit Ec-Konzentrat bis zu ihrem Verbrauch bei 4°C maximal 30 Tage und die FFP-Beutel bei -33°C maximal 1 Jahr gelagert.



Abb. 4 Kühlzentrifuge (Cryofuge 6000, Thermo Fisher Scientific, Schwerte)



Abb. 5 Plasmapresse (Plasma Extractor, FDR 4414, Traveno Laboratories, Lessines, Belgien)

2.2.3. Filtration

Die Filtration der Konserve erfolgte unmittelbar vor der Auftrennung des ungekühlten Vollblutes in Ec-Konzentrat und FFP direkt nach der Abnahme der Blutspende. Die Leukozytenreduktion fand mittels eines Polyesterfilters der 3. Generation (Sepacell RS-2000, Baxter, Unterschleißheim, Abb. 7) statt. Der Donorbeutel mit dem Blut und dem

Antikoagulans wurde an einem Haken befestigt, so dass der Filter und die nachfolgenden Beutel auf einer Länge von ca. 1 m frei hängen konnten (Abb. 8). Durch das Knicken einer integrierten Vorrichtung zwischen Donorbeutel und Filter wurde der Blutfluss durch den Filter ermöglicht.



Abb. 6 4-Beutelsystem mit integriertem Filter (PL 146, REF R8483, Baxter, Unterschleißheim)



Abb. 7 Leukozytenfilter (Sepacell RS-2000, Baxter, Unterschleißheim)



Abb. 8 Leukozytenfilter (Sepacell RS-2000, Baxter, Unterschleißheim) frei hängend während der Passage des Vollbluts

Das zwischen Filter und Zweitbeutel im Schlauch verbliebene Vollblut wurde zur Zellzahlanalyse genutzt. Die Zellzählung erfolgte mittels des CELL-DYN 3500 CS (Abbott, Wiesbaden), dessen Detektionsgrenzen bei der optischen Zählung für Leukozyten bei 0 bis 250 000 Zellen/ μ l und für Thrombozyten bei 0 bis 2 000 000 Zellen/ μ l liegen. Die Auftrennung in Komponenten wurde nach Abtrennung des Filters durch einen Aluminiumclip wie mit dem System ohne Filter durchgeführt (siehe Kap. 2.2.2.3.).

2.2.4. Probengewinnung und -bearbeitung

Die Messung von VEGF in Blutkomponenten erfolgte in FFP und Ec-Konzentrat in CPD + Additiv, da das die am häufigsten verwendeten Blutkomponenten sind (KOHN et al. 2000b). Als Ausgangswerte vor der Lagerung wurden Zitratplasmaproben der 10 Blutspender vor der Spende und Proben aus dem Ec-Konzentrat und dem noch nicht gefrorenen FFP direkt nach der Auftrennung herangezogen. Die Entnahme von 3 ml Vollblut der Spender erfolgte in Zitratröhrchen mit Zusatz von Theophyllin, Adenosin und Dipyridamin (Vacurette CTAD, Greiner Bio-One GmbH, Preanalytics, Essen, Abb. 9). Die Substanzen wirken maximal stabilisierend auf die Thrombozyten (WYNENDAELE et al. 1999; WERGIN et al. 2004).

Die Proben aus den gelagerten Blutpräparaten wurden in Röhrchen aus Plastik (Sarstedt AG&Co, Nümbrecht) ohne weiteren Zusatz gegeben, da sie bereits Antikoagulans enthielten. Zur Untersuchung der VEGF-Konzentration im Verlauf der Lagerung wurden Proben aus den 10 Ec-Konzentraten an Tag 0, 7, 14 und 21 entnommen und jeweils zweifach untersucht.

Die Entnahme der Probe aus den gelagerten Ec-Konzentraten erfolgte aus einem dem System zugehörigen Beutel, der nach dem Hinzufügen des Additivs befüllt wurde und in der Humanmedizin zur Durchführung von Kreuzproben genutzt wird. So war eine sterile Entnahme möglich, und die Konserve musste nicht bis zum Ende der Haltbarkeit zurückgehalten werden (Abb. 10). Die identische Konzentration von Antikoagulantien und Additiv war dadurch gewährleistet, dass die Abtrennung erst nach dem Hinzufügen des Additivs durch ein steriles Umfüllen erfolgte. Die Aufbewahrung von Blutkonserve und Aliquot fand bei 4°C unter gleichen Bedingungen in demselben Kühlschrank statt, beide wurden regelmäßig während der Lagerungszeit geschwenkt.

Nach der Entnahme aus dem Aliquot wurde das Plasma aus dem Ec-Konzentrat durch Zentrifugation mit 3500 g über 5 min gewonnen, anschließend der Überstand bei -78 °C bis zur Untersuchung aufbewahrt.

Um das FFP nicht auftauen und verwerfen zu müssen, wurden hier nur an zwei Zeitpunkten Untersuchungen vorgenommen, nämlich nach Präparation vor dem Einfrieren und nach dem

Auftauen unmittelbar vor Verabreichung. So wurde auch in einer Studie vorgegangen, die eine signifikante Erhöhung diverser bioaktiver Substanzen zeigen konnte (HAMMER et al. 1997). Nach Ablauf der Lagerung standen jedoch nur 4 FFP, jeweils 2 gefiltert und ungefiltert zur Verfügung.

Die Plasmagewinnung durch Zentrifugation der Blut- und Ec-Konzentrat-Proben erfolgte innerhalb von 20 Minuten nach Gewinnung der Proben. Wie oben beschrieben wurde die VEGF-Konzentration in den Proben gemessen (siehe Kap. 2.1.).



Abb. 9 Probenentnahmeröhrchen (Vacuette, CTAD, Greiner Bio-One GmbH, Preanalytics Essen)

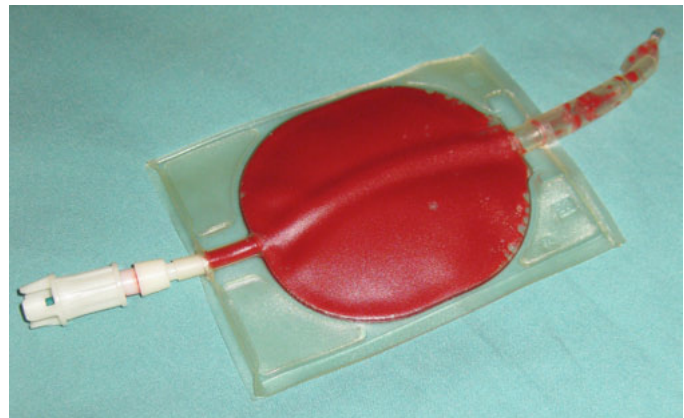


Abb. 10 Aliquot zur sterilen Probenentnahme aus Ec-Konzentrat

2.3. Untersuchungen an Patienten

2.3.1. Transfundierte Patienten

In die Gruppe der transfundierten Patienten wurden 5 Hunde eingeschlossen, die niemals zuvor transfundiert worden waren, sich während des Untersuchungszeitraums stationär in der Klinik aufhielten, nicht während des Untersuchungszeitraums operiert wurden und nicht an einer bekannten Tumorerkrankung litten.

Jeweils 2 Patienten hatten eine primäre bzw. sekundäre Immunhämolyse, ein weiterer wurde durch ein Hämoperiton nach Autounfall transfusionsbedürftig (Patient 1) (Tab. 6).

Bei den Patienten mit Hämolyse wurden das Vorhandensein von hämolytischem Plasma, die Stärke der Agglutination (1+ bis 4+) sowie die Anzahl der Sphärozyten (1+ bis 3+) beurteilt. Die Agglutination wurde erneut beurteilt, nachdem die Erythrozyten jeweils dreimal nach

Zentrifugation mit 0,9%iger Kochsalzlösung gewaschen wurden. War die Agglutination anschliessend noch nachweisbar, wurde sie als persistierend bezeichnet.

Patient 2 hatte hämolytisches Plasma und Agglutination 1+ (brach auf nach Waschen) und Sphärozyten 1+ im Ausstrich.

Patient 3 hatte ebenfalls hämolytisches Plasma und Agglutination 2+ (brach auf nach Waschen).

Patient 4 hatte hämolytisches Plasma, Agglutination 2+ (brach nicht auf nach Waschen) und Sphärozyten 2+.

Patient 5 hatte kein hämolytisches Plasma, Agglutination 4+ (brach nicht auf nach dem Waschen) und Sphärozyten 2+.

Der Coombs-Test wurde im Institut für Immunologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover durchgeführt, wobei auf das Vorkommen von IgG, IgM und C3b untersucht wurde. So wurde bei den Patienten 2, 4 und 5 die Diagnose immunhämolytische Anämie verifiziert. Bei Patient 3 blieb es eine Verdachtsdiagnose.

Die Hunde erhielten zwischen 8,4 und 15 (Median 10) ml Ec-Konzentrat / kg Körpergewicht (Tab. 6).

Tabelle 6 Signalement, Diagnose und Transfusionsparameter von 5 transfundierten Patienten, deren Plasma – VEGF bestimmt wurde

	P1	P2	P3	P4	P5	Median
Rasse	Jagdhund	Terrier-Mix	Dackel-Mix	WHWT	Dackel-Mix	
Alter (J)	5	8	10	10	11	10
Geschlecht	w	w	w	wk	m	
Diagnose	Hämo-abdomen nach Unfall	IHA (sekundär)	Pyometra, Ketoazidose, (V.a. sek. IHA)	IHA (primär)	IHA (primär)	
Coombs-Test	Nicht durchgeführt	positiv	Nicht durchgeführt	positiv	positiv	
Blutgruppe	DEA 1.1 -	DEA 1.1 +	DEA 1.1 +	Nicht bestimmbar *	Nicht bestimmbar *	
Menge Ec-Konz. (ml)	160	150	120	125	125	125
Menge Ec-Konz. (ml/kg)	8,4	7,5	15	10	11	10
Alter der Konserve (d)	1	7	12	11	2	7

P1 – P5: Patient 1 – 5; J: Jahre; m(k): männlich (kastriert); w(k): weiblich (kastriert); WHWT: West Highland White Terrier; V.a.: Verdacht auf; sek.: sekundär; IHA: immunhämolytische Anämie; DEA: dog erythrocyte antigen; Ec-Konz.: Erythrozytenkonzentrat;; ml: Milliliter; kg: Kilogramm; d: Tag(e)

* persistierende Agglutination auch nach dreimaliger Waschung der Erythrozyten, die eine Bestimmung der Blutgruppe unmöglich machte

An dem Tag, an dem die Transfusion erfolgte, wurde für jeden Patienten ein Blutbild erstellt (Tab. 7). Zusätzlich wurde der Mikro-Hämatokrit bestimmt, indem ein Kapillarröhrchen mit Vollblut gefüllt und in einer speziellen Zentrifuge (Biofuge haemo, Heraeus instruments, Thermo Fisher Scientific, Schwerte) zentrifugiert wurde. Alle 5 Patienten hatten eine Anämie und alle bis auf Patient 1 eine Leukozytose. Patient 5 hatte zusätzlich eine Thrombozytopenie.

Tabelle 7 Laborwerte transfundierter Patienten, deren VEGF bestimmt wurde

	Referenz	P1	P2	P3	P4	P5	Median
Leukozyten (G/l)	5,6 – 14	4,96	78,58	21,9	24,04	30,86	24,04
Erythrozyten (T/l)	5,9 – 8,3	5,41	3,29	2,4	1,49	0,43	2,4
Hämatokrit (l/l) / Mikro-Hämatokrit (l/l)	0,42 – 0,56	0,21 / 0,21	0,25 / 0,25	0,16 / 0,15	0,12 / 0,13	0,5 / 0,18	0,16 / 0,18
Hämoglobin (mmol/l)	9,1 – 12,4	12,6	6,6	5,4	3,4	5,7	5,7
Thrombozyten (G/l)	165 – 400	174	484	830	282	85	282

P1 – P5: Patient 1 – 5

Die Blutentnahmen für die VEGF-Messungen erfolgten direkt vor der Transfusion, direkt nach deren Ende und 6, 12 und 24 h nach Ende der Transfusion (Abb. 11). Es wurden jeweils 3 ml Blut in Zitratröhrchen entnommen, denen Theophyllin, Adenosin und Dipyridamin zugesetzt worden war (Vacuette CTAD, Greiner Bio-One GmbH, Preanalytics, Essen, Abb. 9). Nach der Gewinnung des Zitratplasmas durch Zentrifugation bei 3500 g über 5 min wurden die Proben innerhalb von 30 min bei -78 °C bis zur Untersuchung eingefroren und wie oben beschrieben mittels ELISA untersucht (siehe Kap. 1.1.).

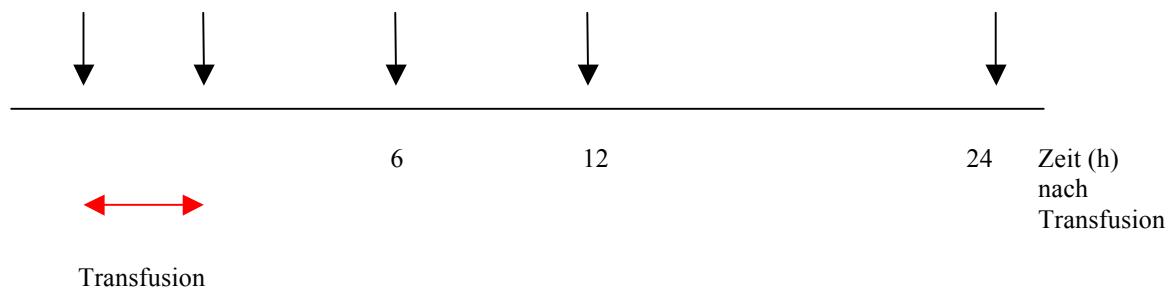


Abbildung 11 Probenentnahmeschema bei transfundierten Patienten: vor Transfusion, direkt nach deren Abschluss und 6, 12 und 24 Stunden später

2.3.2. Patienten mit abdominaler Masse

Die Gruppe der Patienten mit rupturierter abdominaler Masse in Milz (n=7) oder Leber (n=1) umfasste 8 Hunde (Tab. 8). Den Hunden wurde einmalig eine 3 ml Blutprobe in Zitratröhrchen mit Zusatz (Vacuette, CTAD, Greiner Bio-One, Preanalytics, Essen, Abb. 9) entnommen. Nach der Gewinnung des Plasmas durch Zentrifugation bei 3500 g über 5 min wurde die Probe innerhalb von 30 min bei -78 °C bis zur Untersuchung eingefroren und wie oben beschrieben untersucht (siehe Kap. 2.1.). Die Patienten wurden ausgeschlossen, wenn sie vor Entnahme der Blutprobe transfundiert oder operiert worden waren oder wenn keine histopathologische Untersuchung oder zumindest zytologische Untersuchung (Patient 9 und 10) der Umfangsvermehrung erfolgte. Alle Patienten bis auf Patient 9 hatten ultrasonographisch eine milzassoziierte Masse und bis auf Patient 8 freies Blut im Abdomen. Patient 9 hatte im Ultraschall HAS-verdächtige Umfangsvermehrungen in der Leber. Das Staging der Tumoren wurde anhand des histopathologischen Berichtes vorgenommen (Tab. 9). Da die regionären Lymphknoten nicht gesondert untersucht wurden, erfolgte die Klassifizierung nur anhand der T- und M-Werte.

Bei 2 Hunden konnte neben der Blutprobe eine Probe des freien Blutes aus der Bauchhöhle entnommen und untersucht werden (Patient 1 und 4). Die Entnahme erfolgte intraoperativ zu Beginn des Eingriffs. Zur Gewinnung des Plasmas wurden die Proben sofort zentrifugiert. Bei 2 der 8 Patienten wurde histopathologisch kein HAS diagnostiziert, sondern ein rupturiertes Hämatom (Patient 12) bzw. eine rupturierte noduläre Hyperplasie (Patient 13).

Tabelle 8 Signalement und Diagnose von Patienten mit rupturierter abdominaler Masse, deren VEGF bestimmt wurde

	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	Median
Rasse	DSH-Mischling	Boxer-Mischling	DSH-Mischling	Terrier-Mischling	WHWT	Puli	DSH-Mischling	Kromfohländer	
Alter (J)	7	6	8	7	13	12	12	4	7,5
Geschlecht	m	w	m	w	mk	m	w	m	
Gewicht (kg)	31	41	38	17	10	20	31	10	25,5
Hämo-abdomen	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein	
Diagnose	HAS	HAS	HAS	HAS	HAS	HAS	Hämatom	Hyperplasie	
Staging	III T3 M0	II T2 M0	II T2 M0	III T3 M0	III T3 M1	II T2 M0	I T0 M0	I T0 M0	
Diagnose-stellung	Histo-pathologie	Histo-pathologie	Histo-pathologie	Zytologie	Zytologie	Histo-pathologie	Histo-pathologie	Histo-pathologie	

P6 – P13: Patient 6 – 13; J: Jahre; kg: Kilogramm; DSH: Deutscher Schäferhund; m(k): männlich(kastriert); w(k): weiblich(kastriert); HAS: Hämangiosarkom

Tabelle 9 TNM-Staging-System für canine Hämangiosarkome (nach Bergman, 2005)

TNM: Klinisches Staging-System für canine Hämangiosarkome
<p>T = Tumor (Primärtumor)</p> <p>T0 = kein Tumor</p> <p>T1 = Tumor begrenzt auf eine Lokalisation und/oder Haut und <5cm Durchmesser</p> <p>T2 = Tumor dringt in subkutanen Gewebe ein und/oder >5cm Durchmesser</p> <p>T3 = T1 oder T2 und Tumor dringt in angrenzende Strukturen und/oder Muskulatur ein</p>
<p>N = Node (regionale Lymphknoten)</p> <p>N0 = kein Lymphknoten betroffen</p> <p>N1 = regionaler Lymphknoten involviert</p> <p>N2 = entfernter Lymphknoten involviert</p>
<p>M = Metastasen (Fernmetastasen)</p> <p>M0 = keine Fernmetastasen</p> <p>M1 = Fernmetastasen</p>
<p>Auf TNM-gestützte Einteilung in Stages</p> <p>I = T0 oder T1, N0, M0</p> <p>II = T1 oder T2, N0 oder N1</p> <p>III = T2 oder T3, N0 oder N1 oder N2, M1</p>

Bei allen Patienten mit rupturierter abdominaler Masse wurde am Tag der Probenentnahme ein Blutbild erstellt (Tab. 10). Sieben der 8 Patienten hatten eine Anämie und 6 der Hunde eine Thrombozytopenie. Fünf der anämischen Patienten hatten zusätzlich eine Thrombozytopenie. Weiterhin wurde bei 5 der 8 Patienten eine Leukozytose festgestellt.

Tabelle 10 Laborwerte der Patienten mit rupturierter abdominaler Masse, deren VEGF bestimmt wurde

	Referenz	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	Median
Leukozyten (G/l)	5,6 – 14	21,61	17,58	21,1	18,44	11,71	54,81	9,58	11,98	18,01
Erythrozyten (T/l)	5,9 – 8,3	3,76	6,46	3,77	5,14	3,32	2,92	5,43	5,65	4,45
Hämatokrit (l/l)	0,42 – 0,56	0,24	0,43	0,26	0,31	0,25	0,23	0,37	0,40	0,28
Hämoglobin (mmol/l)	9,1– 12,4	8,4	15,1	8,8	10,8	8,1	6,6	13,1	13,3	9,8
Thrombozyten (G/l)	165 – 400	42	101	68	218	12	106	71	227	86

P6 – P13: Patient 6 – 13

3. Ergebnisse

3.1. VEGF im Plasma gesunder Hunde

Vier der 5 Blutspender aus Gruppe 1, deren Vollblut vor der Auftrennung nicht gefiltert wurde, wiesen eine Plasma-Konzentration von VEGF unterhalb der Nachweisgrenze von 9 pg/ml auf (Tab. 11). Eine Probe (Spender 1) enthielt 12,4 pg/ml. Bei dem Spender handelte es sich um einen 6jährigen männlichen Rottweiler, der wie die anderen Spender klinisch gesund war, aber mit 12,9 G/l die dritthöchste Leukozyten- und mit 496 G/l die zweithöchste Thrombozytenzahl aller Spender aufwies. Spender 8 hatte mit 15,9 G/l und 500 G/l sowohl die höchste Leukozyten- als auch die höchste Thrombozytenkonzentration, sein VEGF-Wert lag jedoch unterhalb der Nachweisgrenze.

Tabelle 11 VEGF (pg/ml) im Plasma der Spender S1-S5 (Gruppe 1)

	S1	S2	S3	S4	S5	Median
Plasma	12,4	<9	<9	<9	<9	<9

S1 – S5: Spender 1 – 6

Das Plasma-VEGF aller 5 Spender der Gruppe 2 lag unterhalb der Nachweisgrenze von 9 pg/ml (Tab. 12).

Tabelle 12 VEGF (pg/ml) im Plasma der Spender S6-S10 (Gruppe 2)

	S6	S7	S8	S9	S10	Median
Plasma	<9	<9	<9	<9	<9	<9

S6 – S10: Spender 6 – 10

Somit lag die Konzentration des Plasma-VEGF bei 9 von 10 gesunden Hunden unterhalb der Nachweisgrenze und bei einem Spender (Spender 1) mit 12,4 pg/ml geringgradig darüber (Tab. 11 und 12).

3.2. VEGF in nicht-gefilterten Blutprodukten

3.2.1. VEGF-Messung direkt nach der Auftrennung

Nach der Auftrennung in Ec-Konzentrat und FFP war in der Plasmaprobe keiner Konserve ein Wert oberhalb der Nachweisgrenze messbar. Auch die Messungen in Ec-Konzentrat und FFP von Spender 1 ergaben einen Wert unterhalb der Nachweisgrenze von 9 pg/ml (Tab. 13).

Tabelle 13 VEGF (pg/ml) in nicht - gefilterten Konserven nach Auftrennung

	S1	S2	S3	S4	S5	Median
Ec-Konz.	<9	<9	<9	<9	<9	<9
FFP	<9	<9	<9	<9	<9	<9

S1 – S5: Spender 1 – 5

3.2.2. VEGF-Messung in nicht-gefilterten Ec-Konzentraten im Verlauf der Lagerung

Tabelle 14 zeigt die VEGF-Konzentration in den nicht-gefilterten Ec-Konzentraten im Verlauf der dreiwöchigen Lagerungszeit, graphisch ist die Entwicklung in Abbildung 11 dargestellt. Bis auf die Probe von Spender 2 wiesen 4 von 5 Proben einen Anstieg der Konzentration auf Werte oberhalb der Nachweisgrenze bereits nach einer Woche Lagerung auf. Ein messbarer Wert ergab sich bei Spender 2 erst nach dreiwöchiger Lagerungszeit. Dieser Spender wies mit 7,22 G/l zwar die niedrigste Leukozyten-, aber mit 407 G/l die dritthöchste Thrombozytenzahl aller Spender auf. Die niedrige Leukozytenzahl stellt eine mögliche Erklärung dar. Bei Spender 1 und 3 stieg die VEGF-Konzentration während der Lagerungszeit kontinuierlich an, während in den Proben von Spender 4 und 5 zwischen den Probenentnahmen nach 2 und nach 3 Wochen ein geringgradiger Abfall zu verzeichnen war. Alle Proben zeigten bereits nach einer Woche Lagerung Anzeichen von Hämolyse, deren Grad sich makroskopisch zwischen den einzelnen Proben nicht unterschied.

Tabelle 14 VEGF (pg/ml) in nicht - gefilterten Ec-Konzentraten im Lagerungsverlauf

	S1	S2	S3	S4	S5	Median
Ec-Konz.	<9	<9	<9	<9	<9	<9
nach 1Wo	139,4	<9	10,2	36,9	19,2	36,9
nach 2Wo	333,1	<9	192,8	101,5	163,9	163,9
nach 3Wo	357,6	36,9	257,4	88,1	110,4	110,4

S1 – S5: Spender 1 – 5; Wo: Wochen

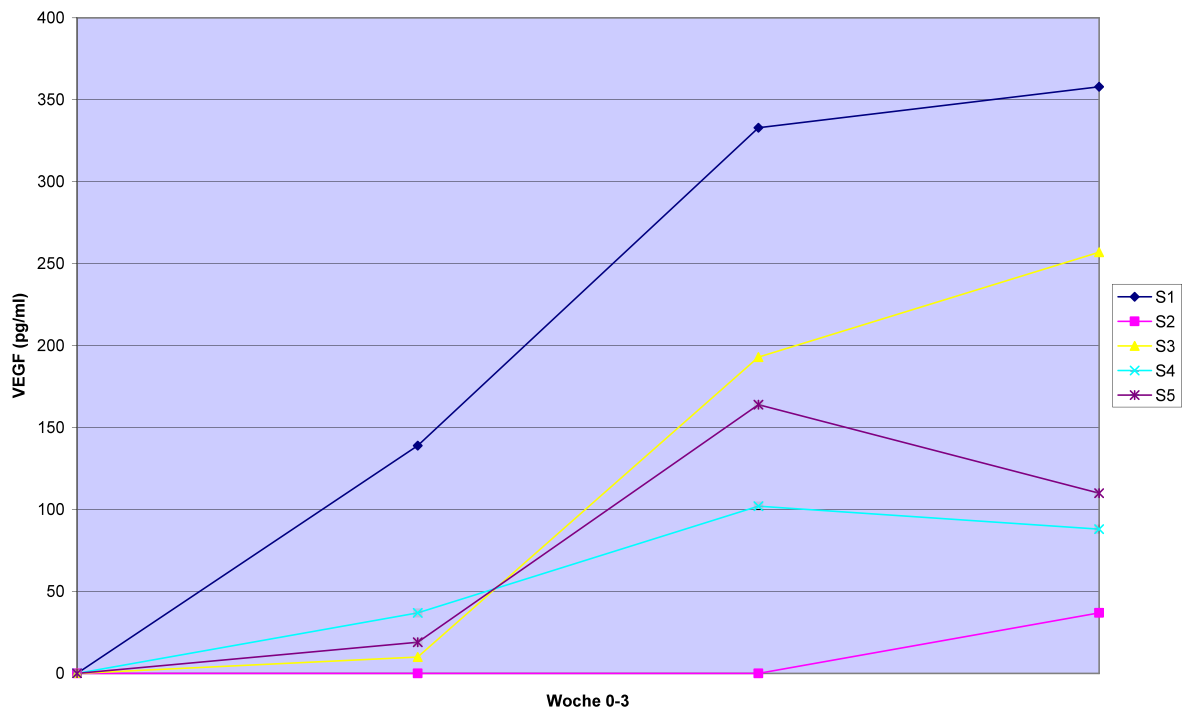


Abbildung 11 VEGF (pg/ml) in nicht-gefilterten Ec-Konzentraten im Lagerungsverlauf

3.2.3. VEGF-Messung in FFP nach Ablauf der Lagerungszeit

Von Spender 2 stand das FFP nach sechswöchiger Lagerungszeit zur Untersuchung zur Verfügung, von Spender 4 nach vierwöchiger Lagerung. Die VEGF-Konzentration beider Proben lag unterhalb der Nachweisgrenze (Tab. 15).

Tabelle 15 VEGF (pg/ml) in nicht - gefiltertem FFP vor und nach der Lagerung

	S1	S2	S3	S4	S5	Median
FFP	<9	<9	<9	<9	<9	<9
FFP gelagert		<9 nach 6 Wo		<9 nach 4 Wo		

S1 – S5: Spender 1 – 5, Wo: Wochen

3.3. Laborwerte im Vollblut nach Filtration

Um den Grad der Leukozytendepletion und den Verlust an Thrombozyten zu überprüfen, wurde das gefilterte Vollblut erneut hämatologisch untersucht und mit dem Blutbild des jeweiligen Spenders verglichen (Tab. 16).

Während die Konzentration der Erythrozyten bei 4 der 5 Spender durch die Filtration sogar leicht anstieg, fand eine deutliche Reduktion von Leukozyten und Thrombozyten statt. Leukozyten waren nur in der Probe von Spender 10 in einer Konzentration von 0,2 G/l nachweisbar, die anderen 4 Proben zeigten keine messbaren Werte.

Die Thrombozytenzahl war in allen 5 Proben deutlich reduziert, wobei sich Reduktionswerte zwischen Faktor 34 (Spender 7) und Faktor 293 (Spender 10) ergaben. Die Probe von Spender 9 ergab keinen messbaren Wert.

Tabelle 16 Laborwerte im Vollblut vor und nach Filtration

	S6	S7	S8	S9	S10	Median
Leukozyten (G/l) vor Filtration	9,08	11,2	15,9	12,1	11,0	11,2
Leukozyten (G/l) nach Filtration	0	0	0	0	0,2	0,0
Erythrozyten (x 10¹²/l) vor Filtration	6,06	6,81	7,36	6,19	6,63	6,63
Erythrozyten (x 10¹²/l) nach Filtration	7,4	6,42	8,66	7,66	7,14	7,14
Thrombozyten (G/l) vor Filtration	295	344	500	274	293	295
Thrombozyten (G/l) nach Filtration	2	10	5	0	1	2

S6 – S10: Spender 6 – 10

3.4. VEGF in gefilterten Blutprodukten

3.4.1. VEGF-Messung direkt nach der Auftrennung

Nach der Auftrennung in Ec-Konzentrat und FFP lagen wie in Gruppe 1 alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze (Tab. 17).

Tabelle 17 VEGF (pg/ml) in gefilterten Konserven nach Auftrennung

	S6	S7	S8	S9	S10	Median
Ec-Konz.	<9	<9	<9	<9	<9	<9
FFP	<9	<9	<9	<9	<9	<9

S6 – S10: Spender 6 – 10

3.4.2. VEGF-Messung in gefilterten Ec-Konzentraten im Verlauf der Lagerung

Während der dreiwöchigen Lagerungszeit der gefilterten Ec-Konzentrate fand im Gegensatz zu den nicht-gefilterten Präparaten kein Anstieg der VEGF-Konzentration statt. Alle Werte lagen unterhalb der Nachweisgrenze (Tab. 18).

Tabelle 18 VEGF (pg/ml) in gefilterten Ec-Konzentraten im Lagerungsverlauf

	S6	S7	S8	S9	S10	Median
Ec-Konz.	<9	<9	<9	<9	<9	<9
nach 1Wo	<9	<9	<9	<9	<9	<9
nach 2Wo	<9	<9	<9	<9	<9	<9
nach 3Wo	<9	<9	<9	<9	<9	<9

S6 – S10: Spender 6 – 10; Wo: Wochen

3.4.3. VEGF-Messung in FFP nach Ablauf der Lagerungszeit

Von 2 Spendern konnte FFP nach vierwöchiger (Spender 8) bzw. sechswöchiger (Spender 10) Lagerungszeit untersucht werden. Beide Proben ergaben VEGF-Werte unterhalb der Nachweisgrenze (Tab. 19).

Tabelle 19 VEGF (pg/ml) in gefiltertem FFP vor und nach der Lagerung

	S6	S7	S8	S9	S10	Median
FFP	<9	<9	<9	<9	<9	<9
FFP Gelagert			<9 nach 4 Wo		<9 nach 6 Wo	<9

S6 – S10: Spender 6 – 10; Wo: Wochen

3.5. Untersuchungen an Patienten

3.5.1. VEGF im Plasma transfundierter Patienten

Tabelle 20 gibt die VEGF-Konzentrationen der Patienten vor und nach Transfusion wieder.

Patient 1, der aufgrund eines Hämoperitoniums nach Unfall transfusionsbedürftig wurde, zeigte mit 154,0 pg/ml eine sehr hohe Ausgangskonzentration, die im Verlauf der Messungen von direkt nach der Transfusion bis 24 h nach deren Ende kontinuierlich zurückging.

Die beiden Patienten mit primärer immunhämolytischer Anämie (Patient 4 und 5), sowie der Patient mit sekundärer immunhämolytischer Anämie, der nach Schussverletzung eine Infektion entwickelt hatte (Patient 2), wiesen weder vor noch nach der Transfusion messbare Plasma-VEGF-Werte auf.

Patient 3, der an einer Ketoazidose, einer Pyometra und vermutlich an einer sekundären Immunhämolyse litt, zeigte einen schwankenden Verlauf der VEGF-Messungen mit einem stark erhöhten Wert 6 Stunden nach der Transfusion.

Tabelle 20 Plasma - VEGF bei transfundierten Patienten vor und nach Transfusion

	P1	P2	P3	P4	P5
vor T.	154,0	<9	<9	<9	<9
direkt nach T.	142,0	<9	<9	<9	<9
nach 6h	74,4	<9	175,8	<9	<9
nach 12h	67,2	<9	<9	<9	<9
nach 24h	52,7	<9	74,4	<9	<9

P1 – P5: Patient 1 – 5; T: Transfusion; h: Stunden

3.5.2. VEGF im Plasma von Patienten mit abdominaler Masse

Tabelle 21 zeigt die VEGF-Konzentrationen der Patienten mit rupturierter abdominaler Masse in Milz (n=7) oder Leber (n=1).

Die Messungen des Plasma-VEGF ergaben bei den beiden Patienten mit benignen Milzveränderungen (Patient 12 und 13) Werte unterhalb der Nachweisgrenze.

Drei der 6 Patienten mit histopathologisch nachgewiesenem HAS wiesen ebenfalls nicht messbare VEGF-Werte auf.

Patient 10 zeigte mit 105,8 pg/ml den höchsten VEGF-Wert im Plasma. Patient 6 und 9 hatten beide Konzentrationen um die 33 pg VEGF/ml. Bei beiden Hunden standen jedoch auch Proben des freien abdominalen Blutes zur Untersuchung zur Verfügung, deren VEGF-Konzentration mit 624,7 pg/ml (Patient 9) bzw. 1616,6 pg/ml (Patient 6) deutlich höher lag.

Zwischen den HAS-Patienten mit Werten oberhalb bzw. unterhalb der Nachweisgrenze von 9 pg/ml bestanden keine Unterschiede in Bezug auf Tumorgroße oder Zustand des Patienten, jedoch wurden alle drei Patienten mit Werten unterhalb der Nachweisgrenze in Stage II eingestuft, während die Patienten mit messbaren Werten als Stage III bewertet wurden.

Tabelle 21 Diagnose und Plasma-VEGF-Konzentration bei Patienten mit rupturierter abdominaler Masse

	P6 (Abdomen)	P7	P8	P9 (Abdomen)	P10	P11	P12	P13
Diagnose	HAS	HAS	HAS	HAS	HAS	HAS	Hämatom	Hyper- plasie
VEGF (pg/ml)	33,4 (1616,6)	<9	<9	33,0 (624,7)	105,8	<9	<9	<9

P6 – P13: Patient 6 – 13; HAS: Hämangiosarkom

IV. Diskussion

1. VEGF im Plasma gesunder Hunde

Der hier verwendete humanmedizinische ELISA (VEGF, R&D Systems, Abingdon, UK) zur Bestimmung von VEGF bei Hunden wurde bereits in verschiedenen Studien etabliert (CLIFFORD et al. 2001; CLIFFORD et al. 2002; WERGIN und KASER-HOTZ 2004; WERGIN et al. 2006). Das humane zirkulierende VEGF ist zwar eine Aminosäure länger als das canine, die Rezeptorbindungsregion ist jedoch identisch, so dass canines VEGF₁₆₅ mit gleicher Intensität auf humane wie auf canine Zellen wirkt und somit auch auf den humanen ELISA (SCHEIDEGGER et al. 1999).

Die Untersuchung von Plasma ist der von Serum vorzuziehen, da bei der Serumgewinnung deutlich mehr Thrombozyten aktiviert werden und damit ihr VEGF abgeben als bei der Herstellung von Plasma (BUSCH et al. 1993; VERHEUL et al. 1997; GEORGE et al. 2000; MYNSTER und NIELSEN 2000; BECKER et al. 2001). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass der VEGF-Gehalt in Serum zwischen den ersten 30-60 min nach der Entnahme deutlich ansteigt und auf hohem Niveau bleibt, während der von Plasma über mehr als 480 min konstant bleibt (HYODO et al. 1998).

Die Zusätze von Theophyllin, Adenosin und Dipyridamin in den Zitratröhrchen, die zur Entnahme der Blutproben genutzt wurden, dienen der maximalen Thrombozytenstabilität (WERGIN et al. 2004).

Die in der vorliegenden Untersuchung gemessenen VEGF-Konzentrationen im Plasma lagen bei 9 von 10 gesunden Hunden unterhalb der Nachweisgrenze von 9 pg/ml. Dieses deckt sich mit den Ergebnissen anderer Studien, die Werte bei einem Großteil der untersuchten gesunden Hunde unterhalb der jeweiligen Nachweisgrenze angeben (CLIFFORD et al. 2001; WERGIN et al. 2004; KATO et al. 2007). Die Hunde, deren Werte nicht unterhalb der Nachweisgrenze lagen, hatten Konzentrationen von bis zu 17,7 pg/ml (CLIFFORD et al. 2001). In der vorliegenden Untersuchung lag ein Hund mit 12,4 pg/ml nur knapp oberhalb der Nachweisgrenze. Dieser Hund wies von den 10 untersuchten Blutspendern die zweithöchste Leukozytenzahl und die dritthöchste Thrombozytenzahl auf. Ein Zusammenhang zwischen der hohen Thrombozytenzahl und dem höchsten gemessenen VEGF-Wert ist möglich. Aufgrund der nur geringgradigen Abweichung und weil es sich nur um einen einzigen Hund handelte, ist dies jedoch spekulativ. Zudem wurde auch in anderen Studien eine Streuung der Normalwerte bei Mensch und Hund festgestellt. In der Untersuchung, in der ein Hund als einziger von 17 gesunden Hunden mit 17,7 pg/ml im Plasma eine messbare VEGF-

Konzentration aufwies, konnte keine Korrelation zwischen VEGF-Wert und Hämatokrit, Leukozyten- oder Thrombozytenzahl festgestellt werden (CLIFFORD et al. 2001).

In humanmedizinischen Studien wurde eine mögliche Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und zirkulierendem VEGF in Erwägung gezogen. Dabei scheint auch der VEGF-Gehalt in den Thrombozyten zu variieren. In einer Untersuchung wird die mittlere VEGF-Konzentration mit $0,56 \text{ pg}/10^6$ Thrombozyten bei Tumorpatienten im Vergleich zu $0,3 \text{ pg}/10^6$ Thrombozyten bei gesunden Probanden angegeben (WYNENDAELE et al. 1999). In anderen Studien wurden $2,51 \pm 2,39 \text{ pg}/10^6$ Thrombozyten gemessen (GUNSILIUS et al. 2000) bzw. ein theoretischer Gehalt von $0,16 - 3,64$ (Median $1,37$) $\text{pg}/10^6$ Thrombozyten errechnet, der desto höher liegt, je mehr Interleukin-6 im Serum der Patienten vorhanden ist (SALGADO et al. 1999). In einer anderen Untersuchung wurden $0,16 - 4,96$ (Median $1,39$) $\text{pg}/10^6$ Thrombozyten ermittelt (VERMEULEN et al. 1999).

Eine Studie zeigte eine deutliche Korrelation der Thrombozytenzahl mit der Plasma-VEGF-Konzentration, die bei Patienten mit hepatozellulären Karzinomen, nicht jedoch bei Patienten mit chronischer Hepatitis, Leberzirrhose und der gesunden Kontrollgruppe bestand (HYODO et al. 1998). Auch in anderen Untersuchungen bestand diese Korrelation, wenn maligne Erkrankungen vorlagen (BANKS et al. 1998; O'BYRNE et al. 1999; SALGADO et al. 1999; GEORGE et al. 2000).

Theoretisch wäre hier auch eine abnahmebedingte Freisetzung von VEGF möglich, jedoch wurde bei diesem Blutspender genauso vorgegangen wie bei den anderen. Auch eine Akkumulation vor der Zentrifugation erscheint unwahrscheinlich, da diese bei allen Spendern innerhalb von 20 Minuten nach der Abnahme erfolgte.

Durch die ermittelten VEGF-Werte konnten Studien bestätigt werden, die zeigten, dass gesunde Menschen im Durchschnitt eine höhere Plasma-Konzentration von VEGF aufweisen als gesunde Hunde. Beim Hund liegt der Durchschnittswert des physiologisch zirkulierenden VEGF bei $<1 \text{ pg}/\text{ml}$ (CLIFFORD et al. 2001; WERGIN et al. 2004; KATO et al. 2007), beim Menschen dagegen mit $0 - 38$ (HYODO et al. 1998), $17,7 \pm 5,4$ (HYODO et al. 1998), $0 - 42$ (BANKS et al. 1998), Median $9,0$ (GEORGE et al. 2000), $13 - 37$ (BRÜNNER et al. 1999) bzw. $17 - 38$ (EDVARSEN et al. 2001) pg/ml Plasma deutlich höher.

2. VEGF in nicht-gefilterten Blutprodukten

Während der Lagerung von Blut oder Blutkomponenten werden durch den Zerfall verschiedener Zellen, in erster Linie Leukozyten und Thrombozyten, diverse bioaktive Substanzen wie VEGF freigesetzt. Zudem findet durch Leukozyten auch die Produktion von Zytokinen statt, die extrazellulär kumulieren (FREWIN et al. 1984; STACK und SNYDER 1994; STACK et al. 1995; EDVARSDEN et al. 1996; EDVARSDEN et al. 1998; REID et al. 1999).

Die vorliegende Untersuchung zeigt, dass während der Lagerung caniner Ec-Konzentrate ein Anstieg der VEGF-Konzentration im Plasma stattfindet wie es in der Humanmedizin beschrieben wurde. Eine Untersuchung beschäftigte sich mit der VEGF-Konzentration in verschiedenen humanmedizinischen Blutprodukten (BRÜNNER et al. 1999). Zunächst wurde der Gesamtgehalt an VEGF durch eine Messung nach vollständiger Zelllyse bestimmt, dann die Konzentration im Verlauf der Lagerung. Ungefiltertes Blut in Salin-Adenin-Glukose-Mannitol (SAGM), ungefiltertes Vollblut und nicht-gefiltertes Thrombozytenkonzentrat aus dem Buffy coat (BC-PC) enthielten nach einem bestimmten Lagerungsintervall eine höhere VEGF-Konzentration als vor Lagerungsbeginn. Die Messung der VEGF-Konzentration erfolgte wie in der vorliegenden Untersuchung im Plasma nach Zentrifugation. Zusätzlich fand eine Messung des Gesamtgehaltes an VEGF statt, indem die Zellen durch mehrere Zyklen von Einfrieren und Auftauen vollständig lysiert wurden. Dieser Schritt wäre in der vorliegenden Untersuchung ebenfalls interessant gewesen, um einen unterschiedlichen Ausgangsgehalt in den Zellen der einzelnen Spender aufdecken zu können (ggf. in Abhängigkeit von der Leukozyten- oder Thrombozytenzahl).

Die Erhöhung der VEGF-Konzentration in zellhaltigen Blutprodukten im Verlauf der Lagerung ist vermutlich in erster Linie auf den Zerfall von Thrombozyten zurückzuführen. Diese unterliegen während der Lagerung in Blutkomponenten einem Apoptosemechanismus, der dem von kernhaltigen Zellen vergleichbar ist (LI et al. 2000) und zeigen einen lagerungsbedingten Verlust der Membranintegrität sowie eine Aktivierung, die zur Freisetzung der gespeicherten Substanzen führt (CHERNOFF und SNYDER 1992; REID et al. 1999). Zwar enthalten auch neutrophile Granulozyten hohe Konzentrationen an VEGF (GAUDRY et al. 1997; BRÜNNER et al. 1999), doch zeigte sich in Konserven, deren Buffy coat entfernt worden war, eine stärkere Akkumulation von VEGF von Tag 0 nach der Präparation bis Tag 3 als in Konserven, die eine Apheresetechnik durchliefen, obwohl der Gesamtleukozytengehalt und der prozentuale Anteil an neutrophilen Granulozyten in diesen Konserven höher waren (EDVARSDEN et al. 2001). An Tag 5 und 7 bestanden signifikante Unterschiede nur im Vergleich zu der Konzentration im Plasma der Spender. Es liegt die

Vermutung nahe, dass der Anstieg der VEGF-Konzentration in den Konserven nach Buffy coat-Entfernung auf die Zerstörung von Leukozyten, der weitere Anstieg im Verlauf der Lagerung jedoch auf den der Thrombozyten zurückgeführt werden kann.

Direkt nach der Auftrennung lagen alle VEGF-Werte in den nicht-gefilterten Ec-Konzentraten und FFPs unterhalb der Nachweisgrenze, so dass davon auszugehen ist, dass die Zelllyse, die während der Bearbeitung des Vollblutes stattfinden könnte, unerheblich ist, ebenso wie eine mögliche Zellzerstörung während der Plasmagewinnung aus dem Ec-Konzentrat durch Zentrifugation. Ein weiterer Hinweis auf den Zellerfall als Ursache für den Anstieg ist der unterhalb der Nachweisgrenze gemessene VEGF-Wert in gelagerten FFPs, obwohl hier nur 2 Proben für die Messung zur Verfügung standen.

In einer Studie wurde die VEGF-Konzentration in je 12 Einheiten verschiedener humaner Blutprodukte nach 35tägiger Lagerung gemessen. In Vollblut stieg der Wert von 35,86 (21,0 - 49,94) pg/ml auf 126,9 (116,36 - 150,35) pg/ml, das Ergebnis bei thrombozytenreichem Plasma war vergleichbar, die Untersuchung von leukozytenreichem Plasma, erythrozytenreichem Plasma und zellfreiem Plasma ergab jedoch einen Abfall von median 35,86 pg/ml auf nichtmessbare Werte nach 15tägiger Lagerungsdauer (PATEL 2002).

Der stärkste Anstieg der VEGF-Konzentration in humanen Blutprodukten konnte in einer Studie zwischen Tag 5 und Tag 21 gezeigt werden. Das Entnahmeschema sah Proben an Tag 0, 2, 5, 9, 14, 21, 28 und 35 für das Salin-Adenin-Glukose-Mannitol-Blut und Vollblut vor (BRÜNNER et al. 1999). In der vorliegenden Untersuchung wurden Proben an Tag 0, 7, 14 und 21 genommen. Vier von 5 Proben lagen nach einer Woche Lagerungszeit oberhalb des Referenzwertes, die fünfte Probe wies lediglich nach 3 Wochen Lagerungszeit einen erhöhten VEGF-Wert auf. Bei 2 der 4 nach einer Woche angestiegenen Proben stiegen die Werte zwischen der 1. und 2. Woche weiter an und fielen zwischen der 2. und 3. Woche wieder geringgradig ab. Diese Schwankungen sind wahrscheinlich zu vernachlässigen. Die anderen beiden Proben wiesen einen kontinuierlichen Anstieg der VEGF-Konzentration auf.

In einer humanmedizinischen Studie wurden bioaktive Substanzen in FFP untersucht (HAMMER et al. 1997). Histamin, Eosinophil Cationic Protein (ECP), Eosinophil Protein X (EPX) und Myeloperoxidase (MPO) zeigten in FFP signifikant höhere Werte als im Plasma der entsprechenden Blutspender, wobei die Konzentrationen in gefilterten Konserven mit denen der Blutspender vergleichbar waren. Die Konzentrationen an Histamin, ECP und MPO lagen in FFP, welches eingefroren und wieder aufgetaut worden war, signifikant höher als in unbehandeltem FFP. Somit wurde gezeigt, dass bioaktive Substanzen in FFP vorkommen und teilweise durch den Vorgang des Einfrierens und Auftauens akkumulieren. Wahrscheinlich

erscheint den Autoren eine Freisetzung aus verbliebenen Leukozyten, da die leukozytenreduzierten Einheiten geringere Konzentrationen aufwiesen. Möglicherweise ist die Lagerungsdauer bei der Akkumulation von untergeordneter Bedeutung.

Die beiden FFP-Proben der vorliegenden Untersuchung zeigten keinen Anstieg der VEGF-Konzentration nach 4 bzw. 6wöchiger Lagerung, die Messungen lagen wie die Ausgangswerte unter der Nachweisgrenze von 9 pg/ml.

3. VEGF in gefilterten Blutprodukten

3.1. Leukozytenreduktion

In einer humanmedizinischen Studie wurde wie in der vorliegenden Untersuchung Vollblut bei Raumtemperatur vor der Lagerung mittels eines Filters leukozytendepletiert (HAMMER et al. 1997). Das Gesamtvolumen der 8 Einheiten wurde von 518 (507 – 521) ml/Konserve auf 489 (480 – 492) ml/Konserve reduziert, die Erythrozytenzahl blieb mit $1,97 (1,87 – 2,34) \times 10^{12}$ Zellen/Konserve vor Filtration und $1,88 (1,88 – 2,19) \times 10^{12}$ Zellen/Konserve nach Filtration nahezu konstant. Die Leukozytenzahl dagegen sank signifikant von $2,5 (1,8 – 3,2) \times 10^9$ Zellen/Konserve auf $2,4 (2,4 – 2,5) \times 10^5$ Zellen/Konserve, ebenso die Thrombozytenzahl, die vor Filtration $110 (80 – 146) \times 10^9$ und nach Filtration $3 (1-4) \times 10^9$ Zellen/Konserve betrug.

Die Leukozytenreduktion durch den Einsatz des routinemäßig in der Humanmedizin verwendeten Filters (Sepacell RS-2000, Baxter, Unterschleißheim) wurde bei caninen Blutprodukten bereits durchgeführt (BROWNLEE et al. 2000).

In der vorliegenden Untersuchung wies eine Probe eine Leukozytenzahl von 200 Zellen/ μ l auf, während in den anderen 4 Proben nach der Filtration die Zellzahl unterhalb der Nachweisgrenze lag. Die Erythrozytenwerte dagegen hielten sich in einem vergleichbaren Bereich, wobei mehrere Proben nach der Filtration sogar höhere Zellzahlen aufwiesen. Bei den Thrombozytenzahlen dagegen zeigten alle untersuchten Proben einen deutlichen Abfall durch Filtration. Es handelt sich zwar um sehr kleine Zellen verglichen mit Erythrozyten und Leukozyten, doch die Entfernung erfolgt bei den Filtern der 3. Generation nicht wie bei den Vorgängermodellen durch Poren, sondern nur untergeordnet über eine mechanische Siebfunktion und vornehmlich durch die adhäsive Wirkung des Materials. Somit ist nicht die Größe der Zellen, sondern deren Ladung von Bedeutung. Da Thrombozyten mit den zurückgehaltenen Leukozyten interagieren, werden sie auf diese Weise indirekt durch Adhäsion zurückgehalten (CALLAERTS et al. 1993; STENEKER et al. 1993; VAN DER MEER et al. 1999).

In der einzigen veterinärmedizinischen Studie zur Verwendung von Leukozytenfiltern bei caninen Blutprodukten wurde 5 Hunden im Abstand von 8 Wochen je 450 ml Vollblut entnommen (BROWNLEE et al. 2000). Je eine Konserve wurde direkt im Anschluss an die Entnahme gefiltert und je eine erst nach 4 Tagen Lagerung bei 4°C, um den Effekt der Kühlung auf die Effizienz der Filtration zu untersuchen. Bei dem Filtersystem handelte es sich um den Filter der 3. Generation, der auch in der vorliegenden Studie verwendet wurde. Die Dauer der Filterpassage betrug 7 min bei dem ungekühlten und 15,6 min bei dem gekühlten Blut. Die Temperatur hatte keinen Einfluss auf den durchschnittlichen Blutverlust, der bei ca. 52 ml lag. Die Zellzahlen vor und nach Filtration sind in Tabelle 22 dargestellt. Sie unterscheiden sich nicht wesentlich von den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung, interessant ist jedoch, dass der Grad der Leukozytenreduktion bei vorheriger Kühlung des Vollblutes effektiver ist. In ungekühltem Blut erfolgte eine \log_{10} -Reduktion für Leukozyten und eine 2 \log_{10} -Reduktion für Thrombozyten, während in gekühltem Blut eine 4 \log_{10} -Reduktion für Leukozyten und eine 2 \log_{10} -Reduktion für Thrombozyten erreicht wurden. Eine mögliche Erklärung ist die erhöhte Viskosität des gekühlten Blutes, die zwar die Adhäsion nicht beeinflusst, aber durch eine verlangsamte Fließgeschwindigkeit die mechanische Siebfunktion verstärkt (VAN DER MEER et al. 1999).

Tabelle 22 Zellzahlen vor und nach Filtration von gekültem und ungekühltem Blut (Brownlee et al, 2000)

		Leukozyten x 10⁶/Konserve	Thrombozyten x 10⁹/Konserve	Hämatokrit (%)
Nicht gekühlt	Vor Filtration	3728 +/- 1734	120,8 +/- 40,6	37,0 +/- 2,0
	Nach Filtration	326,3 +/- 136,5	6,17 +/- 2,79	37,5 +/- 2,0
	Reduktion (%)	88,9 +/- 3,8	95,4 +/- 3,3	
Gekühlt	Vor Filtration	3368 +/- 378	109 +/- 23	41,6 +/- 2,6
	Nach Filtration	0,16 +/- 0,12	3,80 +/- 1,48	41,9 +/- 2,2
	Reduktion (%)	99,996 +/- 0,004	96,4 +/- 2,0	

In der vorliegenden Studie wurden, obwohl keine vorherige Kühlung erfolgte, ebenfalls ein Grossteil der Leukozyten und Thrombozyten entfernt (Tab. 16). Vier der 5 Proben zeigten keine messbare Leukozytenzahl, die Thrombozyten waren um den Faktor 34 bis 293 reduziert, eine Probe wies keinen messbaren Wert auf. In einer humanmedizinischen Untersuchung wurde die Filtration von Vollblut und bereits durch Zentrifugation gewonnene Blutkomponenten im Hinblick auf Verlust an Leukozyten und Thrombozyten verglichen. Die nach der Auftrennung gefilterten Blutprodukte zeigten ein signifikant kleineres Gesamtvolumen, die Effektivität der Entfernung von Leukozyten und Thrombozyten war jedoch gleich (RIGGERT et al. 1995).

In Bezug auf einige Vorteile des Filtereinsatzes wie Vorbeugung der Freisetzung von bioaktiven Substanzen und Hypersensitivitätsreaktionen ist der Verlust von Thrombozyten durchaus erwünscht. Soll dieser jedoch vermindert werden, steht zum Beispiel die Apheresetechnik als leukozytenreduzierende Massnahme alternativ zur Filtration zur Verfügung (MOOG und MÜLLER 1999). Ausserdem existieren auch Filtersysteme, die zum Beispiel für die Herstellung von Thrombozytenpräparaten geeignet sind und einen geringeren Thrombozytenanteil zurückhalten bei vergleichbarer Leukozytenreduktion (SWEENEY et al. 1995).

In der oben genannten veterinärmedizinischen Studie wurde ausser dem Volumenverlust und den Zellzahlen die Lebensfähigkeit der gefilterten Erythrozyten nach 35tägiger Lagerungsdauer in vivo mittels Biotinylation untersucht (BROWNLEE et al. 2000). Weder der Vitalitätsindex (Posttransfusion viability, PTV), noch die ATP-Konzentration und der Hämoglobingehalt der gefilterten Ec-Konzentrate zeigten signifikante Abweichungen von bereits ermittelten Werten von nicht-gefilterten gelagerten Ec-Konzentraten und übertrafen die Mindestanforderungen der Food and Drug Association (FDA) (WALKER 1993).

In der vorliegenden Untersuchung konnte wie in der oben genannten Studie gezeigt werden, dass die Leukozytenreduktion durch humanmedizinische Filter in der caninen Transfusionsmedizin erfolgreich durchgeführt werden kann.

3.2. VEGF nach der Auftrennung in Ec-Konzentrat und FFP und im Verlauf der Lagerung

Der Anstieg von VEGF in den ungefilterten Ec-Konzentraten konnte durch Leukozytendepletion in den gefilterten Konserven verhindert werden. Keine Probe wies im Verlauf der dreiwöchigen Lagerung eine messbare VEGF-Konzentration auf.

Eine humanmedizinische Untersuchung beschäftigte sich mit der VEGF-Konzentration in verschiedenen Blutprodukten wie Vollblut (VB) gefiltert und ungefiltert, Blut in Salin-Adenin-Glukose-Mannitol (SAGM) nach Entfernung des Buffy coats, thrombozytenreichem Plasma (PRP) und Thrombozytenkonzentrat aus dem Buffy coat (BC-PC) (BRÜNNER et al. 1999). Für die Bestimmung des Gesamtgehalts wurden Proben der jeweiligen Blutkonserve verdünnt und fünfmal eingefroren und aufgetaut, um eine vollständige Zellzerstörung zu erreichen. Ungefiltertes VB und ungefiltertes SAGM-Blut enthielt 141,9 (64,4-174,9) ng bzw. 25,3 (3,3-48,4) ng VEGF pro Konserve, nach Filtration lag die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze. Gefiltertes und nicht gefiltertes PRP enthielt 29,2 (24,8-124,9) bzw. 28,7 (24,5-118,6) ng VEGF pro Konserve, nicht-gefiltertes BC-PC 127,2 (54,6-198,0) ng/Konserve, nach Filtration 73,9 (50,4-128,4) ng pro Konserve. Die nicht-gefilterten Blutprodukte zeigten nach 35tägiger (SAGM-Blut und VB) bzw. 7tägiger Lagerungszeit (BC-PC) eine deutliche Akkumulation der VEGF-Konzentration, die gefilterten Konserven wurden jedoch nicht im Lagerungsverlauf untersucht. In einer anderen Studie betrug die VEGF-Konzentration in leukozytenreduziertem Vollblut 25,06 (19,02 – 44,89) pg/ml vor der Lagerung und 23,32 (17,44 – 28,8) pg/ml nach 5 Tagen, während in nicht-gefiltertem Vollblut eine signifikante Akkumulation von VEGF stattfand (PATEL 2002).

Auch die vorliegende Untersuchung zeigt, dass eine mögliche Freisetzung von VEGF durch die Aktivierung von Thrombozyten während des Filtrationsprozesses nicht stattzufinden scheint. Dieses deckt sich mit einer humanmedizinischen Studie, die eine relevante Thrombozytenaktivierung durch Filtration ausschliesst (METCALFE et al. 1997).

Da schon bei den nicht-gefilterten FFPs kein Anstieg der VEGF-Konzentration messbar war, war wie zu erwarten auch in den beiden gelagerten FFPs keine Akkumulation von VEGF nachzuweisen. In einer humanmedizinischen Studie wurde zwar gezeigt, dass FFP keineswegs azellulär ist und relevante Leukozytenzahlen aufweisen kann (WILLIS et al. 1998), die eine Filtration rechtfertigen, jedoch scheinen diese zumindest beim Hund keine Auswirkung auf die Freisetzung von VEGF während der Komponentenpräparation oder der Lagerung zu haben.

Prinzipiell kann die Filtration vor der Lagerung oder während der Transfusion stattfinden. Viele Autoren sprechen sich für die Leukozytendepletion vor der Lagerung aus, da so die Freisetzung von Zytokinen aus Leukozyten verhindert wird (BORDIN et al. 1994a; MUYLLE und PEETERMANS 1994; SPROGOE-JAKOBSEN et al. 1995; EDVARSEN et al. 1996). Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung bestätigen eine Verhinderung des VEGF-Anstiegs in gelagerten Ec-Konzentraten durch Filtration vor der Lagerung.

Die Filtration von Blutprodukten vor der Lagerung birgt durch die Verringerung diverser unerwünschter Transfusionsreaktionen, Infektionsübertragungen, Virusreaktivierungen und möglicherweise postoperativen Infektionen, Tumorrezidivraten und Verbrauch an Thrombozytenpräparaten viele Vorteile (BRAND 1994b; BRAND 1994a; MILLER und MINTZ 1995; BLUMBERG und HEAL 1996; BLAJCHMAN 1999) (siehe Kap. 5.1.). In der humanmedizinischen Transfusionspraxis rentieren sich die mit ca. 40 € pro Beutel vergleichsweise hohen Kosten. Für die canine Transfusionsmedizin sind ähnliche Vorteile der Leukozytendepletion denkbar, in der vorliegenden Untersuchung konnte die lagerungsbedingte Akkumulation von VEGF in gelagerten Ec-Konzentraten verhindert werden. Allerdings existieren kaum Daten zum Einsatz von Filtern und den Folgen, die durch die Gabe von ungefilterten Blutprodukten entstehen sowie zur Auswirkung von zirkulierendem VEGF beim Hund. Der routinemäßige Einsatz in der veterinärmedizinischen Praxis ist durch den hohen Aufwand, den Volumenverlust und nicht zuletzt die hohen Kosten derzeit eher unwahrscheinlich.

4. Untersuchungen an Patienten

4.1. VEGF im Plasma transfundierter Patienten

Immunsuppression, ein erhöhtes Risiko für infektiöse Komplikationen und ein verkürztes Intervall für Tumorrezidive sind bekannte adverse Effekte von Bluttransfusionen. Der Mechanismus beruht wahrscheinlich auf dem Vorhandensein von bioaktiven Substanzen wie VEGF, die während der Lagerung von Blutkomponenten aus Thrombozyten und Leukozyten freigesetzt werden und so das sensible Gleichgewicht der Angiogenesefaktoren beeinflussen (siehe Kap. 4.3). Der immunmodulatorische Effekt sowie das Auftreten unerwünschter Nebeneffekte scheinen mit der Länge der Lagerungszeit der entsprechenden Blutkomponente zu korrelieren (MYNSTER et al. 1998; ZALLEN et al. 1999; MYNSTER und NIELSEN 2000).

In einer humanmedizinischen Studie wurde ein Anstieg der VEGF-Konzentration (durchschnittlich um 118 pg/ml) und der Abfall von Endostatin im Serum als Zeichen einer Imbalanz angiogener Faktoren bei Empfängern von leukozytenreduzierten Ec-Präparaten 24 Stunden nach Ende der Transfusion festgestellt. Dieser Effekt zeigte sich bei 73% bzw. 70% der transfundierten Patienten und war besonders deutlich, wenn 2 oder mehr Konserven verabreicht worden waren. Zudem zeigte sich eine Steigerung der Angiogenese durch Zugabe von gelagertem Blut in in vitro Assays. Die Konserven waren durchschnittlich 21 Tage alt. Auch hier galten eine bekannte Tumorerkrankung und ein chirurgischer Eingriff weniger als

24 Stunden vor Transfusion als Ausschlusskriterien (PATEL et al. 2004). Für den Hund existieren bisher keine entsprechenden Daten.

Bei den vorliegenden Untersuchungen blieb ein solcher Anstieg der Plasmakonzentration von VEGF aus, bei 2 der 5 Patienten fielen die Werte sogar ab. Da als einzige Ausschlusskriterien festgelegt wurden, dass die Hunde niemals zuvor transfundiert worden waren und während der Untersuchung nicht operiert wurden, stellte sich die Patientengruppe sehr heterogen dar, so dass im Folgenden auf jeden Patienten einzeln eingegangen wird:

Patient 1 (Hämoabdomen nach Autounfall)

Patient 1 zeigte mit 154,0 pg/ml einen sehr hohen Ausgangswert der VEGF-Konzentration. Nach der Transfusion fielen die Werte kontinuierlich von 142,0 pg/ml direkt nach deren Ende auf 74,4 pg/ml nach 6 Stunden über 67,2 pg/ml nach 12 Stunden auf 52,7 pg/ml nach 24 Stunden ab. Der hohe Ausgangswert kann mit der Freisetzung von VEGF durch das Trauma bzw. durch die Koagulation erklärt werden, da aktivierte Thrombozyten VEGF im abdominalen Blut freisetzen (WARTIOVAARA et al. 1998). Die folgenden Messungen wurden somit wahrscheinlich durch die Transfusion nicht beeinträchtigt und ergaben sich aus der Resorption bzw. dem Abbau des durch die Blutgerinnung und das vorausgegangene Trauma freigesetzten VEGF, zumal die verabreichte Konserve lediglich einen Tag alt war und die transfundierte Menge Ec-Konzentrat mit 8,4 ml/kg Körpergewicht vergleichsweise gering.

Patient 2 (sekundäre Immunhämolyse nach Schussverletzung)

Der Patient zeigte zu keinem Zeitpunkt eine messbare VEGF-Konzentration im Plasma. Das Trauma sowie die durchgeführte Operation hätten durch verstärkte Thrombozytenaktivierung eine erhöhte Ausgangskonzentration von VEGF im Plasma erklären können. Zudem zeigte der Patient hohe Leukozyten- (78,58 G/l) und Thrombozytenzahlen (485 G/l), die jedoch ebenfalls keine Rolle gespielt zu haben scheinen.

Die verabreichte Konserve war eine Woche alt, und es wurden 7,5 ml/kg Körpergewicht Ec-Konzentrat transfundiert, also ebenfalls eine relativ geringe Menge.

Patient 3 (V.a. sekundäre Immunhämolyse nach Ketoazidose und Pyometra)

Bei diesem Patienten ergaben sich messbare VEGF-Konzentrationen nach 6 Stunden (176,0 pg/ml) und nach 24 Stunden (74,4 pg/ml); die Werte vor Transfusion, direkt danach und 12 Stunden nach Ende der Transfusion lagen unterhalb der Nachweisgrenze.

Der Patient erhielt von allen untersuchten Hunden die älteste Konserve (12 Tage) und die größte Menge Ec-Konzentrat (15 ml/kg KG), so dass ein Anstieg der VEGF-Konzentration

durch die Transfusion erklärt werden könnte. Eine hohe Konzentration nach 6 Stunden deckt sich auch mit den Ergebnissen einer anderen Untersuchung.

Da der 12 Stunden-Wert jedoch unterhalb der Nachweisgrenze lag, muss an eine Verunreinigung gedacht werden, zumal der ELISA sehr sensitiv ist und auf kleinste Mengen VEGF reagiert (Herstellerangabe), die unter Umständen über den Speichel der Mitarbeiter, die ohne Mundschutz arbeiteten, in die Probe gelangt sein könnte.

Andererseits wäre auch ein Fehler bei der 12 Stunden-Messung denkbar.

Patient 4 (primäre IHA)

Bei diesem Hund lagen alle erhobenen VEGF-Werte unterhalb der Nachweisgrenze.

Der Patient erhielt mit 11 Tagen Lagerungszeit nach Patient 2 das zweitälteste Ec-Konzentrat und mit 10 ml/kg Körpergewicht eine durchschnittliche Menge, so dass ein Anstieg von VEGF im Plasma denkbar gewesen wäre.

Nach Ende der Transfusion erhielt der Patient einmalig ein Kortisonpräparat mit dem Wirkstoff Prednisolon-21-hydrogensuccinat (SoluDecortin® 10 mg/kg, Merck Pharma GmbH, Darmstadt) intravenös, sowie vor der 24 Stunden-Messung 0,8 mg/kg KG Prednisolon per os.

Es ist beschrieben, dass Kortison die Freisetzung von VEGF unterdrückt. Dazu gibt es eine Studie im Kaninchenmodell zur Untersuchung von VEGF als Ursache für ein Versagen der Blut-Retina-Schranke, welches durch die Gabe von Dexamethason verhindert werden konnte (EDELMAN et al. 2005). In zwei anderen Untersuchungen an Zellkulturen wurde festgestellt, dass der Stimulus durch den Platelet-activating factor (PAF) und verschiedene Isoformen des Platelet-derived growth factor (PDGF) zur Transkription von VEGF durch die Anwesenheit von Kortison, Hydrokortison, Dexamethason und Prednisolon in nanomolaren Mengen verhindert wird (NAUCK et al. 1997; NAUCK et al. 1998). Somit ist die Kortisongabe möglicherweise eine Erklärung für die niedrigen VEGF-Werte in der vorliegenden Untersuchung.

Patient 5 (primäre IHA)

Das verabreichte Ec-Konzentrat war lediglich 2 Tage gelagert worden, die transfundierte Menge mit 11 ml/kg KG durchschnittlich.

Alle untersuchten Proben dieses Hundes ergaben ebenfalls Werte unterhalb der Nachweisgrenze.

Auch diesem Patienten wurden am Tag der Vorstellung einmalig etwa 10 mg/kg KG Prednisolon-21-hydrogensuccinat (SoluDecortin®, Merck Pharma GmbH, Darmstadt) i.v. verabreicht, sowie in den folgenden Tagen 2x täglich 0,9 mg/kg Körpergewicht Prednisolon

per os. Der Patient stand also zu Beginn der Probennahme bereits 2 Tage unter Kortison, wodurch ähnlich wie bei Patient 4 eine mögliche Erklärung für den ausbleibenden Anstieg der VEGF-Konzentration gegeben ist.

Insgesamt erscheint die untersuchte Patientengruppe zu heterogen und zu klein, um eine Aussage über VEGF bei transfundierten caninen Patienten treffen zu können. Zudem waren bei allen untersuchten Hunden die Lagerungszeit des Ec-Konzentrats sehr kurz und die verabreichte Menge im Vergleich zu humanmedizinischen Patienten relativ gering. In der oben genannten humanmedizinischen Studie erhielten die Patienten 2-4 (Median 2) Einheiten eines SAGM (Saline, Adenin, Glukose, Mannitol)- Erythrozytenkonzentrates, die Lagerungsdauer wird jedoch nicht erwähnt (PATEL et al. 2004).

Interessant wären Untersuchungen über den Einfluss von Leukozyten- und Thrombozytenzahlen sowie Therapeutika wie Kortison auf die Freisetzung von VEGF.

4.2. VEGF im Plasma von Patienten mit abdominaler Masse

Das Hämangiosarkom (HAS) stellt einen hochmalignen Tumor des Gefäßendothels dar. Es kommt mit 2% aller Tumoren besonders häufig beim Hund vor und geht meist von der Milz aus. Andere Lokalisationen stellen rechter Vorhof, Perikard, Leber, Muskulatur, Lunge, Haut, Unterhaut, Knochen, Niere, ZNS, Peritoneum oder Maulhöhle dar. Man geht davon aus, dass zwei Drittel aller Milzmassen maligne sind und von denen wieder zwei Drittel HAS. Besonders betroffen sind ältere Hunde mit einem medianen Alter von 9-10 Jahren und Deutsche Schäferhunde (DSH), aber auch andere große Rassen wie Labrador Retriever erscheinen überrepräsentiert (BERGMAN 2005).

In der vorliegenden Untersuchung wurden 8 Patienten ausgewählt, die bei der sonographischen Untersuchung des Abdomens eine Umfangsvermehrung in der Milz und bis auf Patient 13 freie Flüssigkeit aufwiesen. Bei den 6 bestätigten HAS-Patienten handelte es sich um 3 große Mischlinge (2 x DSH, 1 x Boxer), 2 mittelgroße Hunde (Terrier-Mischling, Puli) und einen kleinen Hund (West Highland White Terrier). Das mediane Alter betrug 7,5 (6 – 13 Jahre). Somit sind zwar auch hier in erster Linie große und ältere Hunde betroffen, allerdings ist die Patientenzahl gering und die Auswahl der Hunde nicht repräsentativ.

In einer Studie wurden die VEGF-Konzentrationen im Plasma von Patienten mit HAS untersucht (CLIFFORD et al. 2001). Bei den 16 Hunden waren 7 verschiedene große Rassen vertreten, davon 7 Mischlinge (1 x DSH, 1 x Labrador Retriever, 5 andere), 3 Golden Retriever, 3 DSH, 1 Husky, 1 Labrador Retriever und eine Dänische Dogge. Das mediane Alter betrug 10 (5-12) Jahre.

In der vorliegenden Studie wurde von allen 6 Patienten ein Blutbild gemacht. Es ergab sich ein medianer Hämatokrit von 0,26 (0,32 - 0,49) l/l, 5 Patienten waren anämisch. Bei CLIFFORD et al. (2001) wurde bei 15/16 Patienten ein Blutbild erstellt. Der mediane Hämatokrit lag bei 0,36 (0,20 - 0,57) l/l, 8 Hunde hatten eine Anämie. Die Thrombozytenzahl wurde bei 12 Hunden bestimmt. Der mediane Wert betrug 44 (8,6 – 210) G/l, während in der vorliegenden Studie die Thrombozytenzahl bei 84,5 (12 – 218) G/l lag. Ein Vergleich der Werte ist aufgrund der geringen Fallzahl in der vorliegenden Studie und wegen der unterschiedlichen Zellzählgeräte mit verschiedenen Referenzwerten nicht möglich. Bei der Untersuchung auf VEGF lagen in der oben genannten Studie von 16 Hunden mit HAS 4 unterhalb des Referenzwertes, die mittlere Konzentration betrug 17,2 pg/ml mit einer Spanne von <1 – 66,7 pg/ml. Es konnte keine Korrelation zwischen der VEGF-Konzentration und dem Tumorstaging, dem Hämatokrit, der Leukozyten- oder Thrombozytenzahl hergestellt werden. Auch in der vorliegenden Studie lag die Plasma-Konzentration von VEGF bei 3/6 Hunden unterhalb der Nachweisgrenze. Die anderen 3 Patienten wiesen Werte von 33,4 (P6), 33,0 (P9) und 105,8 pg/ml (P11) auf. Auch hier konnte kein Zusammenhang zwischen den Laborwerten hergestellt werden, jedoch eine Korrelation zum Tumorstaging, wobei eine statistische Aussage wegen der geringen Patientenzahl nicht zu treffen ist. Auch die Feststellung, dass die beiden Patienten mit einem rupturierten Hämatom (P12) bzw. einer nodulären Hyperplasie (P13), also benignen Erkrankungen, keine messbaren VEGF-Werte aufwiesen, erscheint schlüssig, aber aufgrund der geringen Fallzahl nicht repräsentativ. In der Studie von CLIFFORD et al. 2001 betrug bei einem Cutoff-Wert von 1 pg/ml die Sensitivität für die Entdeckung eines Hämangiosarkoms 76,5 %, die Spezifität 94,1 %. Die Autoren gaben als Begründung für die relativ niedrigen VEGF-Werte eine mögliche Sensibilisierung des Hämangiosarkom-Gewebes gegenüber niedrigen VEGF-Konzentrationen zu bedenken. Auch dass VEGF₁₆₅ bei der Angiogenese in manchen Fällen nicht die Hauptrolle spielt, sondern diese durch andere Wachstumsfaktoren oder lokal wirkende VEGF-Isoformen gefördert wird, erscheint möglich (CLIFFORD et al. 2001).

Beim Menschen entspricht das Angiosarkom (AS) dem HAS des Hundes. In einer Untersuchung wurde VEGF bei 2 AS-Patienten gemessen. Die Serum-Werte waren nicht erhöht im Vergleich zu Gesunden, und das Tumor-Gewebe zeigte keine deutlichere VEGF-Expression als benigne vaskuläre Läsionen oder hypervaskularisierte Tumoren (FUJIMOTO et al. 1998).

Eine weitere veterinärmedizinische Studie beschäftigt sich mit der VEGF-Konzentration in Körperhöhlenergüssen von 35 Hunden (CLIFFORD et al. 2002). Es wurden neoplastische und

nicht-neoplastische Ergüsse von Perikard, Pleura und Peritoneum untersucht. In 37 von 38 untersuchten Ergussflüssigkeiten konnte VEGF nachgewiesen werden in einer medianen Konzentration von 754 (18-3669) pg/ml. Perikardiale und pleurale Flüssigkeiten wiesen signifikant höhere Werte auf als abdominale Ergüsse. Es gab keine Unterschiede zwischen benignen und malignen Ergüssen und keine Korrelation zwischen VEGF-Werten und Zellzahl, Proteingehalt oder Flüssigkeitsmenge. Von den 35 Patienten wurde bei 3 Patienten mit einem perikardialen und 5 Patienten mit einem peritonealen Erguss ein Hämangiosarkom diagnostiziert. Diese Hunde wiesen einen medianen VEGF-Wert von 579 (18 – 3459) pg/ml auf.

In einer anderen Studie zeigten 4 Hunde mit Hämangiosarkom eine wesentlich höhere VEGF-Konzentration im Erguss als im Plasma (KUHNER et al. 2000).

Auch in der vorliegenden Studie wiesen 2 intraoperativ aus der Bauchhöhle entnommene Ergussproben wesentlich höhere VEGF-Konzentrationen als die zugehörigen Plasmaproben auf. So enthielt die Plasmaprobe von Patient 6 33,4 pg/ml und die abdominale Probe 1616,6 pg/ml, die Plasmaprobe von Patient 9 33,0 pg/ml und die abdominale 624,7 pg/ml.

Eine mögliche Erklärung könnte das durch die Ruptur des Tumors freigesetzte intratumorale VEGF oder das durch Mikrometastasen produzierte VEGF sein. Hätte man vergleichbare Proben von den Patienten mit benignen Milzmassen, wäre noch eine Freisetzung aus den an der Koagulation beteiligten Thrombozyten zu diskutieren.

Obwohl wenig über die Resorption von VEGF aus Ergüssen bekannt ist, sprechen diese und andere Untersuchungsergebnisse dagegen, dass diese in großem Maße stattfindet (HARLOZINSKA et al. 2004).

Insgesamt lässt sich sagen, dass die vorliegenden Ergebnisse mit einer höheren VEGF-Konzentration im Plasma von einigen aber nicht allen HAS-Patienten und einem höheren Wert in Ergüssen im Vergleich zum Plasma trotz der geringen Patientenzahl anderen Studien entsprechen. Weitere Untersuchungen von Patienten mit malignen und benignen Erkrankungen wären jedoch wünschenswert. So könnte eine Anpassung der Zuordnung von Patient und Konserve vorgenommen werden, indem Patientengruppen mit hohen VEGF-Konzentrationen im Plasma bzw. mit neoplastischen Erkrankungen gefilterte oder frische Konserven erhalten.

V. Zusammenfassung

Die vorliegende Dissertation hatte zum Ziel, einen Literaturüberblick über Transfusionsrisiken bei Mensch und Hund zu geben. Dabei wurde die Akkumulation von Vascular endothelial growth factor (VEGF) in gelagerten Blutkonserven genauer betrachtet. VEGF ist einer der wichtigsten Wachstumsfaktoren für Gefäße und somit wichtig während Embryonalentwicklung und Wundheilung. Zudem ermöglicht VEGF Tumoren den Anschluss an das Gefäßsystem und erleichtert durch seine permeabilitätssteigernde Wirkung die metastatische Ausbreitung. Die Bildung von VEGF findet nicht nur in Endothel- und Tumorzellen, sondern auch in Thrombozyten und Leukozyten statt. Da diese in Blutkonserven zerfallen, stieg in humanmedizinischen Studien die VEGF-Konzentration in gelagerten Blutprodukten wie Vollblut und thrombozytenreichem Plasma an. Durch den Einsatz von Leukozytenfiltern vor der Lagerung kann diese Anreicherung vermindert werden. Die Freisetzung von VEGF aus Tumorgewebe ist bei Hunden beschrieben, doch es gibt bisher keine Daten zur Akkumulation von VEGF in Blutkonserven. Der Einsatz von Leukozytenfiltern bei Vollblut vor der Auftrennung und Lagerung bei Hunden wurde bereits beschrieben.

Ziel des experimentellen Teils der Dissertation war es, die Anreicherung von VEGF in caninen Blutkonserven während des Lagerungsverlaufs sowie den Einfluss von Leukozytenfiltern zu untersuchen. Dazu wurden Plasmaproben von 10 caninen Blutspendern entnommen und mittels eines humanen ELISA, der bereits für canines VEGF etabliert worden war, untersucht. Die Proben wurden in Zitratplasmaröhrchen gesammelt, die durch den Zusatz von Theophyllin, Adenosin und Dipyridamin eine maximale Thrombozytenstabilität gewährleisteten. Fünf der 10 Vollblut-Spenden wurden vor der Auftrennung in Erythrozytenkonzentrat und frisch gefrorenes Plasma durch einen Filter der 3. Generation (Sepacell RS-2000, Baxter, Unterschleißheim) leukozytenreduziert. Direkt nach der Auftrennung erfolgte die Probenentnahme aus Erythrozytenkonzentrat und frisch gefrorenem Plasma, und in wöchentlichem Abstand wurden Aliquoten der Erythrozytenkonzentrate untersucht. Frisch gefrorene Plasma-Proben, von denen je 2 gefiltert und nicht-gefiltert waren, wurden nach ca. 4 bzw. 6 Wochen untersucht.

Es gab keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Erythrozytenzahl zwischen gefilterten und ungefilterten Konserven. Durch die Leukozytenfilter wurden jedoch sowohl Leukozyten als auch Thrombozyten effektiv entfernt (Leukozytenzahl 0 – 0,2 G/l und Thrombozytenzahl

0 – 10 G/l nach Filtration). Die VEGF-Konzentration lag im Plasma von 9 der 10 Blutspender unterhalb der Nachweisgrenze von 9 pg/ml, in einer Plasmaprobe betrug die Konzentration 12 pg/ml. Der VEGF-Wert war < 9 pg/ml in allen Erythrozytenkonzentraten und frisch gefrorenen Plasma-Konserven direkt nach der Auftrennung. Nach 1 Woche Lagerungszeit lag die mediane VEGF-Konzentration der 5 ungefilterten Ec-Konzentrate bei 37 (0-139) pg/ml, nach 2 Wochen bei 164 (0-333) pg/ml und nach 3 Wochen bei 110 (37-358) pg/ml. In den 5 gefilterten Erythrozytenkonzentraten und in allen gelagerten frisch gefrorenen Plasma-Konserven blieb die VEGF-Konzentration während der gesamten Lagerungszeit unterhalb der Nachweisgrenze.

In einem zweiten Teil der Arbeit erfolgte die VEGF-Messung im Plasma von 5 transfundierten Hunden, die niemals zuvor eine Transfusion erhalten hatten und während des Probenentnahmeintervalls nicht operiert wurden. Die Untersuchung wurde vor, direkt nach und 6, 12 und 24 Stunden nach Ende der Transfusion durchgeführt. Die VEGF-Konzentration von 3 der 5 Patienten lag zu jedem Zeitpunkt unterhalb der Nachweisgrenze. Bei einem Hund fiel der VEGF-Wert von 154 pg/ml vor Transfusion auf 53 pg/ml 24 Stunden nach Transfusion ab. Ein weiterer Hund zeigte nach 6 Stunden (176 pg/ml) und nach 24 Stunden (74 pg/ml) messbare Werte. Die Patientengruppe war für ein aussagekräftiges Ergebnis jedoch zu klein und zu heterogen.

Weiterhin wurde 8 Hämangiosarkom-verdächtigen Hunden mit rupturierter abdominaler Masse in Milz (n=7) oder Leber (n=1) einmalig eine Plasmaprobe entnommen und untersucht. Zwei Patienten, deren Milzmassen sich als benigne herausstellten, zeigten Werte <9 pg/ml, ebenso wie 3 von 6 Patienten mit bestätigtem Hämangiosarkom. Bei den anderen 3 Patienten ergaben sich Werte zwischen 33 und 106 pg/ml, wobei 2 Aszitesproben wesentlich höhere Werte (625 bzw. 1617 pg/ml) aufwiesen als die entsprechenden Plasmaproben.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Transfusionsmedizin ein wichtiger Bestandteil der Human- sowie der Veterinärmedizin ist. Viele Risiken können durch sorgfältige Abnahme und Herstellung, einen verantwortungsvollen Umgang mit Blutprodukten und die Weiterentwicklung des Zubehörs minimiert werden. Leukozytenfilter werden in der Humanmedizin routinemäßig verwendet. Sie sind geeignet, auch in caninen Blutprodukten die Freisetzung von VEGF während der Lagerung zu verhindern. Die im Vergleich zu den üblichen Mehrbeutelssystemen hohen Kosten könnten jedoch die routinemäßige Anwendung in der Veterinärmedizin limitieren. Allerdings sollte die Verwendung leukozytenreduzierter oder frischer Erythrozytenkonzentrate aufgrund des VEGF-Anstiegs bei der Transfusion von

Hunden mit Hämangiosarkom oder anderen Tumorerkrankungen in Erwägung gezogen werden.

VI. Summary

Transfusion risks in humans and dogs focussing on vascular endothelial growth factor (VEGF) in blood products

The objectives of this study were to review the literature of transfusion risks in humans and dogs, and to determine the accumulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) in stored blood products. VEGF is one of the most potent factors involved in angiogenesis and essential for embryonic development and wound healing. It is also secreted from different tumor cells, thereby promoting tumor angiogenesis and metastatic spread. VEGF is not only produced in endothelial and tumor cells but also in platelets and white blood cells. In stored human blood products such as whole blood and platelet-rich plasma the VEGF concentration increases due to the disintegration of these blood cells. This accumulation can be reduced by prestorage leukoreduction of blood products. The secretion of VEGF from tumor tissue has been reported in dogs; but there are no publications describing its accumulation in canine blood products. The use of a prestorage leukoreduction filter in dogs has been reported recently.

The goal of this study was to evaluate the accumulation of VEGF in filtered and non-filtered canine blood products during storage as well as to evaluate the impact of leukocyte filters. VEGF measurements were performed using a human ELISA which has been evaluated for the detection of canine VEGF recently. VEGF was determined in plasma samples of 10 canine blood donors before donation. Samples were collected in tubes containing sodium citrate, theophyllin, adenosine and dipyridamine allowing maximal platelet stabilisation. Five of the 10 whole blood units were leukocyte-reduced with a 3rd generation filter (Sepacell RS-2000, Baxter, Unterschleißheim) before separation into packed red blood cell units and fresh frozen plasma. Packed red blood cell and plasma samples were taken immediately after separation; further aliquots of the packed red blood cell units were examined at weekly intervals. Fresh frozen plasma samples of 2 filtered and 2 non-filtered units were examined after storage for 4 to 6 weeks.

There was no significant difference regarding the red blood cell counts between filtered and non-filtered units. However the leukoreduction filter effectively removed white blood cells and platelets (WBC count 0 – 0.2 G/l and platelet count 0 – 10 G/l after filtration). The VEGF concentration was below the detection limit of 9 pg/ml in plasma samples of 9 of the 10 blood donors. The VEGF concentration in one dog was 12 pg/ml. VEGF concentration was < 9 pg/ml in all pRBC and FFP units immediately after separation. The median VEGF

concentration in the 5 non-filtered packed red blood cell units was 37 (0 – 139) pg/ml after 1 week, 164 (0 – 333) pg/ml after 2 weeks and 110 (37 – 358) pg/ml after 3 weeks. During the entire storage time the 5 filtered packed red blood cell units and all fresh frozen plasma units had VEGF concentrations below the detection limit.

Furthermore, plasma VEGF of 5 transfused patients were taken. The patients were not transfused previously and there was no surgery performed during the time of sample collection. The samples were examined before transfusion, immediately and 6, 12 and 24 hours after the transfusion. The VEGF concentration of 3 of the 5 dogs was below the detection limit at all time points. In one patient the concentration of VEGF decreased from 154 pg/ml before transfusion to 53 pg/ml 24 hours after transfusion. Another dog had measurable VEGF concentrations after 6 hours (176 pg/ml) and after 24 hours (74 pg/ml). One of the disadvantages of this study was the small and heterogenous study population.

Furthermore 8 single plasma samples of dogs with a suspected hemangiosarcoma and abdominal bleeding from spleen (n=7) or liver (n=1) were taken and examined. Two dogs with benign tumors and 3 of 6 patients with verified hemangiosarcoma had concentrations < 9 pg/ml. The concentration of the other 3 hemangiosarcoma patients ranged from 33 to 106 pg/ml; 2 samples of abdominal blood showed much higher contents (625 and 1617 pg/ml respectively) than the corresponding plasma samples.

In conclusion transfusion medicine is an important part in human medicine and veterinary practice. Many risk factors may be limited by a responsible use of blood products and development of fittings. Leukocyte-reduction filters are routinely used in human medicine. Its use is effective in preventing the release of VEGF during the storage of canine blood products. The higher costs of leukoreduction filters compared to standard multiple pack systems might reduce its routine use in veterinary practice. However the use of leukoreduced or fresh red blood cell products should be considered when transfusing dogs with hemangiosarcoma or other tumors.

VII. Literatur

Abrams-Ogg, A. (2000)

Practical blood transfusion.

In: Manual of canine and feline hematology and transfusion medicine. M. J. Day, A. Mackin und J. D. Littlewood (Hrsg.): Gloucester, British Small Animal Veterinary Association: 263-304.

Abu-Jawdeh, G. M., J. D. Faix und J. Niloff (1996)

Strong expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in ovarian borderline and malignant neoplasms.

Lab Invest **74**: 1105-1115.

Achermann, R. E., S. M. Ohlerth und C. Rohrer-Bley (2004)

Oxygenation of spontaneous canine tumors during fractionated radiation therapy.

Strahlenther Onkol **180**: 1-9.

Adams, M. R., D. K. Johnson, M. P. Busch, C. T. Schembri, T. P. Hartz und W. A. Heaton (1997)

Automatic volumetric capillary cytometry for counting white cells in white cell-reduced plateletpheresis.

Transfusion **37**: 29-37.

Adler, S. P., T. Chandrika, L. Lawrence und J. Baggett (1983)

Cytomegalovirus infections in neonates acquired blood transfusions.

Pediatr Infect Dis **2**: 114-118.

Agarwal, N., J. G. Murphy, G. Cayten und W. M. Stahl (1993)

Blood transfusion increases the risk of infection after trauma.

Arch Surg **128**: 171-177.

Aiello, L. P., R. Avery, R. Arrigg, B. Keyt, H. Jampel, S. Shah, L. Pasquale, H. Thieme, M. Iwamoto, J. E. Park, H. Nguyen, L. M. Aiello, N. Ferrara und G. L. King (1994)

Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders.

N Engl J Med **331**: 1480-1487.

Akahoshi, M., M. Takanashi, M. Masuda, H. Yamashita, A. Hidano, K. Hasegawa, T. Kasajima, M. Simizu, T. Motoji, K. Oshimi und H. Mizoguchi (1992)

A case of transfusion associated graft-versus-host-disease not prevented by white cell-reduction filters.

Transfusion **32**: 169-172.

Akerblom, O. und A. Kreuger (1975)

Studies on Citrate-Phosphate-Dextrose (CPD) blood supplemented with adenine.

Vox Sang **29**: 90-100.

- Alcorta, I., A. Pereira und A. Ordinas (1996)
Clinical and laboratory factors associated with platelet transfusion refractoriness: a case-control study.
Br J Haematol **93**: 220-224.
- Allain, J. P., S. L. Stramer, A. B. F. Carneiro-Proietti, M. L. Martins, S. N. Lopes da Silva, M. Ribeiro, F. A. Proietti und H. W. Reesink (2009)
Transfusion-transmitted infectious diseases.
Biologicals **37**: 71-77.
- Almand, B., J. R. Resser, B. Lindman, S. Nadaf, J. I. Clark, E. D. Kwon, D. P. Carbone und D. Gabrilovich (2000)
Clinical significance of defective dendritic cell differentiation in cancer.
Clin Cancer Res **6**: 1755-1766.
- Amato, A. C. und M. Pescatori (1998)
Effect of perioperative blood transfusions on recurrence of colorectal cancer: meta-analysis stratified on risk factors.
Dis Colon Rectum **41**(5): 570-585.
- Anan, K., T. Morisaki, M. Katano, A. Ikubo, H. Kitsuki, A. Uchiyama, S. Kuroki, M. Tanaka und M. Torisu (1996)
Vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor are potential angiogenic and metastatic factors in human breast cancer.
Surgery **119**: 333-339.
- Anderson, C. R., S. E. Lana und A. Pelphrey (1998)
Vascular endothelial growth factor (VEGF) and microvessel density in canine osteosarcoma.
Proc. 18th Annual Veterinary Cancer Society **12**.
- Anderson, K. C., L. T. Goodnough und M. Sayers (1991a)
Variation in blood component irradiation practice: Implications for prevention of transfusion-associated graft-versus-host-disease.
Blood **77**: 2096.
- Anderson, K. C., B. C. Gorgone, E. Wahlers, J. Cook, B. Barrett und J. Andersen (1991b)
Preparation and utilization of leukocyte poor apheresis platelets.
Transfus Sci **12**: 163-170.
- Anderson, K. C. und H. J. Weinstein (1990)
Transfusion-associated graft-versus-host-disease.
N Engl J Med **323**: 315-321.
- Andreu, G., J. Dewailly, C. Leberre, M. C. Quarre, M. L. Bidet, R. Tardivel, L. Devers, Y. Lam, E. Soreau, C. Boccaccio, N. Piard, J. M. Bidet, B. Genetet und R. Fauchet (1988)
Prevention of HLA immunization with leukocyte-poor packed red cells and platelet concentrates obtained by filtration.
Blood **72**: 964-969.

- Andrews, G. A. (2000)
Red blood cell antigens and blood groups in the dog and cat.
In: Schalm's Veterinary Hematology. B. F. Feldman, J. G. Zinkl und N. C. Jain (Hrsg.):
Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 767-773.
- Anthony, J. G., A. J. Graziella und T. Kathi (1996)
Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its
receptors in endometrial carcinoma.
Cancer **79**: 454-460.
- Aoiki, S. K. und P. V. Holland (1989)
Lyme disease - Another transfusion risk?
Transfusion **29**: 646-649.
- Appleman, E. H., B. S. Sachais, R. Patel, K. J. Drobatz, R. P. Groman, D. R. Kennedy, P. A.
O'Donnell, C. Bryan und M. B. Callan (2009)
Cryopreservation of canine platelets.
J Vet Intern Med **23**: 138-145.
- Appleyard, R. F. und L. H. Cohn (1993)
Myocardial stunning and reperfusion injury in cardiac surgery.
J Card Surg **8**: 316-324.
- Arduino, M. J., L. A. Bland und M. A. Tipple (1989)
Growth and endotoxin production of *Yersinia enterocolitica* and *Enterobacter agglomerans* in
packed erythrocytes.
J Clin Microbiol **27**: 1483-1485.
- Arguin, P. M., J. Singleton und L. D. Rotz (1999)
An investigation into the possibility of transmission of tick-borne pathogens via blood
transfusion.
Transfusion **39**: 828-833.
- AuBuchon, J. P. und C. Pickard (1993)
White cell reduction and bacterial proliferation.
Transfusion **33**: 533.
- Authement, J. M. (1991)
Preparation of components.
In: Comparative Transfusion Medicine. Advances in Veterinary Science and Comparative
Medicine. S. M. Cotter (Hrsg.): San Diego, Academic Press: 171-185.
- Authement, J. M., K. J. Wolsheimer und S. Catchings (1987)
Canine blood component therapie: Product separation, storage and administration.
J Am Vet Anim Hosp Assoc **23**: 483-493.
- Aye, M. T., D. S. Palmer und A. Giulivi (1995)
Effect of filtration of platelet concentrates on the accumulation of cytokines and platelet
release factors during storage.
Transfusion **35**: 117-124.

- Badon, S. J., R. D. Fister und R. G. Cable (1989)
Survival of *Borrelia burgdorferi* in blood products.
Transfusion **29**: 581.
- Balfour, H. H. (1993)
Transfusion and the human immunodeficiency virus.
Transfusion **33**(2): 101-102.
- Banai, S., D. Shweiki, A. Pinson, M. Chandra, G. Lazarovici und E. Keshet (1994)
Upregulation of vascular endothelial growth factor expression induced by myocardial ischemia: implications for coronary angiogenesis.
Cardiovasc Res **28**: 1176-1179.
- Banks, R. E., M. A. Forbes, S. E. Kinsey, A. Stanley, E. Ingham, C. Walters und P. J. Selby (1998)
Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology.
Br J Cancer **77**(6): 956-964.
- Barclay, G. R., J. Hope, C. R. Birkett und M. L. Turner (1999)
Distribution of cell-associated prion protein in normal adult blood determined by flow cytometry.
Br J Haematol **107**: 804-814.
- Barleon, B., S. Sozzani, D. Zhou, H. A. Weich, A. Mantovani und D. Marmé (1996)
Migration of human monocytes in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) is mediated via the VEGF receptor flt-1.
Blood **87**(8): 3336-3343.
- Barrett, B. B., J. W. Anderson und K. C. Anderson (1993)
Strategies for the avoidance of bacterial contamination of blood products.
Transfusion **33**: 228-233.
- Barrett, J., I. Dawidson und H. N. Dhurandhar (1975a)
Pulmonary microembolism associated with massive transfusion: The basic pathophysiology of pulmonary effects.
Ann Surg **182**: 56-61.
- Barrett, J., H. N. Dhurandhar und E. Miller (1975b)
A comparison in vivo of dacron wool (Swank) and polyester mesh (Pall) micropore blood transfusion filters in the prevention of pulmonary microembolism associated with massive transfusion.
Ann Surg **182**: 690-695.
- Barrett, N. A. und P. C. Kam (2006)
Transfusion-related acute lung injury: a literature review.
Anaesthesia **61**(8): 777-85.

Battison, A. (2007)

Apparent pseudohyperkalemia in a Chinese Shar Pei dog.
Vet Clin Pathol **36**: 89-93.

BCSH (2004)

Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant.
The British Society for Hematology **126**: 11-28.

Becker, A., P. Stadler, U. Krause, D. Utzig, G. Hansgen, C. Lautenschlager, F. W. Rath, M. Molls und J. Dunst (2001)

Association between elevated serum VEGF and polarographically measured tumor hypoxia in head and neck carcinomas.

Strahlenther Onkol **177**(4): 182-188.

Bell, K. (1993)

The blood groups of domestic animals.

Red blood cells of domestic mammals. A. S. Agar und P. G. Board (Hrsg.): Amsterdam, Elsevier Science Publisher: 133-164.

Benoy, I., R. Salgado, C. Colpaert, R. Weytjens, P. B. Vermeulen und L. Y. Dirix (2002)

Serum interleukin 6, plasma VEGF, serum VEGF, and VEGF platelet load in breast cancer patients.

Clin Breast Cancer **2**(4): 311-5.

Benoy, I. H., H. Elst, P. Van Dam, S. Scharpe, E. Van Marck, P. B. Vermeulen und L. Y. Dirix (2006)

Detection of circulating tumour cells in blood by quantitative real-time RT-PCR: effect of pre-analytical time.

Clin Chem Lab Med **44**(9): 1082-7.

Beral, W., T. Peterman, R. Berkelman und H. Jaffe (1991)

AIDS-associated non-Hodgkin lymphoma.

Lancet **337**: 805-809.

Berger, D. P., L. Herbstritt, W. A. Dengler, D. Marme, R. Mertelsmann und H. H. Fiebig (1995)

Vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA expression in human tumor models of different histologies.

Ann Oncol **6**: 817-825.

Bergman, P. J. (2005)

Hemangiosarcoma.

In: Textbook of veterinary internal medicine. S. J. Ettinger und E. C. Feldman (Hrsg.): St. Louis, Missouri, Elsevier Saunders. **1**: 758-760.

Berkman, R. A., M. J. Merrill, W. C. Reinhold, W. T. Monacci, A. Saxena, W. C. Clark, J. T. Robertson, I. U. Ali und E. H. Oldfield (1993)

Expression of the vascular permeability/vascular endothelial growth factor gene in central nervous system neoplasm.

J Clin Invest **91**: 153-159.

- Berse, B., L. F. Brown, L. Van de Water, H. F. Dvorak und D. R. Senger (1992)
Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissue, macrophages, and tumors.
Mol Biol Cell **3**: 211-220.
- Bertolini, F., P. Rebutta, L. Porretti und G. Sirchia (1990)
Comparison of platelet activation and membrane glycoprotein Ib and IIb-IIIa expression after filtration through three different leucocyte removal filters.
Vox Sang **59**: 201-204.
- Beutler, E. (2005)
Preservation and clinical use of erythrocytes and whole blood.
In: Williams Hematology. M. A. Lichtman, E. Beutler, T. J. Kipps et al. (Hrsg.): New York, McGraw-Hill Medical: 2159-2174.
- Beynon, J., P. W. Davies und P. J. Billings (1989)
Perioperative blood transfusion increases the risk of recurrence in colorectal cancer.
Dis Colon Rectum **29**: 975-979.
- Biggerstaff, B. J. und L. R. Peterson (2003)
Estimated risk of transmission of West Nile Virus.
Transfusion **43**: 1007-1017.
- Birkenheuer, A. J., M. G. Levy, K. C. M. Savary, R. B. Gager und E. B. Breitschwerdt (1999)
Babesia gibsoni infections in dogs from North Carolina.
J Am Hosp Assoc **35**: 125-128.
- Blackbourn, D. J., J. Ambroziak, E. Lennette, M. Adams, B. Ramachandran und J. A. Levy (1997)
Infectious human herpesvirus 8 in a healthy North American blood donor.
Lancet **349**: 609-611.
- Blais, M.-C., E. A. Rozanski, A. S. Hale, S. P. Shaw und S. M. Cotter (2009)
Lack of evidence of pregnancy-induced alloantibodies in dogs.
J Vet Intern Med **23**: 462-465.
- Blajchman, M. A. (1999)
Transfusion-associated immunomodulation and universal white cell reduction: are we putting the cart before the horse?
Transfusion **39**: 665-670.
- Blajchman, M. A., A. M. Ali und H. L. Richardson (1994)
Bacterial contamination of cellular blood components.
Vox Sang **67**: 25-34.
- Blajchman, M. A., L. Bardossy und R. Carmen (1993)
Allogenic blood transfusion-induced enhancement of tumor growth: Two animal models showing amelioration by leukodepletion and passive transfer using spleen cells.
Blood **81**: 1880-1882.

Blajchman, M. A., L. Bardossy, R. A. Carmen, M. Goldman, N. M. Heddle und D. P. Singal (1992)

An animal model of allogeneic donor platelet refractoriness: the effect of prestorage leukodepletion.

Blood **79**: 1371-1375.

Blomberg, J., T. Moller, H. Olsson, H. Anderson und M. Jonsson (1993)

Cancer morbidity in blood recipients - results of a cohort study.

Eur J Cancer **29A**(15): 2101-2105.

Blumberg, N. und J. M. Heal (1989)

Transfusion and recipient immune function.

Arch Pathol Lab Med **113**: 246-253.

Blumberg, N. und J. M. Heal (1990)

Transfusion-induced immunomodulation and its possible role in cancer recurrence and perioperative bacterial infection.

J Biol Med **63**: 429-433.

Blumberg, N. und J. M. Heal (1994)

Effects of transfusion on immune function, cancer recurrence and infection.

Arch Pathol Lab Med **118**: 371-379.

Blumberg, N. und J. M. Heal (1996)

Immunomodulation by blood transfusion. An evolving scientific and clinical challenge.

Am J Med **101**: 299-308.

Blumberg, N., J. M. Heal, C. Chuang, P. Murphy und M. Agarwal (1988)

Further evidence supporting a cause and effect relationship between blood transfusion and earlier cancer recurrence.

Ann Surg **207**: 410-415.

Bobrovnikova-Marjon, E. V., P. L. Marjon, O. Barbash, D. L. Vander Jagt und S. F.

Abcouwer (2004)

Expression of angiogenic factors vascular endothelial growth factor and interleukin-8/CXCL8 is highly responsive to ambient glutamine availability: role of nuclear factor-kappaB and activating protein-1.

Cancer Res **64**: 4858-4869.

Böck, M., K.-H. Muggenthaler, U. Schmidt und M. U. Heim (1996)

Influence of antibiotics on posttransfusion platelet increment.

Transfusion **36**: 952-954.

Bodensteiner, D. (1994)

White cell reduction in blood from donors with sickle cell trait.

Transfusion **34**: 84.

- Bognato, R. K., J. Vieira und S. Goncalves (2009).
Acute transfusion reactions after the administration of whole blood and blood components in dogs.
Proc 34th World Small Animal Veterinary Association WSAVA, Sao Paulo, Brasilien.
- Boocock, C. A., D. S. Charock-Jones und A. M. Sharkey (1995)
Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors flt and KDR in ovarian carcinoma.
J Natl Cancer Inst **87**: 506-516.
- Bordin, J. O., L. Bardossy und M. A. Blajchman (1994a)
Growth enhancement of established tumors by allogeneic blood transfusion in experimental animals and its amelioration by leukodepletion: the importance of the timing of leukodepletion.
Blood **84**: 344-348.
- Bordin, J. O., N. M. Heddle und M. A. Blajchman (1994b)
Biologic effects of leukocytes present in transfused cellular blood components.
Blood **84**: 1703-1721.
- Bordin, J. O. und M. A. Blajchman (1995)
Immunosuppressive effects of allogeneic blood transfusions: implications for the patient with a malignancy.
Hematology/Oncology Clin North Am **9**(1): 205-217.
- Bordin, J. O., A. K. Ciba, K. I. L. Carvalho, E. T. Takata, O. R. P. Falcao, A. B. Garcia, I. A. S. Bordin, M. M. Maciel, S. Andreoni und J. Kerbauy (1999)
The effect of unmodified or prestorage white cell-reduced allogeneic red cell transfusions on the immune responsiveness of orthopedic surgery patients.
Transfusion **39**: 718-723.
- Bos, H. J., H. J. Geerlings und G. C. von dem Plas (1994)
A short pre-process storage of whole blood enables better leukocyte removal.
Transfusion **34**(Suppl.): 10.
- Bottomley, S. S. (1998)
Secondary iron overload disorders.
Semin Hematol **35**: 77.
- Bowden, R. A., S. J. Slichter, M. H. Sayers, M. Mori, M. J. Cays und J. D. Meyers (1991)
Use of leukocyte-depleted platelets and cytomegalovirus-seronegative red blood cells for prevention of primary cytomegalovirus infection after marrow transplant.
Blood **78**: 246-250.
- Bowden, R. A. (1995)
Transfusion-transmitted cytomegalovirus infection.
Hematology/Oncology Clin North Am **9**(1): 155-166.

Bowden, R. A., S. J. Slichter, M. Sayers, D. Weisdorf, M. Cays, G. Schoch, M. Banaji, R. Haake, K. Welk, L. Fisher, J. McCullough und W. Miller (1995)
A comparison of filtered leukocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after marrow transplant.
Blood **86**: 3598-3603.

Braga, M., A. Vignali und G. Radaelli (1992)
Association between perioperative blood transfusion and postoperative infection in patients having elective operations for gastrointestinal cancer.
Eur J Surg **158**: 531-536.

Brand, A. (1994a)
Cost effectiveness of leukocyte depletion.
Curr Stud Hematol Blood Transfus(60): 134-43.

Brand, A. (1994b)
Leukocyte-poor blood: arguments and guidelines.
Vox Sang **67 Suppl 3**: 129-31.

Brand, A. (1994c)
Passenger leukocytes, cytokines, and transfusion reactions.
N Engl J Med **331**(10): 670-671.

Brandt, J. T., C. J. Julius, J. M. Osborne und C. L. Anderson (1996a)
The mechanism of platelet aggregation induced by HLA-related antibodies.
Thromb Haemost **76**: 774-779.

Brandt, L., J. Brandt, H. Olsson, H. Anderson und T. Moller (1996b)
Blood transfusion as a risk factor for non-Hodgkin lymphoma.
Br J Cancer **73**(9): 1148-1151.

Brastianos, P. K. und T. T. Batchelor (2009)
VEGF inhibitors in brain tumors.
Clin Adv Hematol Oncol **7**: 753-760.

Brecher, M. E. und S. N. Hay (2005)
Bacterial contamination of blood components.
Clin Microbiol Rev **18**: 195-204.

Brecher, M. E. und H. F. Taswell (1991)
Hemolytic transfusion reactions.
In: Principles of transfusion medicine. C. E. Rossi, T. L. Simon und G. S. Moss (Hrsg.):
Baltimore, Williams & Wilkins: 619-622.

Breier, G., U. Albrecht, S. Sterrer und W. Risau (1992)
Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation.
Development **114**: 521-532.

Breitschwerdt, E. B., J. B. Malone und P. MacWilliams (1983)
Babesiosis in the greyhound.
J Am Vet Med Assoc **182**: 978.

Brittingham, T. C. und H. C. J. Chaplin (1957)
Febrile transfusion reactions caused by sensitivity to donor leukocytes and platelets.
J Am Med Assoc **165**: 819.

Brock, W. (1997)
Viewegs Geschichte der Chemie: Berlin, Springer.

Brooks, M. (2000)
Transfusion of plasma and plasma derivatives.
In: Schalm`s Veterinary Hematology. B. F. Feldman, J. G. Zinkl und N. C. Jain (Hrsg.):
Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 838-843.

Brown, P. (2007)
Creutzfeldt-Jakob disease: reflections on the risk from blood product therapy.
Haemophilia **13**
Suppl 5: 33-40.

Brown, L. F., K. T. Yeo, B. Berse, T. K. Yeo, D. R. Senger und H. F. Dvorak (1992)
Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) by epidermal
keratinocytes during wound healing.
J Exp Med **176**: 1375-1379.

Brown, L. F., B. Berse und R. W. Jackman (1993a)
Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its
receptors in adenocarcinoma of gastrointestinal tract.
Cancer Res **53**: 4727-4735.

Brown, L. F., B. Berse, R. W. Jackman, K. Tognazzi, E. J. Manseau, H. F. Dvorak und D. R.
Senger (1993b)
Increased expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and
its receptors in kidney and bladder carcinomas.
Am J Pathol **143**: 1255-1262.

Brown, L. F., B. Berse und R. W. Jackman (1995a)
Expression of the vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its
receptors in breast cancer.
Hum Pathol **26**: 86-91.

Brown, L. F., T. J. Harris, K. T. Yeo, M. Stahle-Backdahl, R. W. Jackman, B. Berse, K.
Tognazzi, H. F. Dvorak und M. Detmar (1995b)
Increased expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in
bullous pemphigoid, dermatitis herpetiformis and erythema multiforme.
J Invest Dermatol **104**: 744-749.

Brown, P., R. G. Rohwer, B. C. Dunstan, C. MacAuley, D. C. Gajdusek und W. N. Drohan (1998)

The distribution of infectivity in blood components and plasma derivatives in experimental models of transmissible spongiform encephalopathy.

Transfusion **38**: 810-816.

Brownlee, L., K. J. Wardrop, R. K. Sellon und K. M. Meyers (2000)

Use of a prestorage leukoreduction filter effectively removes leukocytes from canine whole blood while preserving red blood cell viability.

J Vet Intern Med **14**(4): 412-7.

Brubaker, D. B. (1990)

Clinical significance of white cell antibodies in febrile nonhemolytic transfusion reactions.

Transfusion **30**: 733-737.

Bruisten, S. M., M. Tersmette, M. R. Wester, A. H. V. Vos, M. H. G. M. Koppelman und J. G. Huisma (1990)

Efficiency of white cell filtration and a freeze-thaw procedure for removal of HIV-infected cells from blood.

Transfusion **30**: 833.

Brüner, N., H. J. Nielsen, M. Hamers, I. J. Christensen, O. Thorlacius-Ussing und R. W. Stephens (1999)

The urokinase plasminogen activator receptor in blood from healthy individuals and patients with cancer.

Apmis **107**(1): 160-167.

Brunson, M. E. und J. W. Alexander (1990)

Mechanism of transfusion-induced immunosuppression.

Transfusion **30**: 651-658.

Bücheler, J. und S. M. Cotter (1992)

Outpatient blood donor program.

Probl Vet Med **4**: 572-581.

Buchholz, D. H., J. P. AuBuchon, E. L. Snyder, V. Kandler, V. Piscitelli, C. Pickard, P. Napychank und S. Edberg (1994)

Effects of white cell reduction on the resistance of blood components to bacterial multiplication.

Transfusion **34**: 852-857.

Buchholz, D. H., J. Miripol und R. H. Aster (1988)

Ultraviolet irradiation of platelets to prevent recipient alloimmunization.

Transfusion **28**: S91.

Buckley, G. J. und E. A. Rozanski (2009)

Massive transfusion and surgical management of iatrogenic aortic laceration associated with cystocentesis in a dog.

J Am Vet Med Assoc **235**: 288-291.

- Bundesärztekammer (2008)
Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten, 4. Auflage.
- Bundesärztekammer (Novelle 2005)
Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) gemäß §§ 12 und 18 des Transfusionsgesetzes.
- Bundesgesetzblatt (2007)
Arbobakterien (über Arthropoden übertragbare Bakterien), Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit, **9**: 1192.
- Bünte, S. und W. D. Ludwig (1994)
Rationale Substitution mit Blut- und Blutbestandteilkonserven.
Dtsch Med Wschr **119**: 1555-1561.
- Burnouf, T., Y. P. Kuo, C. T. Huang, Y. H. Tseng, C. T. Lin und C. Y. Su (2010)
A virally inactivated platelet-derived growth factor/vascular endothelial growth factor concentrate fractionated from human platelets.
Transfusion **noch im Druck**.
- Burrows, L., P. Tartter und A. Aufses (1987)
Increased recurrence rates in perioperatively transfused colorectal malignancy patients.
Cancer Detect Prev **10**: 361-369.
- Busch, M. P., T.-H. Lee und J. Heitman (1992)
Allogeneic leukocytes but not therapeutic blood elements induce reactivation and dissemination of latent human immunodeficiency virus type 1 infection: implications for transfusion support of infected patients.
Blood **80**: 2128-2135.
- Busch, M. P., J. J. Korelitz, S. H. Kleinman, S. R. Lee, J. P. AuBuchon und G. B. Schreiber (1995a)
Declining value of alanine aminotransferase in screening of blood donors to prevent posttransfusion hepatitis B and C virus infection.
Transfusion **35**: 903-910.
- Busch, O. R., W. C. Hop, R. L. Marquet und J. Jeekel (1995b)
The effect of blood transfusions on survival after surgery for colorectal cancer.
Eur J Cancer **31**: 1226-1228.
- Busch, O. R., W. C. Hop, M. A. Hoyneck van Papendrecht, R. L. Marquet und J. Jeekel (1993)
Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer.
N Engl J Med **328**(19): 1372-1376.
- Cai, C., C. Böttcher, J. A. Werner und R. Mandic (2010)
Differential expression of VEGF121, VEGF165, and VEGF189 in angiomas and squamous cell carcinoma cell lines of the head and neck.
Anticancer Res **30**: 805-810.

Callaerts, A. J., M. L. Gielis, E. D. Sprengers und L. Muylle (1993)
The mechanism of white cell reduction by synthetic fiber cell filters.
Transfusion **33**(2): 134-8.

Callan, M. B. (2000)
Red blood cell transfusions in the dog and cat.
In: Schalm`s Veterinary Hematology. B. F. Feldman, J. G. Zinkl und N. C. Jain (Hrsg.):
Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 833-837.

Callan, M. B. (2009)
Canine platelet transfusion.
J Vet Emerg Crit Care **19**: 401-415.

Callan, M. B., L. T. Jones und U. Giger (1995)
Hemolytic transfusion reactions in a dog with an alloantibody to a common antigen.
J Vet Intern Med **9**: 277-279.

Candotti, D. und J. P. Allain (2009)
Transfusion-transmitted hepatitis B virus infection.
J Hepatol **51**: 798-809.

Cangelosi, J. J., B. Sarvat, J. C. Sarria, B. L. Herwaldt und A. J. Indrikovs (2008)
Transmission of Babesia microti by blood transfusion in Texas.
Vox Sang **95**: 331-334.

Capon, S. M. und D. Goldfinger (1995)
Acute hemolytic transfusion reaction, a paradigm of the systemic inflammatory response: new insights into pathophysiology and treatment.
Transfusion **35**: 513-520.

Capon, S. M. und R. A. Sacher (1989)
Hemolytic transfusion reactions: A review of mechnisms, sequelae and management.
J Intensive Care Med **4**: 100-110.

Card, R. T. (1988)
Red cell membrane changes during storage.
Transfus Med Rev **2**: 40-47.

Cardigan, R., P. Krailadsiri, M. J. Seghatchian, N. Beckman und L. M. Williamson (1999a)
Quality of leukodepleted plasma produced by whole blood filtration.
Transfus Med **9**: 47.

Cardigan, R., J. Sutherland, M. Garwood, K. Swann, M. Stenning, M. J. Seghatchian und L. M. Williamson (1999b)
Evaluation of a novel filter for leukocyte depletion of fresh plasma.
Transfus Med **9**: 46.

Carson, J. L., D. G. Altman, A. Duff, H. Noveck, M. P. Weinstein, F. A. Sonnenberg, J. I. Hudson und G. Provenzano (1999)

Risk of bacterial infection associated with allogeneic blood transfusion among patients undergoing hip fracture repair.

Transfusion **39**: 694-700.

Castro, E. (2009)

Chagas` disease: lessons from routine donation testing.

Transfus Med **19**: 16-23.

Caye-Thomasen, P., K. Werther, A. Nalla, T. C. Bog-Hansen, H. J. Nielsen, S. E. Stangerup und J. Thomsen (2005)

VEGF and VEGF receptor-1 concentration in vestibular schwannoma homogenates correlates to tumor growth rate.

Otol Neurotol **26**(1): 98-101.

Cerhan, J. R., R. B. Wallace, A. R. Folsom, J. D. Potter, R. G. Munger und R. J. Prineas (1993)

Transfusion history and cancer risk in older women.

Ann Intern Med **119**: 8-15.

Champion, A. B. und R. A. Carmen (1985)

Factors affecting white cell content in platelet concentrates.

Transfusion **25**: 334-338.

Charnock-Jones, D. S., A. M. Sharkey, J. Rajput-Williams, D. Burch, J. P. Schofield und S. A. Fountain (1993)

Identification and localization of alternately spliced mRNAs for vascular endothelial growth factor in human uterus and estrogen regulation in endometrial carcinoma cell lines.

Biol Reprod **48**: 1120-1128.

Chen, C. A., W. F. Cheng und C. N. Lee (1999)

Serum vascular endothelial growth factor in epithelial ovarian neoplasms: Correlation with patient survival.

Gynecol Oncol **74**: 235-240.

Chernoff, A. und E. L. Snyder (1992)

The cellular and molecular basis of the platelet storage lesion: a symposium summary.

Transfusion **32**: 386-390.

Chin, K. F., J. Greenman, P. Reusch, E. Gardiner, D. Marme und J. R. Monson (2003)

Vascular endothelial growth factor and soluble Tie-2 receptor in colorectal cancer: associations with disease recurrence.

Eur J Surg Oncol **29**(6): 497-505.

Chiu, E. K. W., K. Y. Yuen, A. K. W. Lie, R. Liang, Y. L. Lau, A. C. W. Lee, Y. L. Kwong, S. Wong, M. H. Ng und T. K. Chan (1994)

A prospective study of symptomatic bacteremia following platelet transfusion and of its management.

Transfusion **34**: 950-954.

- Chung, M., O. K. Steinmetz und P. H. Gordon (1993)
Perioperative blood transfusion and outcome after resection for colorectal carcinoma.
Br J Surg **80**: 427-432.
- Cintin, C., J. S. Johansen, I. J. Christensen, P. A. Price, S. Sorensen und H. J. Nielsen (1999)
Serum YKL-40 and colorectal cancer.
Br J Cancer **79**(9-10): 1494-9.
- Cintin, C., J. S. Johansen, I. J. Christensen, P. A. Price, S. Sorensen und H. J. Nielsen (2002)
High serum YKL-40 level after surgery for colorectal carcinoma is related to short survival.
Cancer **95**(2): 267-74.
- Cintin, C., J. S. Johansen, F. Skov, P. A. Price und H. J. Nielsen (2001)
Accumulation of the neutrophil-derived protein YKL-40 during storage of various blood components.
Inflamm Res **50**(2): 107-11.
- Claffey, K. P. und G. S. Robinson (1996)
Regulation of VEGF/VPF expression in tumor cells: consequences for tumor growth and metastasis.
Cancer Metastasis Rev **15**(2): 165-176.
- Claffey, K. P., W. O. Wilkinson und B. M. Spiegelman (1992)
Vascular endothelial growth factor. Regulation by cell differentiation and activated second messenger pathways.
J Biol Chem **267**: 16317-16322.
- Clarke, P. J., R. C. Burton und K. J. Wood (1993)
Allogeneic blood transfusion reduces murine pulmonary natural killer (NK) activity and enhances lung metastasis of a synergeneic tumor.
Int J Cancer **55**: 996-1002.
- Clauss, M., M. Gerlach, J. Brett, F. Wang, P. C. Familletti, Y. C. E. Pan, J. V. Olander, D. T. Connolly und D. Stern (1990)
Vascular permeability factor: a tumor-derived polypeptide that induces endothelial cell and monocyte procoagulant activity, and promotes monocyte migration.
J Exp Med **172**: 1535-1545.
- Clifford, C. A., D. Hughes, M. W. Beal, C. J. Henry, K. J. Drobatz und K. U. Sorenmo (2002)
Vascular endothelial growth factor concentrations in body cavity effusions in dogs.
J Vet Intern Med **16**(2): 164-168.
- Clifford, C. A., D. Hughes, M. W. Beal, A. J. Mackin, C. J. Henry, F. S. Shofer und K. U. Sorenmo (2001)
Plasma vascular endothelial growth factor concentrations in healthy dogs and dogs with hemangiosarcoma.
J Vet Intern Med **15**(2): 131-135.

- Cohn, E. J. (1947)
The separation of blood into fractions of therapeutic value.
Ann Intern Med **26**: 341-352.
- Connell, R. S. und R. L. Swank (1973)
Pulmonary microembolism after blood transfusions: An electron microscopy study.
Ann Surg **177**: 40.
- Connolly, D. T., D. M. Heuvelman, R. Nelson, J. V. Olander, B. L. Eppley, J. J. Delfino, N. R. Siegel, R. M. Leimgruber und J. Feder (1989)
Tumor vascular permeability growth factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis.
J Clin Invest **84**: 1470-1478.
- Cordingley, F. T., I. Caminschi, G. Sheridan und M. F. Leahy (1994)
Perioperative blood transfusion is not associated with a fall in natural killer cell (NK) or lymphokine activated killer cell (LAK) activity.
Vox Sang **67**: 35.
- Cotter, S.M. (1988)
Blood banking II - Indications and side effects.
Proc 6th ACVIM Forum. Washington: 48-50.
- Cotter, S. M. (1991)
Clinical transfusion medicine.
In: Comparative transfusion medicine. Advances in veterinary science and comparative medicine. S. M. Cotter (Hrsg.): San Diego, Academic Press: 188-195.
- Cousens, S. N., E. Vynnycky, M. Zeidler, R. G. Will und P. G. Smith (1997)
Predicting the CJD epidemic in humans.
Nature **385**: 197-198.
- Couvelard, A., D. O'Toole, R. Leek, H. Turley, A. Sauvanet, C. Degott, P. Ruzniewski, J. Belghiti, A. L. Harris, K. Gatter und F. Pezzella (2005a)
Expression of hypoxia-inducible factors is correlated with the presence of a fibrotic focus and angiogenesis in pancreatic ductal adenocarcinomas.
Histopathology **46**(6): 668-76.
- Couvelard, A., D. O'Toole, H. Turley, R. Leek, A. Sauvanet, C. Degott, P. Ruzniewski, J. Belghiti, A. L. Harris, K. Gatter und F. Pezzella (2005b)
Microvascular density and hypoxia-inducible factor pathway in pancreatic endocrine tumours: negative correlation of microvascular density and VEGF expression with tumour progression.
Br J Cancer **92**(1): 94-101.
- Crowell, W. A., D. R. Finco und C. A. Rawlings (1987)
Lesions in dogs following renal transplantation and immunosuppression.
Vet Pathol **24**: 124-128.

- Da Costa, M. L., H. P. Redmond und D. J. Bouchier-Hayes (1996)
Increased tumor establishment and growth after laparotomy vs laparoscopy.
Arch Surg **131**: 1003.
- Dameron, K. M., O. V. Volpert und M. A. Tainsky (1994)
Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin-1.
Science **265**: 1582-1584.
- Davenport, R. D., M. Burdick, S. A. Moore und S. L. Kunkel (1993)
Cytokine production in IgG-mediated red cell incompatibility.
Transfusion **33**: 19.
- Davies, M. M., S. K. Jonas und S. Kaur (2000)
Plasma vascular endothelial but not fibroblastic growth factor concentrations correlate with colorectal liver metastasis vascularity and volume.
Br J Cancer **82**: 1004-1008.
- Dawson, J. E., I. Abeygunawardena und C. J. Holland (1988)
Susceptibility of cats to infection with Ehrlichia risticii, causative agent of equine monocytic ehrlichiosis.
Am J Vet Rec **49**: 2096-2100.
- de Freitas, E., N. M. Melo, A. P. da Costa-Val und M. S. Michalick (2006)
Transmission of Leishmania infantum via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors.
Vet Parasitol **137**: 156-167.
- de Korte, D., J. H. Marcelis, A. J. Verhoeven und A. M. Soeterboek (2002)
Diversion of first blood volume results in a reduction of bacterial contamination for whole-blood collections.
Vox Sang **83**: 13-16.
- Decastello, v. A. und A. Sturli (1902)
Über die Isoagglutinine im Serum gesunder und kranker Menschen.
Münch Med Wochenschr **49**: 1090-1095.
- Deeg, H. J., T. C. Graham und L. Gerhard-Miller (1989)
Prevention of transfusion-induced graft-versus-host disease in dogs by ultraviolet irradiation.
Blood **74**: 2592-2595.
- Degen, M. (1987)
Pseudohyperkalemia in Akitas.
J Am Vet Med Assoc **190**: 541-543.
- Diamond, L. K. (1980)
A history of blood transfusion.
In: Blood, pure and eloquent. M. M. Wintrobe (Hrsg.): New York, McGraw Hill: 659-688.

Dirix, L. Y., P. B. Vermeulen, G. Hubens, I. Benoy, M. Martin, C. de Pooter und A. T. van Oosterom (1996)

Serum basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor and tumor growth kinetics in advanced colorectal cancer.

Ann Oncol **7**: 843-348.

Dirix, L. Y., P. B. Vermeulen und A. Pawinski (1997)

Elevated levels of the angiogenic cytokines basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in sera of cancer patients.

Br J Cancer **76**: 238-243.

Dobroszycki, J., B. L. Herwaldt und F. Boctor (1999)

A cluster of transfusion-associated babesiosis cases traced to a single asymptomatic donor.

J Am Med Assoc **281**: 927-930.

Dodd, R. Y. (1992)

The risk of transfusion-transmitted infection.

N Engl J Med **327**: 419-421.

Dodd, R. Y. (1995)

Transfusion-transmitted hepatitis virus infection.

Hematology/Oncology Clin North Am **9**(1): 137-154.

Dodd, R. (2009)

Managing the microbiological safety of blood transfusion: a US perspective.

Future Microbiol **4**: 807-818.

Domen, R. E. (1998)

Adverse transfusion reactions to autologous blood: incidence and evaluation at a large academic center.

Transfusion **38**: 301-306.

Donahue, J. G., E. J. Nelson und A. Munoz (1991)

Transmission of HIV by transfusion of screened blood.

N Engl J Med **323**: 1709.

Donegan, E., H. Lee, E. A. Operskalski, G. M. Shaw, S. H. Kleinman, M. P. Busch, C. E. Stevens, E. R. Schiff, M. J. Nowicki, C. G. Hollingsworth und J. W. Mosley (1994)

Transfusion transmission of retroviruses: human T-lymphotropic virus types I and II compared with human immunodeficiency virus type 1.

Transfusion **34**: 478-483.

Donovan, D., J. H. Harmey, H. P. Redmond und D. Bouchier-Hayes (1997)

Ascites revisited: a novel role for tamoxifen.

Eur J Surg Oncol **23**: 570.

Dumont, L. J., W. H. Dzik, P. Rebutta und H. Brandwein (1996)
Practical guidelines for process validation and process control of white cell-reduced blood components: report of the Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Working Party of the International Society of Blood Transfusion (ISBT).
Transfusion **36**: 11-20.

Dunst, J., S. Pigorsch und G. Hansgen (1999)
Low hemoglobin is associated with increased serum concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF) in cancer patients. Does anemia stimulate angiogenesis?
Strahlenther Onkol **175**: 93-96.

Dunst, J., P. Stadler, A. Becker, T. Kuhnt, C. Lautenschlager, M. Molls und G. Haensgen (2001)
Tumor hypoxia and systemic levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in head and neck cancers.
Strahlenther Onkol **177**(9): 469-73.

Duque, J. L., K. R. Loughlin und R. M. Adam (1999)
Plasma levels of vascular endothelial growth factor are increased in patients with metastatic prostate cancer
Urology **54**: 523-527.

Dvorak, A. M. und D. Feng (2001)
The vesiculo-vacuolare organelle (VVO): a new endothelial cell permeability organelle.
J Histochem Cytochem **49**: 431.

Dvorak, H. F., L. F. Brown, M. Detmar und A. M. Dvorak (1995)
Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis.
Am J Pathol **146**: 1029-1039.

Dvorak, H. F., J. A. Nagy, D. Feng, L. F. Brown und A. M. Dvorak (1999)
Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and the significance of microvascular hyperpermeability in angiogenesis.
Curr Top Microbiol Immunol **237**: 97-132.

Dvorak, H. F., T. M. Sioussat, L. F. Brown, J. A. Nagy, A. Sotrel und E. Manseau (1991)
Distribution of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in tumors: concentration in tumor blood vessels.
J Exp Med **174**: 1275-1278.

Dziczkowski, J. S., B. B. Barnett, D. Nester, M. Campbell, J. Cook, M. Sugrue, J. W. Andersen und K. C. Anderson (1995)
Characterization of reactions after exclusive transfusion of white cell-reduced cellular blood components.
Transfusion **35**: 20-25.

- Dzik, S. (1993)
Leukodepletion blood filters: Filter design and mechanism of leukocyte removal.
Transfus Med Rev **7**: 65-77.
- Dzik, S. (1994a)
Prestorage leukocyte reduction of cellular blood components.
Transfus Sci **15**: 131-139.
- Dzik, W. H. (1994b)
Mononuclear cell microchimerism and the immunomodulatory effect of transfusion.
Transfusion **34**: 1007-1012.
- Dzik, S., M. A. Blajchman, N. Blumberg, S. A. Kirkley, J. M. Heal und K. Wood (1996)
Current research on the immunomodulatory effect of allogeneic blood transfusion.
Vox Sang **70**: 187-194.
- Dzik, S., P. Szuflad und S. Eaves (1994)
HLA antigens on leukocyte fragments and plasma proteins: Prestorage leukoreduction by filtration.
Vox Sang **66**: 104-111.
- Dzik, W. H., W. F. Cusack, B. Sherburne und T. Kickler (1992)
The effect of prestorage white cell reduction on the function and viability of stored platelet concentrates.
Transfusion **32**: 334-339.
- Eastlund, T., D. Persing und D. Mathiesen (1999)
Human granulocytic ehrlichiosis after red cell transfusion.
Transfusion **39 Suppl**: 117.
- Edelman, J. L., D. Lutz und M. R. Castro (2005)
Corticosteroids inhibit VEGF-induced vascular leakage in a rabbit model of blood-retinal and blood-aqueous barrier breakdown.
Exp Eye Res **80**(2): 249-258.
- Eder, A. F. und L. A. Chambers (2007)
Noninfectious complications of blood transfusion.
Arch Pathol Lab Med **131**: 708-718.
- Edna, T. H. und T. Bjerkeset (1992)
Association between blood transfusion and infection in injured patients.
J Trauma **33**: 659-661.
- Edna, T. H. und T. Bjerkeset (1998a)
Association between transfusion of stored blood and infective bacterial complications after resection for colorectal cancer.
Eur J Surg **164**: 449-456.

Edna, T. H. und T. Bjerkeset (1998b)

Perioperative blood transfusions reduce long-term survival following surgery for colorectal cancer

Dis Colon Rectum **41**: 451-459.

Edvardsen, L., H. I. Nielsen, A. N. Pedersen, E. Dybkjaer, C. M. Reimert, J. J. Hvolris und N. Brunner (1996)

Leucocyte and platelet derived bioactive substances in stored standard platelet concentrates.

Eur J Haematol **57**(2): 185-187.

Edvardsen, L., E. Taaning, B. Dreier, L. D. Christensen, T. Mynster und H. J. Nielsen (2001)
Extracellular accumulation of bioactive substances during preparation and storage of various platelet concentrates.

Am J Hematol **67**(3): 157-162.

Edvardsen, L., E. Taaning, T. Mynster, J. Hvolris, O. Drachman und H. J. Nielsen (1998)

Bioactive substances in buffy-coat-derived platelet pools stored in platelet-additive solutions.

Br J Hematol **103**(2): 445-448.

Eernisse, J. G. und A. Brand (1981)

Prevention of platelet refractoriness due to HLA antibodies by administration of leukocyte-poor blood components.

Exp Hematol **9**: 77-83.

Eggermont, A. M., E. P. Steller, R. L. Marquet, J. Jeekel und P. H. Sugarbaker (1988)

Local regional promotion of tumor growth after abdominal surgery is dominant over immunotherapy with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells.

Cancer Detect Prev **12**: 421-429.

Eggermont, A. M., E. P. Steller und P. H. Sugarbaker (1987)

Laparotomy enhances intraperitoneal tumor growth and abrogates the antitumor effects of interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells.

Surgery **102**: 71-78.

Eisenfeld, L., H. Silver, J. McLaughlin, P. Klevjer-Anderson, D. Mayo, J. Anderson, V. Herson, P. Krause, J. Savidakis, A. Lazar, T. Rosenkrantz und P. Pisciotto (1992)

Prevention of transfusion - associated cytomegalovirus infection in neonatal patients by the removal of white cells from blood.

Transfusion **32**: 205-209.

Esmonde, T. F. G., R. G. Will, J. M. Slattery, R. Knight, R. Harries-Jones, R. de Silva und W. B. Mathew (1993)

Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion.

Lancet **341**: 205-207.

Evans, P., T. Wheeler und F. Anthony (1997)

Maternal serum vascular endothelial growth factor during early pregnancy.

Clin Sci **92**: 567-571.

Eyquem, A., L. Podliachouk und P. Millot (1962)
Blood groups in chimpanzees, horses, sheep, pigs, and other mammals.
Ann N Y Acad Sci **97**: 320-328.

Fantus, B. (1937)
The therapy of the Cook Country Hospital.
J Am Med Assoc **6**: 128-130.

Federowicz, I., B. B. Barrett, J. W. Andersen, M. Urashima, M. A. Popovsky und K. C. Anderson (1996)
Characterization of reactions after transfusion of cellular blood components that are white cell reduced before storage.
Transfusion **36**: 21-28.

Feldman, B. F. und A. T. Kristensen (1995)
Modern veterinary blood banking practices and their applications in companion animal practice.
In: *Vet Clin North Am Small Anim Pract: Canine and Feline Transfusion Medicine*. B. F. Feldman und A. T. Kristensen (Hrsg.): Philadelphia, WB Saunders Co.: 1231-1244.

Fergusson, D., P. C. Hebert, S. K. Lee, C. R. Walker, K. J. Barrington, L. Joseph, M. A. Blajchman und S. Shapiro (2003)
Clinical outcomes following institutions of universal leukoreduction of blood transfusions for premature infants.
J Am Med Assoc **289**(15): 1950-1956.

Fernandez, L. A., J. M. MacSween, C. K. You und M. Gorelick (1992a)
Immunologic changes after blood transfusion in patients undergoing vascular surgery.
Am J Surg **163**: 263-269.

Fernandez, M. C., M. Gottlieb und J. E. Menitove (1992b)
Blood transfusion and postoperative infection in orthopedic patients.
Transfusion **32**: 318-322.

Ferrara, N. (2009)
Anti-angiogenic drugs to treat human disease: an interview with Napoleone Ferrara.
Dis Model Mech **2**: 324-325.

Ferrara, N., K. Carver-Moore, H. Chen, M. Dowd, L. Lu, K. S. O'Shea, L. Powell-Braxton, K. J. Hillan und M. W. Moore (1996)
Heterozygous embryonic lethality in embryos lacking a single VEGF allele.
Nature **380**: 439-442.

Ferrara, N. und T. Davis-Smyth (1997)
The biology of vascular endothelial growth factor.
Endocr Rev **18**: 4-18.

- Ferrara, N., K. Houch und L. Jakeman (1992)
Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins.
Endocr Rev **13**: 19-32.
- Fidler, I. J. und L. M. Ellis (1994)
The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis.
Cell **79**: 185-188.
- Finco, D. R., C. A. Rawlings, J. A. Barsanti und W. A. Crowell (1985)
Kidney graft survival in transfused and nontransfused sibling beagle dogs.
J Vet Res **46**: 2327-2331.
- Flegel, W. A., M. Wiesneth, D. Tampe und K. Koerner (1995)
Low cytokine contamination in buffy-coat-derived platelet concentrates without filtration.
Transfusion **35**: 917.
- Folkman, J. (1990)
What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent?
J Natl Cancer Inst **82**: 4-6.
- Folkman, J. (1995a)
Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other diseases.
Nat Med **1**: 27-31.
- Folkman, J. (1995b)
Clinical applications of research on angiogenesis.
N Engl J Med **333**: 1757-1763.
- Folkman, J. (1996)
Fighting cancer by attacking its blood supply.
Sci Am **275**: 150-154.
- Folkman, J. und Y. Shing (1992)
Angiogenesis.
J Biol Chem **267**(10): 931-934.
- Folli, F. (1680)
Stadera medica, nella quale oltre la medicina infusoria, ed altre novita, si bilanciano le ragioni favorevoli e le contrarie alla transfusion del sangue.
Florenz.
- Fölsch, B. und U. Cassens (2009)
Risiken und Nebenwirkungen von Bluttransfusionen.
Orthopäde **38**: 828-834.
- Francis, D. M. A. (1991)
Relationship between blood transfusion and tumor behaviour.
Br J Surg **78**: 1420-1428.

- Frank, S., G. Hubner, G. Breier, M. T. Longaker, D. G. Greenhalgh und S. Werner (1995)
Regulation of VEGF expression in cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing.
J Biol Chem **270**: 12607-12613.
- Fransen, E., J. Maessen, M. Dentener, N. Senden und W. Buurman (1999)
Impact of blood transfusions on inflammatory mediator release in patients undergoing cardiac surgery.
Chest **116**(5): 1233-1239.
- Freeman, M. J., B. M. Kirby und D. L. Panciera (1994)
Hypotensive shock syndrome associated with Babesia canis infection in a dog.
J Am Vet Med Assoc **204**(94-96).
- Freeman, M. R., F. X. Schneck, M. L. Gagnon, C. Corless, S. Soker, K. Niknejad, G. E. Peoples und M. Klagsburn (1995)
Peripheral blood T lymphocytes and lymphocytes infiltrating human cancers express vascular endothelial growth factor: a potential role for T cells in angiogenesis.
Cancer Res **55**: 4140-4145.
- Frewin, D. B., S. M. Dyer und D. N. Haylock (1991)
A comparative study of the effect of three methods of leukocyte removal on plasma histamine levels in stored human blood.
Sem Hematol **28**(Suppl 5): 18-21.
- Frewin, D. B., J. R. Jonsson und C. R. Frewin (1989)
Influence of blood storage time and plasma levels of histamine on the pattern of transfusion reactions.
Vox Sang **56**: 243-246.
- Frewin, D. B., J. R. Jonsson, R. J. Head, W. J. Russell und R. W. Beal (1984)
Histamine levels in stored human blood.
Transfusion **24**: 502-504.
- Friedberg, R. C., S. F. Donnelly, J. C. Boyd, L. S. Gray und P. M. Mintz (1993)
Clinical and blood bank factors in the management of platelet refractoriness and alloimmunization.
Blood **81**: 3428.
- Fujimoto, M., T. Kiyosawa, S. Murata, Y. Nakayama und H. Yaoita (1998)
Vascular endothelial growth factor in angiosarcoma.
Anticancer Res **18**(5B): 3725-3729.
- Gabrilovich, D., T. Ishida, T. Oyama, S. Ran, V. Kravtsov, S. Nadaf und D. P. Carbone (1998)
Vascular endothelial growth factor inhibits the development of dendritic cells and dramatically affects the differentiation of multiple hematopoietic lineages in vivo.
Blood **92**: 4150-4166.

- Gadducci, A., M. Ferdeghini und A. Fanucchi (1999)
 Serum preoperative vascular endothelial growth factor (VEGF) in epithelial ovarian cancer: relationship with prognostic variables and clinical outcome.
Anticancer Res **19**: 1401-1405.
- Gafter, U., D. Kalechman und B. Sredni (1992)
 Induction of a subpopulation of suppressor cells by a single blood transfusion.
Kidney Int **41**: 143-148.
- Galke, D. (2009)
 Infektion mit Anaplasma phagozytophilum beim Hund - eine Studie über Prävalenz, Prävention, Klinik.
 Vet.med. Diss., FU Berlin.
- Garcia, F. U., H.-L. Chen, Y. Yang, J. L. Pace, X.-L. Hu und J. S. Hunt (1994)
 Tumor necrosis factor- α mRNA and protein in endometrial tumors: analysis, by in situ hybridization and immunocytochemistry.
Hum Pathol **25**: 1324-1331.
- Gascon, P., N. C. Zoumbos und N. S. Young (1984)
 Immunologic abnormalities in patients receiving multiple blood transfusions.
Ann Intern Med **100**: 173.
- Gasic, G. J. (1984)
 Role of plasma, platelets, and endothelial cells in tumor metastasis.
Cancer Metastasis Rev **3**: 99-114.
- Gasparini, G. (1999)
 The rationale and future potential of angiogenesis inhibitors of neoplasia.
Drugs **58**: 17-38.
- Gaudry, M., O. Bregerie, V. Andrieu, J. El Benna, M. A. Pocidalo und J. Hakim (1997)
 Intracellular pool of vascular endothelial growth factor in human neutrophils.
Blood **90**(10): 4153-4161.
- Gentilini, F., C. Calzolari, M. E. Turba, C. Agnoli, D. Fava, M. Forni und P. F. Bergamini (2005)
 Prognostic value of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and plasma activity of matrix metalloproteinase (MMP) 2 and 9 in lymphoma-affected dogs.
Leuk Res **29**(11): 1263-9.
- George, C. D. und P. J. Morello (1986)
 Immunologic effects of blood transfusion upon renal transplantation, tumor operations and bacterial infections.
Am J Surg **152**: 329-337.
- George, M., L., S. Eccles, A., M. Tutton, G., A. Abulafi, Muti und R. Swift, Ian (2000)
 Correlation of plasma and serum vascular endothelial growth factor levels with platelet count in colorectal cancer: clinical evidence of platelet scavenging?
Clin Cancer Res **6**: 3147-3152.

- Gerber, P. A., A. Hippe, B. A. Buhren, A. Müller und B. Horney (2009)
Chemokines in tumor-associated angiogenesis.
Biol Chem **390**: 1213-1223.
- Gerber, M. A., E. D. Shapiro und P. J. Krause (1994)
The risk of acquiring Lyme disease and babesiosis from a blood transfusion.
J Infect Dis **170**: 231-234.
- Gianotti, L., T. Pyles und J. W. Alexander (1993)
Identification of the blood component responsible for increased gut-derived infection.
Transfusion **33**: 458-465.
- Giesecke, J., G. Scalia-Tomba, O. Berglund, E. Berntorp, S. Schulman und L. Stigendal (1988)
Incidence of symptoms and AIDS in 146 Swedish haemophiliacs and blood transfusion recipients infected with human immunodeficiency virus.
Br Med J **297**: 99.
- Giger, U. (2009)
Blood-typing and crossmatching.
In: Kirk's Current Veterinary Therapy XIV. J. D. Bonagura und D. C. Twedt (Hrsg.):
St. Louis, Missouri, Saunders Elsevier: 260-265.
- Giger, U., C. J. Galens, M. B. Callan und D. A. Oakley (1995)
An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1. incompatibility in a previously sensitized dog.
J Am Vet Med Assoc **206**: 1358-1362.
- Gilbert, G. L., K. Hayes, I. L. Hudson und J. James (1989)
Prevention of transfusion-acquired cytomegalovirus infection in infants by blood filtration to remove leukocytes. Neonatal Cytomegalovirus Infection Study Group.
Lancet: 1228-1231.
- Gill, M. J., D. Towns, S. Allaire und G. Meyers (1997)
Transmission of human immunodeficiency virus through blood transfusion: the use of lookback and traceback approaches to optimize recipient identification in a regional population.
Transfusion **37**: 513-516.
- Goerges, A. L. und M. A. Nugent (2004)
pH regulates vascular endothelial growth factor binding to fibronectin: a mechanism for control of extracellular matrix storage and release.
J Biol Chem **279**(3): 2307-15.
- Gold, L. I., B. Saxena, K. R. Mittal, M. Marmor, S. Goswami und L. Nachtigall (1994)
Increased expression of transforming growth factor beta isoforms and basic fibroblast growth factor in complex hyperplasia and adenocarcinoma of the endometrium: evidence for paracrine and autocrine action.
Cancer Res **54**: 2347-2358.

- Goldberg, M. A. und T. J. Schneider (1994)
Similarities between the oxygen-sensing mechanisms regulating the expression of vascular endothelial growth factor and erythropoietin.
J Biol Chem **269**(6): 4355-4359.
- Goldfinger, D. (1977)
Acute hemolytic transfusion reactions - A fresh look at pathogenesis and considerations regarding therapie.
Transfusion **17**: 85-94.
- Goldman, M. und M. A. Blajchman (1991)
Blood product-associated bacterial sepsis.
Transfus Med Rev **5**: 73-83.
- Goodnough, L. T., J. Riddell, H. Lazarus, T. L. Chafel, G. Prince, G. Hendrix und R. Yomtovian (1993)
Prevalence of platelet transfusion reactions before and after implementation of leukocyte-depleted platelet concentrates by filtration.
Vox Sang **65**: 103-107.
- Gookin, J. L., S. E. Bunch, L. J. Rush und C. B. Grindem (1998)
Evaluation of microcytosis in 18 Shibas.
J Am Vet Med Assoc **212**: 1258-1259.
- Gorski, D. H., M. A. Beckett, N. T. Jaskowiak, D. P. Calvin, H. J. Mauceri, R. M. Salloum, S. Seetharam, A. Koons, D. M. Hari, D. W. Kufe und R. R. Weichselbaum (1999)
Blockage of the vascular endothelial growth factor stress response increases the antitumor effects of ionizing radiation.
Cancer Res **59**(14): 3374-8.
- Gosh, A. K., N. Hirasawa und K. Ohuchi (2001)
Enhancement by histamine of vascular endothelial growth factor production in granulation tissue via H(2)receptors.
Br j Pharmacol **134**: 1419-1428.
- Graeven, U., N. Andre und E. Achilles (1999)
Serum levels of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in patients with soft-tissue sarcoma.
J Cancer Res Clin Oncol **125**: 577-581.
- Graves, T. A., W. G. Cioffi und A. D. Mason (1989)
Relationship of transfusion and infection in a burn trauma population.
J Trauma **29**: 948-954.
- Greenberg, S. und H. S. Rugo (2010)
Triple-negative breast cancer: role of antiangiogenic agents.
Cancer J **16**: 33-38.

Greenberger, P. A. (1991)

Plasma anaphylaxis and immediate type reactions.

In: Principles of transfusion medicine. C. E. Rossi, T. L. Simon und G. S. Moss (Hrsg.): Baltimore, Williams & Wilkins: 635-640.

Greene, C. E. und E. B. Breitschwerdt (2006)

Rocky Mountain Spotted Fever, murine typhuslike disease, rickettsialpox, typhus, and Q fever.

In: Infectious diseases of the dog and cat. C. E. Greene (Hrsg.): St. Louis, Missouri, Saunders Elsevier: 232-242.

Greene, C. E. und L. E. Carmichael (2006)

Canine Brucellosis.

In: Infectious diseases of the dog and cat. C. E. Greene (Hrsg.): St. Louis, Missouri, Saunders Elsevier: 369-380.

Greene, C. E. und R. K. Straubinger (2006)

Borreliosis.

In: Infectious diseases of the dog and cat. C. E. Greene (Hrsg.): St. Louis, Missouri, Saunders Elsevier: 417-434.

Greenwalt, T. J. (1997)

A short history of transfusion medicine.

Transfusion **37**: 550-563.

Greenwalt, T. J., M. Gajewski und J. L. McKenna (1962)

A new method for preparing buffy coat-poor blood.

Transfusion **2**: 221-229.

Greig, B. und P. J. Armstrong (2006)

Canine granulocytotropic anaplasmosis.

In: Infectious diseases of the dog and cat. C. E. Greene (Hrsg.): St. Louis, Missouri, Saunders Elsevier: 219-224.

Gruber, B. L., M. J. Marchese und R. Kew (1995)

Angiogenic factors stimulate mast-cell migration.

Blood **86**(7): 2488-2493.

Guidi, A. J., G. Abu-Jawdeh, B. Berse, R. W. Jackman, K. Tognazzi, H. F. Dvorak und L. F. Brown (1995)

Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) expression and angiogenesis in cervical neoplasia.

J Natl Cancer Inst **87**: 1237-1245.

Guidi, A. J., G. Abu-Jawdeh, K. Tognazzi, H. F. Dvorak und L. F. Brown (1996)

Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in endometrial carcinoma.

Cancer **78**(3): 454-460.

Gunsilius, E., A. Petzer, G. Stockhammer, W. Nussbaumer, P. Schumacher, J. Clausen und G. Gastl (2000)

Thrombocytes are the major source for soluble vascular endothelial growth factor in peripheral blood.

Oncology **58**: 169-174.

Gürtler, L. und W. Schramm (1993)

Infektionsgefährdung durch Blut oder Blutbestandteile.

Dtsch Med Wschr **118**: 520.

Hale, A. S. (1995)

Canine blood groups and their importance in veterinary medicine.

In: *Vet Clin North Am Small Anim Pract: Canine and Feline Transfusion Medicine*. A. T. Kristensen und B. F. Feldman (Hrsg.): Philadelphia, WB Saunders Co: 1325-1333.

Hallissey, M. T., M. C. Crowson, R. S. Kiff, R. D. Kingston und J. W. L. Fielding (1992)

Blood transfusion: an overused resource in colorectal cancer surgery.

Ann R Coll Surg Engl **74**: 59-62.

Hammer, J. H., T. Mynster, C. M. Reimert, A. N. Pedersen, E. Dybkjaer, B. Alsbjorn und H. J. Nielsen (1997)

Effect of heating on extracellular bioactive substances in stored human blood: in vitro study.

J Trauma **43**(5): 799-803.

Hammer, J. H., T. Mynster, C. M. Reimert, A. N. Pedersen und H. J. Nielsen (1999)

Reduction of bioactive substances in stored donor blood: prestorage versus bedside leucofiltration.

Eur J Haematol **63**(1): 29-34.

Hammer, J. H., H. J. Nielsen, F. Moesgaard und H. Kehlet (1992)

Duration of postoperative immunosuppression assessed by repeated delayed type hypersensitivity skin tests.

Eur Surg Res **24**: 133-137.

Hannahan, D. und J. Folkman (1996)

Patterns and emerging mechanism of the angiogenic switch during tumor genesis.

Cell **86**: 353-364.

Hardaway, R. M., D. G. McKay und G. H. Wahle (1956)

Pathologic study of intravascular coagulation following incompatible blood transfusion in dogs.

Am J Surg **91**: 24-31.

Harlozinska, A., P. Sedlaczek, J. Kulpa, M. Grybos, E. Wojcik, A. van Dalen und R. Einarsson (2004)

Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentration in sera and tumor effusions from patients with ovarian carcinoma.

Anticancer Res **24**: 1149-1157.

- Harmey, J. H., E. Dimitriadis und E. Kay (1998)
Regulation of macrophage production of vascular endothelial growth factor (VEGF) by hypoxia and transforming growth factor β -1.
Ann Surg Oncol **5**: 271-278.
- Harrell, K. A. und A. T. Kristensen (1995)
Canine transfusion reactions and their management.
Vet Clin North Am Small Anim Pract **25**(6): 1333-1364.
- Harrell, K. A., A. T. Kristensen und J. Parrow (1997)
Canine transfusion reactions part I. Causes and consequences.
Compend Contin Educ Pract Vet **19**: 181-189.
- Hartelt, K., T. Rieker, R. Oehme, S. O. Brockmann, W. Müller und N. Dorn (2007)
First evidence of Babesia gibsoni (Asian genotype) in dogs in Western Europe.
Vector Borne Zoonotic Dis **7**(2): 163-166.
- Heal, J. M., N. Blumberg und D. Masel (1987)
An evaluation of crossmatching, HLA, and AB0 matching for platelet transfusions to refractory patients.
Transfusion **70**: 23-30.
- Heaton, W. A., P. Rebull, M. Pappalettera und W. H. Dzik (1997)
A comparative analysis of different methods for routine blood component preparation.
Transfus Med Rev **11**: 116-129.
- Heddle, N. M. und M. A. Blajchman (1995)
The leukodepletion of cellular blood products in the prevention of HLA-autoimmunization and refractoriness to allogeneic platelet transfusion.
Blood **85**: 603-606.
- Heddle, N. M., L. Klama, J. Singer, C. Richards, P. Fedak, I. Walker und J. G. Kelton (1994)
The role of the plasma from platelet concentrates in transfusion reactions.
N Engl J Med **331**: 625-628.
- Heddle, N. M., L. N. Klama und L. Griffith (1993)
A prospective study to identify the risk factors associated with acute reactions to platelet and red cell transfusions.
Transfusion **33**: 794-797.
- Heilmann, E., P. Friese, S. Anderson, J. N. George, S. R. Hanson, S. A. Burstein und G. J. Dale (1993)
Biotinylated platelets: A new approach to the measurement of platelet life span.
Br J Haematol **85**: 725-735.
- Heiss, M., M., K. Fasol-Merten, H. Allgayer, M. Ströhlein, A., A. Tarabichi, S. Wallner, H. Eissner, I., K. W. Jauch und F. W. Schildberg (1997)
Influence of autologous blood transfusion on natural killer cells and lymphokine-activated killer cell activities in cancer surgery.
Vox Sang **73**: 237-245.

Heiss, M., M., K. W. Jauch, C. Delanoff, W. Mempel und F. W. Schildberg (1992)
Blood transfusion-modulated tumor recurrence: a randomized study of autologous versus homologous blood transfusion in colorectal cancer.
Proc Am Soc Clin Oncol **11**: 172.

Heiss, M., M., W. Mempel, C. Delanoff, K. W. Jauch, C. Gabka, M. Mempel, H. J. Dieterich, H. J. Eissner und F. W. Schildberg (1994a)
Blood transfusion-modulated tumor recurrence: first results of a randomized study of autologous versus allogeneic blood transfusion in colorectal cancer surgery.
J Clin Oncol **12**: 1859-1867.

Heiss, M., M., W. Mempel, K. W. Jauch und F. W. Schildberg (1994b)
Leukocyte-depleted or buffy-coat depleted blood in surgery for colorectal cancer.
Lancet **344**: 1430.

Heiss, M., M., W. Mempel, K. W. Jauch, C. Delanoff, G. Mayer, M. Mempel, H.-J. Eissner und F.-H. Schildberg (1993)
Beneficial effect of autologous blood transfusion on infectious complications after colorectal cancer surgery.
Lancet **342**: 1328-1333.

Heltberg, O., F. Skov, P. Gerner-Smidt, H. J. Kolmos, E. Dybkjaer, E. Gutschik, D. Jerne, O. B. Jepsen, M. Weischer, W. Frederiksen und H. Sorensen (1993)
Nosocomial epidemic of *Serratia marcescens* septicemia ascribed to contaminated blood transfusion bags.
Transfusion **33**: 221-227.

Hematology, B. C. f. S. i. (2004)
Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant.
The British Society for Hematology **126**: 11-28.

Hendrickson, J. E. und C. D. Hillyer (2009)
Noninfectious serious hazards of transfusion.
Anaesth & Analg **108**: 759-769.

Henkelman, S., M. J. Dijkstra-Tiekstra, J. de Wildt-Eggen, R. Graaff, G. Rakhorst und W. van Oeveren (2010)
Is red blood cell rheology preserved during routine blood bank storage?
Transfusion **50**: 941-948.

Hetland, M. L., I. J. Christensen, T. Lottenburger, J. S. Johansen, M. N. Svendsen, K. Horslev-Petersen, L. Nielsen und H. J. Nielsen (2008)
Circulation of VEGF as a biological marker in patients with rheumatoid arthritis? Preanalytical and biological variability in healthy persons and in patients.
Dis Markers **24**: 1-10.

Högman, C. F. (1993)
Yersinia enterocolitica and blood transfusion.
Transfusion **33**: 534.

Högman, C. F., H. Fritz und L. Sandberg (1993)
Posttransfusion Serratia marcescens septicemia.
Transfusion **33**(3): 189-191.

Hoh, H., H. Umpleby, A. Cooper und I. Taylor (1990)
Recurrence of colorectal cancer and perioperative blood transfusion. Is blood storage time important?
Dis Colon Rectum **33**(2): 127-130.

Hohenhaus, A. E. (2000)
Transfusion reactions.
In: Schalm's Veterinary Hematology. B. F. Feldman, J. G. Zinkl und N. C. Jain (Hrsg.): Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 864-868.

Hohenhaus, A. E. (2005)
Blood transfusions, component therapy, and oxygen-carrying solutions.
In: Textbook of Veterinary Internal Medicine. S. J. Ettinger und E. C. Feldman (Hrsg.): St. Louis, Missouri, Elsevier Saunders: 464-468.

Hohenhaus, A. E. (2006)
Blood transfusion and blood substitutes.
In: Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice. S. P. DiBartola (Hrsg.): St. Louis, Missouri, Saunders Elsevier: 567-583.

Holtan, S. G., D. J. Creedon, P. Haluska und S. N. Markovic (2009)
Cancer and pregnancy: parallels in growth, invasion, and immune modulation and implications for cancer therapeutic agents.
Mayo Clin Proc **84**: 985-1000.

Holten-Andersen, M. N., N. Brunner, I. J. Christensen, V. Jensen und H. J. Nielsen (2002a)
Levels of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in blood transfusion components.
Scand J Clin Lab Invest **62**(3): 223-30.

Holten-Andersen, M. N., I. J. Christensen, H. J. Nielsen, R. W. Stephens, V. Jensen, O. H. Nielsen, S. Sorensen, J. Overgaard, H. Lilja, A. Harris, G. Murphy und N. Brunner (2002b)
Total levels of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in plasma yield high diagnostic sensitivity and specificity in patients with colon cancer.
Clin Cancer Res **8**(1): 156-164.

Holten-Andersen, M. N., U. Hansen, N. Brunner, H. J. Nielsen, M. Illemann und B. S. Nielsen (2004)
Localization of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP-1) in human colorectal adenoma and adenocarcinoma.
Int J Cancer **113**(2): 198-206.

Holten-Andersen, M. N., H. J. Nielsen, S. Sorensen, V. Jensen, N. Brunner und I. J. Christensen (2006)
Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in the postoperative monitoring of colorectal cancer.
Eur J Cancer **42**(12): 1889-96.

Holten-Andersen, M. N., R. W. Stephens, H. J. Nielsen, G. Murphy, I. J. Christensen, W. Stetler-Stevenson und N. Brunner (2000)

High preoperative plasma tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels are associated with short survival of patients with colorectal cancer.

Clin Cancer Res **6**(11): 4292-9.

Hoppe, P. A. (1992)

Interim measures for the detection of bacterially contaminated red cell components.

Transfusion **32**: 199-201.

Horiuchi, T. und P. F. Weller (1997)

Expression of vascular endothelial growth factor by human eosinophils: upregulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-5.

Am J Respir Cell Mol Biol **17**: 70-77.

Hornbrey, E., C. Han, A. Roberts, D. A. McGrouther und A. L. Harris (2003)

The relationship of human wound vascular endothelial growth factor (VEGF) after breast cancer surgery to circulating VEGF and angiogenesis.

Clin Cancer Res **9**(12): 4332-9.

Hosgood, G. (1990)

Blood transfusion: a historical review.

J Am Vet Med Assoc **197**: 197; 998-1000.

Houbiers, J. G., A. Brand, L. M. van de Watering, J. Hermans, P. J. Verwey, A. B. Bijnen, P. Pahlplatz, M. Eeftinck Schattenkerk, T. Wobbes, J. E. de Vries und et al. (1994a)

Randomised controlled trial comparing transfusion of leucocyte-depleted or buffy-coat-depleted blood in surgery for colorectal cancer.

Lancet **344**(8922): 573-578.

Houbiers, J. G., L. M. van de Watering, C. J. van de Velde und A. Brand (1994b)

Autologous blood and infections after colorectal surgery.

Lancet **343**(8898): 668-669.

Houbiers, J. G., C. J. van de Velde, L. M. van de Watering, J. Hermans, S. Schreuder, A. B. Bijnen, P. Pahlplatz, M. Eeftinck Schattenkerk, T. Wobbes, J. E. de Vries, P. Klementsich, A. H. van de Maas und A. Brand (1997)

Transfusion of red cells is associated with increased incidence of bacterial infection after colorectal cancer surgery: a prospective study.

Transfusion **37**: 126-134.

Houck, K. A., N. Ferrara und J. Winer (1991)

The vascular growth factor family: identification of a fourth molecular species and characterization of alternative splicing of RNA.

Mol Endocrinol **5**: 1806-1814.

Howard, A., B. Callan, M. Sweeney und U. Giger (1992)

Transfusion practices and costs in dogs.

J Am Vet Med Assoc **201**(11): 1697-1701.

Humbert, J. R., C. D. Fermin und E. L. Windsor (1991)
Early damage of granulocytes during storage.
Semin Hemotal **28**: 10-13.

Hume, H. A., M. A. Popovsky, K. Benson, A. B. Glassman, D. Hines, H. A. Oberman, P. T. Pisciotto und K. C. Anderson (1996)
Hypotensive reactions: a previously uncharacterized complication of platelet transfusion?
Transfusion **36**: 904-909.

Hyodo, I., T. Doi, H. Endo, Y. Hosokawa, Y. Nishikawa, M. Tanimizu, K. Jinno und Y. Kotani (1998)
Clinical significance of plasma vascular endothelial growth factor in gastrointestinal cancer.
Eur J Cancer **34**(13): 2041-2045.

Iazbik, C., C. G. Couto, T. L. Gray und G. Kociba (2001)
Effect of storage conditions on hemostatic parameters of canine plasma obtained for transfusion.
Am J Vet Res **62**(5): 734-5.

Iijama, K., N. Yoshikawa und D. T. Connolly (1993)
Human mesangial cells and peripheral blood mononuclear cells produce vascular permeability factor.
Kidney Int **44**: 959-966.

Iijama, K., N. Yoshikawa und Y. Nakamura (1996)
Activation-induced expression of vascular permeability factor by human peripheral T cells: a non-radioisotopic semiquantitative reverse transcription-polymerase chain reaction assay.
J Immunol Methods **196**: 199-209.

Inoue, K., Y. Ozeki und T. Suganuma (1997)
Vascular endothelial growth factor expression in primary esophageal squamous cell carcinoma: association with angiogenesis and tumor progression.
Cancer **79**: 206-213.

Isbister, J. P. (1993)
Adverse reactions to plasma and plasma components.
Anaest Intensive Care **21**: 31-36.

Ishida, T., T. Oyama und D. P. Carbone (1998)
Defective function of Langerhans cells in tumor-bearing animals is the result of defective maturation from hemopoietic progenitors.
J Immunol **161**: 4842-4851.

Iyer, V. R., M. B. Eisen, D. T. Ross, G. Schuler, T. Moore, J. C. F. Lee, J. M. Trent, L. M. Staudt, J. J. Hudson, M. S. Boguski, D. Lashkari, D. Shalon, D. Botstein und P. O. Brown (1999)
The transcriptional program in the response of human fibroblast to serum.
Science **283**: 83-87.

Jacobsohn, D. A. und G. B. Vogelsang (2007)
Acute graft versus host disease
Orphanet J Rare Dis **2**: 35.

Jahnsen, S. und M. Andersson (1992)
Adverse effects of perioperative blood transfusion in patients with colorectal cancer.
Eur J Surg **158**: 419-425.

James, D. J., S. Sikotra, M. Sivakumaran, J. K. Wood, J. A. Revill, V. Bullen und S. Myint (1997)
The presence of free infectious cytomegalovirus (CMV) in the plasma of donated CMV-seropositive blood and platelets.
Transfus Med **7**: 123-126.

Jemionek, J. F., R. L. Monroy, W. H. Baker und D. A. Walden (1983)
Neutrophil migration in canines: in vivo comparison of granulocyte function following 24-hour storage at 6 or 20 degrees C of leukocyte concentrates or of granulocytes purified by counterflow centrifugation-elutriation.
Cryobiology **20**(1): 7-16.

Jensen, L. S. (1994)
Leukocyte-depleted or buffy-coat-depleted blood in surgery for colorectal cancer.
Lancet **344**: 1429.

Jensen, L. S., A. J. Andersen, P. M. Christensen, P. Hokland, C. O. Juhl, G. Madsen, J. Mortensen, C. Moller-Nielsen, F. Hanberg-Sorensen und M. Hokland (1992)
Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery.
Br J Surg **79**: 513-516.

Jensen, L. S., M. Hokland und H. J. Nielsen (1996)
A randomized controlled study of the effect of bedside leucocyte depletion on the immunosuppressive effect of whole blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery.
Br J Surg **83**(7): 973-977.

Jensen, L. S. und P. Kissmeyer-Nielsen (1996)
Randomised comparison of leucocyte-depleted versus buffy-coat-poor blood transfusion and complications after colorectal surgery.
Lancet **348**(9031): 841-845.

Jerant, A. F. und A. D. Arline (1993)
Babesiosis in California.
West J Med **158**(6): 622-625.

Jeter, E. K. und M. A. Spivey (1995)
Noninfectious complications of blood transfusion.
Hematology/Oncology Clin North Am **9**: 187-204.

- Jia, L., C. Bonaventura und J. Bonaventura (1996)
S-nitrosohemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control.
Nature **380**: 221-226.
- Jinno, K., M. Tanimizu, I. Hyodo, Y. Nishikawa, Y. Hosokawa, T. Doi, H. Endo, T. Yamashita und Y. Okada (1998)
Circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) is a possible tumor marker for metastasis in human hepatocellular carcinoma.
J Gastroenterol **33**(3): 376-82.
- Jones, A., C. Fujiyama und K. Turner (2000)
Elevated serum vascular endothelial growth factor in patients with hormone-escaped prostate cancer.
BJU Int **85**: 276-280.
- Kaessmeyer, S. und J. Plendl (2009)
Angiogenesis and vasculogenesis in the corpus luteum in vitro.
Clin Hemorheol Microcirc **41**: 83-101.
- Kanter, J., S. Y. Khan, M. Kelher, L. Gore und C. C. Silliman (2008)
Oncogenic and angiogenic growth factors accumulate during routine storage of apheresis platelet concentrates.
Clin Cancer Res **14**: 3942-3947.
- Kao, K. J., M. Mickel und H. G. Braine (1995)
White cell reduction in platelet concentrates and packed red cells by filtration: a multicenter clinical trial.
Transfusion **35**: 13-19.
- Kaplan, J., S. Sarnaik, J. Gitlin und J. Lusher (1984)
Diminished helper/suppressor lymphocyte ratios and natural killer activity in recipients of repeated blood transfusions.
Blood **64**: 308-310.
- Kato, Y., K. Asano, T. Mogi, K. Kutara, K. Edamura, S. Tsumagari, A. Hasegawa und K. Tanaka (2007)
Clinical significance of circulating Vascular endothelial growth factor in dogs with mammary gland tumors.
J Vet Med Sci **69**(1): 77-80.
- Katz, E. A. (2009)
Blood transfusion: friend or foe.
AACN Adv Crit Care **20**: 155-163.
- Kaufmann, P. M. (1992)
Supplies for blood transfusions in dogs and cats.
Probl Vet Med **4**(4): 582-593.

- Kendall, R. L. und K. A. Thomas (1993)
Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor.
Proc Natl Acad Sci **90**: 10705-10709.
- Kenneth, T. A. (1996)
Vascular endothelial growth factor, a potent and selective angiogenic agent.
J Biol Chem **271**: 603-606.
- Keown, P. A. und B. Descamps (1979)
Improved renal allograft survival after blood transfusion: a nonspecific, erythrocyte-mediated process?
Lancet **1**: 20-22.
- Kessler, R. J., S. Rankin, S. Young, K. O'Shea, M. Calabrese, A. Guldin, N. Lipson, D. A. Oakley und U. Giger (2010)
Pseudomonas fluorescens contamination of a feline packed red blood cell unit and studies of canine units.
Vet Clin Pathol **39**(1): 29-38.
- Kevy, S. V., P. J. Schmidt, M. H. McGinniss und W. G. Workman (1962)
Febrile, nonhemolytic transfusion reactions and the limited role of leukoagglutinins in their etiology.
Transfusion **2**: 7-15.
- Kieser, A., H. A. Welch, G. Brandner, D. Marme und W. Kolch (1994)
Mutant p53 potentiates protein kinase C induction of vascular endothelial growth factor expression.
Oncogene **9**: 963-969.
- Killick, S. B., N. Win, J. C. W. Marsh, T. Kaye, A. Yandle, C. Humphries, S. M. Knowles und E. C. Gordon-Smith (1997)
Pilot study of HLA alloimmunization after transfusion with prestorage leukodepleted blood products in aplastic anaemia.
Br J Haematol **97**: 677-684.
- Kim, D. M., M. E. Brecher, L. A. Bland, T. J. Estes, R. A. Carmen und E. J. Nelson (1992)
Visual identification of bacterially contaminated red cells.
Transfusion **32**: 221-225.
- Kim, K. J., B. Li und J. Winer (1993)
Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumor growth in vivo.
Nature **362**: 841-844.
- Kinlen, L., R. Doll und J. Peto (1983)
The incidence of tumors in human transplant recipients.
Transplant Proc **15**: 1039-1042.

Kirkley, S. A., J. Cowles, V. Pellegrini, C. Harris, A. D. Boyd und N. Blumberg (1995a)
Increased T helper 2 (TH2) type cytokine secretion found in surgical patients receiving
allogeneic blood.

Transfusion **35**: 44.

Kirkley, S. A., J. Cowles, V. D. J. Pellegrini, C. M. Harris, A. D. Boyd und N. Blumberg
(1995b)

Cytokine secretion after allogenic or autologous blood transfusion.

Lancet **345**: 527.

Kitamura, M., M. Toi und K. Arai (1998)

Concentrations of vascular endothelial growth factor in the sera of gastric cancer patients.

Oncol Rep **5**: 1419-1424.

Klagsburn, M. und S. Soker (1993)

VEGF/VPS: the angiogenesis factor bound?

Curr Biol **3**: 699.

Klarenbach, S., B. Manns, T. Reiman, M. N. Reaume, H. Lee, A. Lloyd, N. Wiebe, B.
Hemmelgarn und M. Tonelli (2010)

Economic evaluation of erythropoiesis-stimulating agents for anemia related to cancer.

Cancer: noch im Druck.

Klein, H. G. (1992)

Wolf in wolf's clothing: is it time to raise the bounty on the passenger leukocyte?

Blood **80**: 1865.

Klein, M. K., S. W. Dow und A. W. Rosychuk (1989)

Pulmonary thrombembolism associated with immune-mediated hemolytic anemia in dogs:
Ten cases (1982-1987).

J Am Vet Med Assoc **195**: 246-249.

Kleinman, S., P. Swanson, J.-P. Allain und H. Lee (1993)

Transfusion transmission of human T-lymphotropic virus types I and II: serologic and
polymerase chain reaction results in recipients identified through look-back investigation.

Transfusion **33**: 14-18.

Kleinman, S. H., S. A. Glynn, T.-H. Lee, L. H. Tobler, K. S. Schlumpf, D. S. Todd, H. Qiao,
M. W. Yu und M. P. Busch (2009)

A linked donor-recipient study to evaluate parvovirus B19 transmission by blood component
transfusion.

Blood **114**: 3677-3683.

Kodama, A., H. Sakai, S. Matsuura, M. Murakami, A. Murai, T. Mori, K. Maruo, T. Kimura,
T. Masegi und T. Yanai (2009)

Establishment of canine hemangiosarcoma xenograft models expressing endothelial growth
factors, their receptors, and angiogenesis-associated homeobox genes.

BMC Cancer **9**: 363.

- Kohn, B., R. Engelbrecht, W. Leibold und U. Giger (2000a)
 Klinische Befunde, Diagnostik und Behandlungserfolge bei der primären und sekundären
 Thrombozytopenie beim Hund.
Kleintierpraxis **12**: 893-907.
- Kohn, B., S. Reitemeyer, U. Giger und L. Brunnberg (2000b)
 Etablierung einer Blutbank für Hunde an einer Universitäts-Kleintierklinik.
Kleintierpraxis **45**: 331-349.
- Kohn, B. und U. Giger (2006)
 Anämien, Polyzytämien, Gerinnungsstörungen.
 In: Praktikum der Hundeklinik. H. C. Niemand, P. F. Suter und B. Kohn (Hrsg.): Stuttgart,
 Parey: 588-591.
- Komai, H., F. Yamamoto, K. Tanaka, T. Yagihara und Y. Kawashima (1994)
 Prevention of lung injury during open heart operations for congenital heart defects.
Ann Thorac Surg **57**: 133-140.
- Kondo, S., M. Asano, K. Matsuo, I. Ohmori und H. Suzuki (1994)
 Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is detectable in the sera of
 tumor-bearing mice and cancer patients.
Biochem Biophys Acta **1221**: 211-214.
- Korpany, G., E. Smyth, L. A. Sullivan, R. a. Brekken und D. N. Carney (2010)
 Antiangiogenic therapy in lung cancer: focus on vascular endothelial growth factor pathway.
Exp Biol Med **235**: 3-9.
- Korte, W. (2000)
 Changes of the coagulation and fibrinolysis system in malignancy: Their possible impact on
 future diagnostic and therapeutic procedures.
Clin Chem Lab Med **38**: 679-692.
- Kraft, A., K. Weindel, A. Ochs, C. Marth, J. Zmija, P. Schumacher, C. Unger, D. Marme und
 G. Gastl (1999)
 Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and
 nonmalignant disease.
Cancer **85**(1): 178-187.
- Krishnan, L. A. G. und M. E. Brecher (1995)
 Transfusion-transmitted bacterial infection.
Hematology/Oncology Clin North Am **9**(1): 167-185.
- Kristensen, A. T. (1996)
 Complications associated with the administration of blood and blood products.
 In: Complications in small animal surgery. A. L. Lipowitz, D. D. Caywood, C. D. Newton
 und A. Schwartz (Hrsg.): Philadelphia, Lea & Febiger: 7-33.

- Kristensen, A. T. und B. F. Feldman (1995)
General principles of small animal blood component administration.
In: *Vet Clin North Am Small Anim Pract: Canine and Feline Transfusion Medicine*.
Philadelphia, WB Saunders Co: 1277-1290.
- Kuhnen, C., M. Lehnhardt und E. Tolnay (2000)
Patterns of expression and secretion of vascular endothelial growth factor in malignant soft-tissue tumors.
J Cancer Res Clin Oncol **126**: 219-225.
- Kumar, H., K. Heer, P. W. Lee, G. S. Duthie, A. W. MacDonald, J. Greenman, M. J. Kerin und J. R. Monson (1998)
Preoperative serum vascular endothelial growth factor can predict stage in colorectal cancer.
Clin Cancer Res **4**: 1279-1285.
- Kumar-Singh, S., P. Vermeulen, J. Weyler, K. Segers, B. Weyn, A. van Daele, L. Y. Dirix, A. T. van Oosterom und E. van Marck (1997)
Evaluation of tumor angiogenesis as a prognostic marker in malignant mesothelioma.
J Pathol **182**: 211-216.
- Kurz, M., H. Greinix, P. Hocker, P. Kahls, P. Knöbl, W. R. Mayr, M. Pober und S. Panzer (1996)
Specificities of anti-platelet antibodies in multitransfused patients with haemato-oncological disorders.
Br J Haematol **95**: 564-569.
- Lagaay, E. L., P. H. Hennemann, M. Ruigrok, M. W. de Haan, G. G. Persijn, A. Termijtelen, G. F. J. Hendriks, W. Weimar, F. H. J. Claas und J. J. van Rood (1989)
Effect of one-HLA-DR-antigen-matched and completely HLA-DR-mismatched blood transfusions on survival of and kidney allografts.
N Engl J Med **321**: 701-705.
- Lane, T. A., K. C. Anderson und L. T. Goodnough (1992)
Leukocyte reduction blood component therapy.
Ann Intern Med **117**: 151-160.
- Lanevski, A. und K. J. Wardrop (2001)
Principles of transfusion medicine in small animals.
Can Vet J **42**(6): 447-54.
- Larsson, S., C. Söderberg-Nauclér, F.-Z. Wang und E. Möller (1998)
Cytomegalovirus DNA can be detected in peripheral blood mononuclear cells from all seropositive and most seronegative healthy blood donors.
Transfusion **38**: 271-278.
- Lau, P., C. P. Sholtis und R. H. Aster (1980)
Post-transfusion purpura: an enigma of alloimmunization.
Am J Hematol **9**: 331-335.

- Ledent, E. und G. Berlin (1994a)
Does plasma influence the efficiency of leukocyte filtration?
Vox Sang **67**(Suppl 2): 20.
- Ledent, E. und G. Berlin (1994b)
Inadequate white cell reduction by bedside filtration of red cell concentrates.
Transfusion **34**: 765-768.
- Lee, J. K., Y. J. Hong, C. J. Han, D. Y. Hwang und S. I. Hong (2000)
Clinical usefulness of serum and plasma vascular endothelial growth factor in cancer patients: which is the optimal specimen?
Int J Oncol **17**(1): 149-52.
- Leiby, D. A. und J. E. Gill (2004)
Transfusion-transmitted tick-borne infections: A cornucopia of threats.
Transfusion Med Rev **18**(4): 293-306.
- Leite, J. F., M. E. Granjo, M. I. Martins, R. C. Reis, J. C. Monteiro und F. Castro-Sousa (1993)
Effect of perioperative blood transfusions on survival of patients after radical surgery for colorectal cancer
Int J Colorectal Dis **8**: 129-133.
- Lester, S. und J. Hume (1995)
Haemobartonella canis infection following splenectomy and transfusion.
Can Vet J **36**: 444-445.
- Levy, A. P., N. S. Levy, S. Wegner und M. A. Goldberg (1995)
Transcriptional regulation of the rat vascular endothelial growth factor gene by hypoxia.
J Biol Chem **270**: 13333-13340.
- Lewis, D. C., K. M. Meyers, M. B. Callan, J. Bücheler und U. Giger (1995)
Detection of platelet-bound and serum platelet-bindable antibodies for diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura in dogs.
J Am Vet Med Assoc **206**: 47-52.
- Li, J., L. Goodrich, E. Hansen, R. Edrich, D. Gampp und R. P. Goodrich (2005)
Platelet glycolytic flux increases stimulated by ultraviolet-induced stress is not the direct cause of platelet morphology and activation changes: possible implications for the role of glucose in platelet storage.
Transfusion **45**(11): 1750-8.
- Li, J., Y. Xia und A. M. Bertino (2000)
The mechanism of apoptosis in human platelets during storage.
Transfusion **40**: 1320-1329.
- Li, X. M., Z. Y. Tang und L. X. Qin (1999)
Serum vascular endothelial growth factor is a predictor of metastasis in hepatocellular carcinoma.
J Exp Clin Cancer Res **18**: 511-517.

- Lichtensteiger, C. A. und C. E. Greene (2006)
West Nile Virus infection.
In: Infectious diseases of the dog and cat. C. E. Greene (Hrsg.): St. Louis, Missouri, Saunders Elsevier: 192-194.
- Liddell, A. M., J. W. Sumner und C. D. Paddock (2002)
Reinfection with Ehrlichia chaffensis in a liver transplant recipient.
Clin Infect Dis **34**: 1644-1647.
- Lin, J. S., C. H. Tzeng, T. C. Hao, H. Y. Hu, Y. T. Ho, J. Y. Lyou, J. M. Liu, C. H. Ho und C. H. Yung (2002)
Cytokine release in febrile non-haemolytic red cell transfusion reactions.
Vox Sang **82**(3): 156-60.
- Lin, L., D. N. Cook, R. Alfonso, C.-S. Sun, C. V. Hanson, C. Asuncion und C. E. Chapman (1994)
Inactivation of infectious HIV in large volume samples of human platelet concentrate.
Vox Sang **67**: 36.
- Linder, C., S. Linder und E. Munck-Wikland (1998)
Independent expression of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (bFGF) in patients with carcinoma and sarcoma.
Anticancer Res **18**: 2063-2068.
- Liotta, L. A., J. Kleinerman und G. M. Saidel (1974)
Quantitative relationships of intravascular tumor cells, tumor vessels, and pulmonary metastases following tumor implantation.
Cancer Res **34**: 997-1004.
- Liu, Y., S. R. Cox, T. Morita und S. Kourembanas (1995)
Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor gene expression in endothelial cells. Identification of a 5' enhancer.
Circ Res **77**(3): 638-43.
- Logan, J. C., M. B. Callan, K. Drew, K. Maryott, D. A. Oakley, L. Jefferies und U. Giger (2001)
Clinical indications for use of fresh frozen plasma in 74 dogs (October through December 1999).
J Am Vet Med Assoc **218**: 1449-1455.
- Loncaster, J. A., R. A. Copper, J. P. Logue, S. E. Davidson, R. D. Hunter und C. M. West (2000)
Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression is a prognostic factor for radiotherapy outcome in advanced carcinoma of the cervix.
Br J Cancer **83**: 620-625.
- Loutit, J. F., R. L. Mollison und I. M. Young (1943)
Citric acid-sodium citrate-glucose mixtures for blood storage.
Q J Exp Physiol **32**: 183-202.

- Luban, N. L. C. (1994)
Human parvoviruses: implications for transfusion medicine.
Transfusion **34**(9): 821-827.
- Lucas, R. L., K. D. Lentz und A. S. Hale (2004)
Collection and preparation of blood products.
Clinical Techniques in Small Animal Practice **19**: 55-62.
- Luk, C., S., L. Gray-Statchuk, A., G. Cepinkas und I. Chin-Lee, H. (2003)
WBC reduction reduces storage-associated RBC adhesion to human vascular endothelial cells under conditions of continuous flow in vitro.
Transfusion **43**: 151-156.
- Luo, J. C., S. Yamaguchi, A. Shinkai, K. Shitara und M. Shibuya (1998)
Significant expression of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in mouse ascites tumors.
Cancer Res **58**: 2652-2660.
- Macintire, D. K., M. K. Boudreaux und G. D. West (2002)
Babesia gibsoni infection among dogs in the southeastern United States.
J Am Vet Med Assoc **220**: 325-329.
- Madewell, B. R. und B. F. Feldman (1980)
Characterization of anemias associated with neoplasia in small animals.
J Am Vet Med Assoc **176**(5): 419-425.
- Maeta, M., N. Shimizu und A. Oka (1994)
Perioperative allogeneic blood transfusion exacerbates surgical stress-induced postoperative immunosuppression and has a negative effect on prognosis in patients with gastric cancer.
J Surg Oncol **55**: 149-153.
- Magalhaes, R. F., L. H. U. Pitassi, M. Salvadego, A. M. De Moraes, M. L. Barjas-Castro und P. E. N. F. Velho (2008)
Bartonella henselae survives after the storage period of red blood cell units: is it transmissible by transfusion?
Transfusion Med **18**(5): 287-291.
- Mahalingam, M., K. E. Ugen, K. J. Kao und P. A. Klein (1988)
Functional role of platelets in experimental metastasis studied with cloned murine fibrosarcoma cell variants.
Cancer Res **48**: 1460-1464.
- Maiolino, P., G. De Vico und B. Restucci (2000)
Expression of vascular endothelial growth factor in basal cell tumours and in squamous cell carcinomas of canine skin.
J Comp Pathol **123**(2-3): 141-5.

- Mair, B. und G. F. Leparc (1998)
Hypotensive reactions associated with platelet transfusions and angiotensin-converting enzyme inhibitors.
Vox Sang **74**: 27-30.
- Maloney, J. P., C. C. Silliman, D. R. Ambruso, J. Wang, R. M. Tuder und N. F. Voelkel (1998)
In vitro release of vascular endothelial growth factor during platelet aggregation.
Am J Physiol **275**: 1054-1061.
- Mangano, M. M., L. A. Chambers und M. S. Kruskall (1991)
Limited efficiency of leukopoor platelets for prevention of febrile transfusion reactions.
Am J Clin Pathol **95**: 733-738.
- Maniwa, Y., M. Okada, N. Ishii und K. Kiyooka (1998)
Vascular endothelial growth factor increased by pulmonary surgery accelerates the growth of micrometastases in metastatic lung cancer.
Chest **114**(6): 1668-1675.
- Mariani, T. C., C. do Prado, L. G. Silva, F. A. Paarmann, M. C. Lima, I. Carvalho, D. B. Campos, L. P. Artoni, F. J. Hernandez-Blazquez und P. C. Papa (2006)
Immunohistochemical localization of VEGF and its receptors in the corpus luteum of the bitch during diestrus and anestrus.
Theriogenology **66**(6-7): 1715-20.
- Marik, P. E. (2009)
The hazards of blood transfusion.
Br J Hosp Med **70**: 12-15.
- Marik, P. E. und W. J. Sibbald (1993)
Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis.
J Am Med Assoc **269**(23): 3024-3029.
- Marjon, P. L., E. V. Bobrovnikova-Marjon und S. F. Abcouwer (2004)
Expression of the pro-angiogenic factors vascular endothelial growth factor and interleukin-8/CXCL8 by human breast carcinomas is responsive to nutrient deprivation and endoplasmic reticulum stress.
Mol Cancer **22**: 4.
- Marme, D. (1996)
Tumor angiogenesis: the pivotal role of vascular endothelial growth factor.
World J Urol **14**: 166-174.
- Marquet, R. L., M. A. Hoyneck van Papendrecht, O. R. Busch und J. Jeekel (1993)
Blood donation leads to a decrease in natural killer cell activity: a study in normal blood donors and cancer patients.
Transfusion **33**(5): 368-373.

- Marsh, J., P. T. Donnan und D. W. Hamer-Hodges (1990)
Association between transfusion with plasma and the recurrence of colorectal carcinoma.
Br J Surg **77**: 623-626.
- Masse, M., C. Naegelen und N. Pellegrini (1992)
Validation of a simple method to count very low white cell concentrations in filtered red cells or platelets.
Transfusion **32**: 565-571.
- Mathew, A. H. (1912)
Life and times of Roderigo Borgia.
London
- Mattern, J., R. Koomägi und M. Volm (1996)
Association of vascular endothelial growth factor expression with intratumoral microvessel density and tumor cell proliferation in human epidermoid lung carcinoma.
Br J Cancer **73**: 931-934.
- McAllister, F. A., H. D. Clark, P. S. Wells und A. Laupacis (1998)
Perioperative allogeneic blood transfusion does not cause adverse sequelae in patients with cancer: a meta-analysis of unconfounded studies.
Br J Surg **85**: 171-178.
- McCourt, M., J. H. Wang, S. Sookhai und H. P. Redmond (1999)
Proinflammatory mediators stimulate neutrophil-directed angiogenesis.
Arch Surg **134**: 1325-1331.
- McCullough, J. (2005)
Blood procurement and screening.
In: Williams Hematology. M. A. Lichtman, E. Beutler, T. J. Kipps et al. (Hrsg.): New York, McGraw-Hill Medical: 2151-2158.
- McKechnie, D. B., K. S. Slater und J. E. Childs (2000)
Survival of Ehrlichia chaffensis in refrigerated ADSOL-treated RBCs.
Transfusion **40**: 1041-1047.
- McLaren, J., A. Prentice, D. S. Charnock-Jones, S. A. Millican, K. H. Muller und A. M. Sharkey (1996)
Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids.
J Clin Invest **98**: 482-489.
- McNamara, D. A., J. H. Harmey, T. N. Walsh, H. P. Redmond und D. J. Bouchier-Hayes (1998)
Significance of angiogenesis in cancer therapy.
Br J Surg **85**(8): 1044-1055.

- McQiston, J. H., J. E. Childs und M. E. Chamberland (2000)
Transmission of tick-borne agents of disease by blood transfusion: A review of known and potential risks in the United States.
Transfusion **40**: 274-284.
- Memke-Möllers, I., H. Burrichter, K. Schiene und J. Krüger (1992)
Lymphozytogramme in Abhängigkeit von der Lagerungszeit von CPDA1-Vollblutkonserven.
Beitr Infusionsther **30**: 140-144.
- Menitove, J. E., L. R. Kagen und R. H. Aster (1990)
Alloimmunization is decreased in patients receiving UV-B irradiated platelet concentrates and leukocyte-depleted red cells.
Blood **76**: 1607.
- Menitove, J. E., M. C. McElligott und R. H. Aster (1982)
Febrile transfusion reactions: what blood component should be given next?
Vox Sang **42**: 318-321.
- Meryman, H. T. und M. Hornblower (1986)
The preparation of red cells depleted of leukocytes: review and evaluation.
Transfusion **26**: 101-106.
- Metcalfe, P., L. M. Williamson, C. P. M. Reutelingsperger, I. Swann, W. H. Ouwehand und A. H. Goodall (1997)
Activation during preparation of therapeutic platelets affects deterioration during storage: a comparative flow cytometric study of different production methods.
Br J Haematol **98**: 86-95.
- Mezrow, C. K., I. Bergstein und P. I. Tartter (1992)
Postoperative infections following autologous and homologous blood transfusions.
Transfusion **32**(1): 212-217.
- Michenko, A., T. Bauer und S. Salceda (1994)
Hypoxic stimulation of vascular endothelial growth factor expression in vitro and in vivo.
Lab Invest **71**: 374-379.
- Miholic, J., M. Hudec und E. Domanig (1985)
Risk factors for severe bacterial infections after valve replacement and aortocoronary bypass operations: analysis of 246 cases by logistic regression.
Ann Thorac Surg **40**: 224-228.
- Miller, J. P. und P. D. Mintz (1995)
The use of leukocyte-reduced blood components.
Hematology/Oncology Clin North Am **9**(1): 69-90.
- Mincheff, M. (1998)
Changes in donor leukocytes during blood storage. Implications on post transfusion immunomodulation and transfusion-associated GVHD.
Vox Sang **74**: 189-200.

- Mintz, E. D., J. F. Anderson, R. G. Cable und J. L. Hadler (1991)
Transfusion-transmitted babesiosis: a case report from a new endemic area.
Transfusion **31**: 365-368.
- Mintz, P. D. (1991)
Febrile reactions to platelet transfusions.
Am J Clin Pathol **95**: 609-612.
- Mintz, P. D. (1995)
Quality assessment and improvement of transfusion practices.
Hematology/Oncology Clin North Am **9**(1): 219-232.
- Miyake, H., I. Hara, K. Yamanaka, K. Gohji, S. Arakawa und S. Kamidono (1999)
Elevation of serum level of vascular endothelial growth factor as a new predictor of recurrence and disease progression in patients with superficial urothelial cancer.
Urology **53**(2): 302-307.
- Modin, S., G. Karlsson und L. Walhby (1992)
Blood transfusion and recurrence of colorectal cancer.
Eur J Surg **158**: 371-375.
- Mohandas, K. und L. Aledort (1995)
Transfusion requirements, risks, and costs for patients with malignancy.
Transfusion **35**: 427-430.
- Möhle, R., D. Green, M. A. Moore, R. L. Nachman und S. Rafii (1997)
Constitutive production and thrombin-induced release of vascular endothelial growth factor by human megakaryocytes and platelets.
Proc Natl Acad Sci U S A **94**(2): 663-668.
- Molica, S., G. Vitelli und D. Levato (1999)
Increased levels of vascular endothelial growth factor predicts risk of progression in early B-cell chronic lymphocytic leukaemia.
Br J Hematol **107**: 605-610.
- Moller Sorensen, N., S. Blincko, E. Dinsmore, A. Weerakoon, J. Lally, V. Jensen, H. J. Nielsen, I. J. Christensen, B. C. Rodgers, B. Dowell, N. Brunner und G. Davis (2006)
Evaluation of an improved tissue inhibitor of metalloproteinase 1 dual monoclonal sandwich immunoassay.
Tumour Biol **27**(6): 319-28.
- Montesano, R. (1992)
Regulation of angiogenesis in vitro.
Eur J Clin Invest **22**: 504-515.
- Moog, R. und N. Müller (1999)
White cell reduction during platelet apheresis: a comparison of three blood cell separators.
Transfusion **39**: 572.

- Mooney, S. (1992)
Preparation of blood components.
Probl Vet Med **4**(4): 594-599.
- Mori, T., J. Sasaki, Y. Aoyama und T. Sera (2010)
Hypoxia-specific downregulation of endogenous human VEGF-A gene by hypoxia-driven expression of artificial transcription factor.
Mol Biotechnol **noch im Druck**.
- Morrow, J. F., G. B. Hayden, T. S. Kickler, P. M. Ness, J. D. Dick und M. Fuller (1991)
Septic reactions to platelet transfusion. A persistent problem.
J Am Med Assoc **266**: 555-558.
- Moserle, L., A. Amadori und S. Indraccolo (2009)
The angiogenic switch: implications in the regulation of tumor dormancy.
Curr Mol Med **9**: 935-941.
- Mukhopadhyay, D., L. Tsiokas und V. P. Sukhatme (1995)
Wild-type p53 and v-Src exert opposing influences on human vascular endothelial growth factor gene expression.
Cancer Res **55**: 6161-6165.
- Mura, M., M. Binnie, B. Han, C. Li, C. F. Andrade, A. Shiozaki, Y. Zhang, N. Ferrara, D. Hwang, T. K. Waddell, S. Keshavjee und M. Liu (2010)
Functions of type II pneumocyte-derived vascular endothelial growth factor in alveolar structure, acute inflammation, and vascular permeability.
Am J Pathol **176**(4): 1725-1734.
- Murphy, M. F., P. C. Grint, A. E. Hardiman, T. A. Lister und A. H. Waters (1988)
Use of leukocyte-poor blood components to prevent primary cytomegalovirus (CMV) infection in patients with acute leukaemia.
Br J Haematol **70**: 253-254.
- Murphy, M. F., W. Stevens, E. S. Green, P. Allison und D. Smith (1998)
Universal leukocyte depletion of blood components.
Infusionstherapie und Transfusionsmedizin **25**: 305-311.
- Murphy, P., J. M. Heal und N. Blumberg (1991)
Infection or suspected infection after hip replacement surgery with autologous or homologous blood transfusions
Transfusion **31**: 212-217.
- Murphy, S. (2004)
Utility of in vitro tests in predicting the in vivo viability of stored PLTs.
Transfusion **44**: 618-619.
- Murukesh, N., C. Dive und G. C. Jayson (2010)
Biomarkers of angiogenesis and their role in the development of VEGF inhibitors.
Br J Cancer **102**: 8-18.

- Muyllé, L., J. F. Beert, G. Mertens und H. Bult (1998)
Histamine synthesis by white cells during storage of platelet concentrates.
Vox Sang **74**: 193.
- Muyllé, L., M. Joos, E. Wouters, R. De Bock und M. E. Peetermans (1993)
Increased tumor necrosis factor alpha (TNF alpha), interleukin 1, and interleukin 6 (IL-6) levels in the plasma of stored platelet concentrates: relationship between TNF alpha and IL-6 levels and febrile transfusion reactions.
Transfusion **33**(3): 195-199.
- Muyllé, L. und M. E. Peetermans (1994)
Effect of prestorage leukocyte removal on the cytokine levels in stored platelet concentrates.
Vox Sang **66**: 14-17.
- Muyllé, L., E. Wouters, R. De Bock und M. E. Peetermans (1992)
Reactions to platelet transfusion: the effect of the storage time of the concentrate.
Transfus Med **2**: 289-293.
- Muyllé, L., E. Wouters und M. E. Peetermans (1996)
Febrile reactions to platelet transfusion: the effect of increased interleukin-6 levels in concentrates prepared by the platelet-rich plasma method.
Transfusion **36**: 886-890.
- Myhre, B. A. (1989)
The first recorded blood transfusions: 1656-1668.
Transfusion **30**: 358-362.
- Mynster, T., I. J. Christensen, F. Moesgaard und H. J. Nielsen (2000)
Effects of the combination of blood transfusion and postoperative infectious complications on prognosis after surgery for colorectal cancer.
Br J Surg **87**(11): 1553-1562.
- Mynster, T. und H. J. Nielsen (2000)
The impact of storage time of transfused blood on postoperative infectious complications in rectal cancer surgery.
Scand J Gastroenterol **35**(2): 212-217.
- Mynster, T., E. Dybkjoer, G. Kronborg und H. J. Nielsen (1998)
Immunomodulating effect of blood transfusion: is storage time important?
Vox Sang **74**(3): 176-181.
- Nagy, J. A., K. T. Herzberg, E. M. Masse, G. P. Zientara und H. F. Dvorak (1989)
Exchange of macromolecules between plasma and peritoneal cavity in ascites tumor-bearing, normal, and serotonin-injected mice.
Cancer Res **49**: 5448-5458.
- Nakamura, Y., H. Yasuoka und M. Tsujimoto (2003)
Prognostic significance of vascular endothelial growth factor D in breast carcinoma with long-term follow-up.
Clin Cancer Res **9**: 716-721.

Nakano, T., A. P. Chaninian, M. Shinjo, A. Tonomura, M. Miyake, N. Togawa, K. Ninomiya und K. Higashino (1998)
Interleukin-6 and its relationship to clinical parameters in patients with malignant pleural mesothelioma.
Br J Cancer **77**: 907-912.

Namiki, A., E. Brogi, M. Kearney, E. A. Kim, T. Wu und T. Couffinhal (1995)
Hypoxia induces vascular endothelial growth factor in cultured human endothelial cells.
J Biol Chem **270**(31): 189-195.

Nauck, M., G. Karakiulakis, A. P. Perruchoud, E. Papakonstantinou und M. Roth (1998)
Corticosteroids inhibit the expression of the vascular endothelial growth factor gene in human vascular smooth muscle cells.
Eur J Pharmacol **341**(2-3): 309-315.

Nauck, M., M. Roth, M. Tamm, O. Eickelberg, H. Wieland, P. Stulz und A. P. Perruchoud (1997)
Induction of vascular endothelial growth factor by platelet-activating factor and platelet-derived growth factor is downregulated by corticosteroids
Am J Respir Cell Mol Biol **16**(4): 398-406.

Neer, T. M., E. B. Breitschwerdt, R. T. Greene und M. R. Lappin (2002)
Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease group of the ACVIM.
J Vet Intern Med **16**: 309-315.

Neer, T. M. und S. Harrus (2006)
Canine monocytotropic ehrlichiosis and neorickettsiosis.
In: Infectious diseases of the dog and cat. C. E. Greene (Hrsg.): St. Louis, Missouri, Saunders Elsevier: 203-216.

Nelson, K. E., J. G. Donahue und A. Munoz (1992)
Transmission of retroviruses from seronegative donors by transfusion during cardiac surgery.
Ann Intern Med **177**: 554-559.

Ness, P. M., P. C. Walsh, M. Zahurak, M. L. Baldwin und S. Piantadosi (1992)
Prostate cancer recurrence in radical surgery patients receiving autologous or homologous blood.
Transfusion **32**(1): 31-36.

Neufeld, G., T. Cohen, S. Gengrinovitch und Z. Poltorak (1999)
Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors.
FASEB **13**: 9-22.

Nielsen, H., C. Reimert, A. Pedersen, N. Brunner, L. Edvardsen, E. Dybkjaer, H. Kehlet und P. Skov (1996a)
Time-dependent, spontaneous release of white cell- and platelet-derived bioactive substances from stored human blood.
Transfusion **36**(11-12): 960-965.

- Nielsen, H. J., L. Edvardsen, K. Vangsgaard, E. Dybkjaer und P. S. Skov (1996b)
Time-dependent histamine release from stored human blood products.
Br J Surg **83**(2): 259-262.
- Nielsen, H. J. (1995)
Detrimental effects of perioperative blood transfusion.
Br J Surg **82**: 582-587.
- Nielsen, H. J. (1998)
Clinical impact of bioactive substances in blood components. Implications for leucocyte filtration.
Infusionstherapie und Transfusionsmedizin **25**: 296-304.
- Nielsen, H. J., I. J. Christensen, F. Moesgaard, H. Kehlet und T. R. S. Group (2001a)
Ranitidine as adjuvant treatment in colorectal cancer.
Proc AACR **42**: 697.
- Nielsen, H. J., T. Mortensen, M. Holten-Andersen, N. Brunner, S. Sorensen und J. Rask-Madsen (2001b)
Increased levels of specific leukocyte- and platelet-derived substances during normal anti-tetanus antibody synthesis in patients with inactive Crohn disease.
Scand J Gastroenterol **36**(3): 265-9.
- Nielsen, H. J., K. Werther, T. Mynster, M. N. Svendsen, S. Rosendahl, T. Elley und F. Skov (2001c)
Bacteria-induced release of white cell and platelet-derived vascular endothelial growth factor in vitro
Vox Sang **80**(3): 170-178.
- Nielsen, H. J., J. H. Hammer, F. Moesgaard und H. Kehlet (1989)
Ranitidine prevents postoperative transfusion-induced depression of delayed hypersensitivity.
Surgery **105**: 711-717.
- Nielsen, H. J., J. H. Hammer, F. Moesgaard und H. Kehlet (1991)
Comparison of the effects of SAGM and whole-blood transfusions on postoperative suppression of delayed hypersensitivity.
Can J Surg **34**: 146-150.
- Nielsen, H. J., H. Pappot, I. J. Christensen, N. Brunner, O. Thorlacius-Ussing, F. Moesgaard, K. Dano und J. Grondahl-Hansen (1998)
Association between plasma concentrations of plasminogen activator inhibitor-1 and survival in patients with colorectal cancer.
BMJ **316**(7134): 829-830.
- Nielsen, H. J., C. Reimert, A. N. Pedersen, E. Dybkjoer, N. Brunner, B. Alsbjorn und P. S. Skov (1997a)
Leucocyte-derived bioactive substances in fresh frozen plasma.
Br J Anaesth **78**(5): 548-552.

- Nielsen, H. J., C. M. Reimert, E. Dybkjaer, J. Roed und B. Alsbjorn (1997b)
Bioactive substance accumulation and septic complications in a burn trauma patient: effect of perioperative blood transfusion?
Burns **23**(1): 59-63.
- Nielsen, H. J., F. Skov, E. Dybkjaer, C. M. Reimert, A. N. Pedersen, N. Brunner und P. S. Skov (1997c)
Leucocyte and platelet-derived bioactive substances in stored blood: effect of prestorage leucocyte filtration
Eur J Haematol **58**(4): 273-278.
- Nielsen, H. J., K. Werther, T. Mynster und N. Brünner (1999)
Soluble vascular endothelial growth factor in various blood transfusion components.
Transfusion **39**(10): 1078-1083.
- Nissen, N. N., P. J. Polverini, R. L. Gamelli und L. A. DiPietro (1996)
Basic fibroblast growth factor mediates angiogenic activity in early surgical wounds.
Surgery **119**: 457-465.
- Nissen, N. N., P. J. Polverini, A. E. Koch, M. V. Volin, R. L. Gamelli und L. A. DiPietro (1998)
Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing.
Am J Pathol **152**: 1445-1452.
- Nolte, I. und R. Mischke (1995)
Investigations of platelet aggregation and platelet counts from stored canine whole blood.
Res Vet Sci **58**: 190-192.
- Nomura, M., S. Yamaguchi und S. Harada (1995)
Possible participation of autocrine and paracrine vascular endothelial growth factors in hypoxia-induced proliferation of endothelial cells and pericytes.
J Biol Chem **47**: 28316-28324.
- Novinger, M. S., P. S. Sullivan und T. P. McDonald (1996)
Determination of the lifespan of erythrocytes from greyhounds, using an in vitro biotinylation technique.
Am J Vet Res **57**: 739-742.
- Novotny, V. M. J., R. van Doorn, M. D. Witvliet, F. H. J. Claas und A. Brand (1995)
Occurrence of allogeneic HLA and non-HLA antibodies after transfusion of prestorage filtered platelets and red blood cells.
Blood **85**: 1736-1741.
- Nusbacher, J. (1992)
Yersinia enterocolitica and white cell filtration.
Transfusion **32**: 597-600.

- Nusbacher, J. (1994)
Blood transfusion is mononuclear cell transplantation.
Transfusion **34**: 1002-1006.
- O'Byrne, K. J., N. Dobbs, D. Propper, K. Smith und A. L. Harris (1999)
Vascular endothelial growth factor, platelet counts, and prognosis in renal cancer.
Lancet **353**: 1494-1495.
- O'Reilly, M. S., T. Boehm, Y. Shing, N. Fukai, G. Vasios und W. S. Lane (1997)
Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth.
Cell **88**: 277-285.
- O'Reilly, M. S., L. Holmgren, C. Chen und J. Folkman (1996)
Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice.
Nat Med **1**: 689-692.
- Oakley, D. A. und N. Shaffran (1987)
Blood transfusions: Part II. Collection, storage, and administration.
Compend Contin Educ Vet Tech **8**: 189-193.
- Oehler, M. K. und H. Caffier (1999)
Diagnostic value of serum VEGF in women with ovarian tumors.
Anticancer Res **19**: 2519-2522.
- Oksanen, K., F. Ebeling und R. Kekomaki (1994)
Adverse reactions to platelet transfusions are reduced by use of platelet concentrates derived from buffy coat.
Vox Sang **67**: 356-361.
- Oksanen, K. und E. Elonen (1993)
Impact of leukocyte-depleted blood components on the haematological recovery and prognosis of patients with acute myeloid leukaemia.
Br J Haematol **84**: 639-647.
- Oksanen, K., R. Kekomaki, T. Ruutu, S. Koskimies und G. Myllälä (1991)
Prevention of alloimmunization in patients with acute leukemia by use of white cell-reduced blood components - a randomized trial.
Transfusion **31**: 588-594.
- Okuno, K. (1994)
Effect of packed red cell and whole blood transfusion on liver-associated immune function.
Am J Surg **168**: 340-344.
- Olsen, K. E. und S. G. Sandler (1996)
Febrile neutropenia contributes to underreporting of potential septic platelet transfusion reactions.
Vox Sang **70**: 118.

- Olson, T. A., D. Mohanraj und L. F. Carson (1994)
Vascular permeability factor gene expression in normal and neoplastic ovaries.
Cancer Res **54**: 276-280.
- Olver, C. (2006)
Anemia of cancer: characterization and pathophysiology.
Proc 24th ACVIM Forum: 569-570.
- Opelz, G., D. P. S. Sengar, M. R. Mickey und P. I. Terasaki (1973)
Effect of blood transfusion on subsequent kidney transplants.
Transplant Proc **1**: 253-259.
- Opelz, G., Y. Vanrenterghem, G. Kirste, D. W. R. Gray, T. Horsburgh, J.-G. Lachance, F. Largiader, H. Lange, K. Vujaklija-Stipanovic, J. Alvarez-Grande, W. Schott, J. Hoyer, P. Schnuelle, C. Descoedres, H. Ruder, T. Wujciak und V. Schwarz (1997)
Prospective evaluation of pretransplant blood transfusions in cadaver kidney recipients.
Transplantation **63**: 964-967.
- Owens, S. D., D. A. Oakley, K. Marryott, W. Hatchett, R. Walton, T. J. Nolan, A. Newton, F. Steurer, P. Schantz und U. Giger (2001)
Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusion from infected English foxhounds to anemic dogs.
J Am Vet Med Assoc **219**(8): 1076-1083.
- Pamphilon, D. H. und E. L. Blundell (1992)
Ultraviolet B irradiation of platelet transfusions: a strategy to reduce recipient alloimmunization.
Semin Hemotal **29**: 118-121.
- Pappalardo, B. L., T. T. Brown und M. Tompkins (2001)
Immunopathology of *Bartonella vinsonii* (berkhoffii) in experimentally infected dogs.
Vet Immunol Immunopathol **83**: 125-147.
- Paradis, M. R. (1991)
Neonatal transfusion medicine.
In: Comparative transfusion medicine. Advances in veterinary science and comparative medicine. S. M. Cotter (Hrsg.): San Diego, Academic Press: 225-237.
- Park, J.-S., L. Qiao und Z.-Z. Su (2001)
Ionizing radiation modulates vascular endothelial growth factor (VEGF) expression through multiple mitogen activated protein kinase dependent pathways.
Oncogene **20**: 3266-3280.
- Parravicini, C., S. J. Olsen, M. Capra, F. Poli, G. Sirchia, S.-J. Gao, E. Berti, A. Nocera, E. Rossi, G. Bestetti, M. Pizzuto, M. Galli, M. Moroni, P. Moore und M. Corbellino (1997)
Risk of Kaposi's sarcoma-associated herpes virus transmission from donor allografts among Italian posttransplant Kaposi's sarcoma patients.
Blood **90**: 2826-2829.

- Patel, H., Lall, D.G., Nasir, F.A., Kakkar, A.K. (2002)
Blood products have increased angiogenesis stimulating effects following storage.
Blood **100**: 282a.
- Patel, H. B., F. A. Nasir, G. F. Nash, M. F. Scully und A. K. Kakkar (2004)
Enhanced angiogenesis following allogeneic blood transfusion.
Clin Lab Haematol **26**(2): 129-35.
- Pedigo, M., T. Wun und T. Paglieroni (1993)
Removal by white cell reduction filters of activated platelets expressing CD62.
Transfusion **33**: 930-935.
- Pekala, P., M. Marlow, D. Heuvelman und D. Connolly (1990)
Regulation of hexose transport in aortic endothelial cells by vascular permeability factor and tumor necrosis factor-alpha, but not by insulin.
J Biol Chem **265**: 18051-18054.
- Penn, I. (1986)
The occurrence of malignant tumors in immunosuppressed states.
Prog Allergy **37**: 259-300.
- Pereira, A. (1999)
Cost-effectiveness of transfusing virus-inactivated plasma instead of standard plasma.
Transfusion **39**: 479-487.
- Perini, F., B. Frangione und F. Prelli (1996)
Prion protein released by platelets.
Lancet **347**: 1635-1636.
- Perkins, H. A., R. Payne, J. Ferguson und M. Wood (1966)
Nonhemolytic febrile transfusion reactions: quantitative effects of blood components with emphasis on isoantigenic incompatibility of leukocytes.
Vox Sang **11**: 578-600.
- Persijn, G. G., B. Cohen, Q. Lansbergen und J. J. van Rood (1979)
Retrospective and prospective studies on the effect of blood transfusion in renal transplantation in the Netherlands.
Transplantation **28**: 396-401.
- Pertovaara, L., A. Kaipainen, T. Mustonen, A. Orpana, N. Ferrara, O. Saksela und K. Alitalo (1994)
Vascular endothelial growth factor is induced in response to transforming growth factor- β in fibroblastic and epithelial cells.
J Biol Chem **269**: 6271.
- Peters, W. R., R. D. Fry und J. W. Fleshman (1989)
Multiple blood transfusions reduce the recurrence rate of Crohn's disease.
Dis Colon Rectum **32**: 749.

- Pichler, M. E. und G. H. Turnwald (1985)
Blood transfusions in the dog and cat. Part I: Physiology, collection, storage, and indications for whole blood therapy.
Compend Contin Educ Pract Vet **7**: 64-72.
- Pidgeon, G. P., J. H. Harmey, E. Kay, M. Da Costa, H. P. Redmond und D. J. Bouchier-Hayes (1999)
The role of endotoxin/lipopolysaccharide in surgically induced tumor growth in a murine model of metastatic disease.
Br J Cancer **81**: 1311-1317.
- Pietersz, R. N. I., D. de Korte, H. W. Reesink, A. van den Ende, W. J. A. Dekker und D. Roos (1988)
Preparation of leukocyte-poor platelet concentrates from buffy coats. III. Effect of leukocyte contamination on storage conditions.
Vox Sang **55**: 14-20.
- Pinto, V., R. Baldonado, C. Nicolas, A. Barez, A. Perez und J. Aza (1991)
Relationship of transfusion and infectious complications after gastric carcinoma operations.
Transfusion **31**: 114-118.
- Plate, K. H., G. Breier, H. A. Weich, H. D. Mennel und W. Risau (1994)
Vascular endothelial growth factor and glioma angiogenesis: coordinate induction of VEGF receptors. Distribution of VEGF protein and possible in vivo regulatory mechanisms.
Int J Cancer **59**: 520-529.
- Plate, K. H., G. Breire und H. A. Weich (1992)
Vascular endothelial growth factor is a potential tumor angiogenesis factor in human gliomas in vivo.
Nature **359**: 845-848.
- Platt, S. R., T. J. Scase, V. Adams, L. Wiczorek, J. Miller, F. Adamo und S. Long (2006)
Vascular endothelial growth factor expression in canine intracranial meningiomas and association with patient survival.
J Vet Intern Med **20**(3): 663-8.
- Plendl, J. (2000)
Angiogenesis and vascular regression in the ovary.
Anat Histol Embryol **29**: 257-266.
- Pohlman, T. H. und C. J. Carrico (1992)
Evaluation of bleeding in the surgical patient.
In: Critical care. J. M. Civetta, R. W. Taylor und R. R. Kirby (Hrsg.): Philadelphia, J.B. Lippincott: 627-639.
- Poon, R. T., S. T. Fan und J. Wong (2001a)
Clinical implications of circulating angiogenic factors in cancer patients.
J Clin Oncol **19**: 1207-1225.

- Poon, R. T. P., I. O. L. Ng und C. Lau (2001b)
Serum vascular endothelial growth factor predicts venous invasion in hepatocellular carcinoma. A prospective study.
Ann Surg **233**: 227-235.
- Popovsky, M. A. (1991)
Transfusion-transmitted babesiosis.
Transfusion **31**: 296-298.
- Popovsky, M. A., H. C. J. Chaplin und S. B. Moore (1992)
Transfusion-related acute lung-injury: a neglected serious complication of haemotherapy.
Transfusion **32**: 589-592.
- Preiksaitis, J. K. (1991)
Indications for the use of cytomegalovirus-seronegative blood products.
Transfus Med Rev **5**: 1.
- Prittie, J. E. (2010)
Controversies related to red blood cell transfusion in critically ill patients.
J Vet Emerg Crit Care **20**: 167-176.
- Purdy, F. R., M. G. Tweeddale und P. M. Merrick (1997)
Association of mortality with age of blood transfused in septic ICU patients.
Can J Anesth **44**: 1256-1261.
- Qian, C. N., C. Q. Zhang und X. Guo (2000)
Elevation of serum vascular endothelial growth factor in male patients with metastatic nasopharyngeal carcinoma.
Cancer **88**: 2555-2561.
- Quingley, R. L. (1996)
The effect of leukocytes on adhesion molecules: an explanation.
Arch Surg **131**: 438-441.
- Ramsey, G. (1994)
The pathophysiology and organ-specific consequences of severe transfusion reactions.
New Horizons **2**: 575-581.
- Rapaille, A., G. Moore und J. Siquet (1997)
Pre-storage leukocyte reduction with in-line filtration of whole blood: Evaluation of red cells and plasma storage.
Vox Sang **73**: 28-35.
- Reid, T. J., G. Esteban, M. Clear und M. Gorogias (1999)
Platelet membrane integrity during storage and activation.
Transfusion **39**: 616.
- Reine, N. J. (2004)
Infection and blood transfusion: a guide to donor screening.
Clinical Techniques in Small Animal Practice **19**(2): 68-74.

- Reitemeyer, S., B. Kohn, L. Brunnberg und U. Giger (2000)
Transfusionen von Vollblut und Erythrozytenkonzentrat beim Hund.
Kleintierpraxis **45**: 669-684.
- Restucci, B., S. Papparella, P. Maiolino und G. De Vico (2002)
Expression of vascular endothelial growth factor in canine mammary tumors.
Vet Pathol **39**(4): 488-93.
- Riccardi, D., E. Raspollini, P. Rebutta, M. Pappalettera, F. Marangoni, N. Greppi und G. Sirchia (1997)
Relationship of the time of storage and transfusion reactions to platelet concentrates from buffy coats.
Transfusion **37**: 528.
- Riggert, J., G. Simson, J. Dittmann und M. Köhler (1995)
Prestorage leukocyte depletion with in-line filtration of whole blood in comparison with blood component leukocyte depletion.
Vox Sang **69**: 201-205.
- Riisbro, R., R. W. Stephens, N. Brunner, I. J. Christensen, H. J. Nielsen, L. Heilmann und G. F. von Tempelhoff (2001)
Soluble urokinase plasminogen activator receptor in preoperatively obtained plasma from patients with gynecological cancer or benign gynecological diseases.
Gynecol Oncol **82**(3): 523-31.
- Roberts, W. G. und G. E. Palade (1997)
Neovasculature induced by vascular endothelial growth factor is fenestrated.
Cancer Res **57**: 765-772.
- Roleff, S. (2005)
Klinische Evaluierung des automatischen Blutzellzählgerätes CA350-VET durch Vergleich mit dem CELL-DYN 3500 und Standardmethoden für die Tierarten Hund, Katze und Pferd.
Vet.med. Diss., FU Berlin.
- Romano, G., C. Mastroianni, C. Bancone, A. Della Corte, N. Galdieri, G. Nappi und L. S. de Santo (2010)
Leukoreduction program for red blood cell transfusions in coronary surgery: association with reduced acute kidney disease injury and in-hospital mortality.
J Thorac Cardiovasc Surg **noch im Druck**.
- Rossmeisl, J. H., R. B. Duncan, W. R. Huckle und G. C. Troy (2007)
Expression of vascular endothelial growth factor in tumors and plasma from dogs with primary intracranial neoplasms.
Am J Vet Res **68**: 1239-1245.
- Rous, P. und J. R. Turner (1916)
The preservation of living red blood cells in vitro.
J Exp Med **21**: 219-248.

- Rumjahn, S. M., N. Yogdang, K. A. Baldwin, J. Thai und I. L. Buxton (2009)
Purinergic regulation of vascular endothelial growth factor signaling in angiogenesis.
Br J Cancer **100**(9): 1465-1470.
- Saarinen, U. M., R. Dekomaki und M. Slimes (1990)
Effective prophylaxis against platelet refractoriness in multi-transfused patients by use of leukocyte free blood components.
Blood **75**: 512-517.
- Sacher, R. A. (1993)
High circulating interleukin 6 levels associated with acute transfusion reaction: cause or effect?
Transfusion **33**: 962.
- Sadfar, N., R. B. Love und D. G. Maki (2002)
Severe Ehrlichia chaffensis infection in a lung transplant recipient: a review of ehrlichiosis in the immunocompromised patient.
Emerg Infect Dis **8**: 320-323.
- Sadikot, R., M. J. Shaver und W. B. Reeves (1999)
Ehrlichia chaffensis in a renal transplant recipient.
Am J Nephrol **19**: 674-676.
- Salgado, R., P. B. Vermeulen, I. Benoy, R. Weytjens, P. Huget, E. Van Marck und L. Y. Dirix (1999)
Platelet number and interleukin-6 correlate with VEGF but not with bFGF serum levels of advanced cancer patients.
Br J Cancer **80**(5-6): 892-897.
- Salven, P., H. Manpaa und A. Orpana (1997a)
Serum vascular endothelial growth factor is often elevated in disseminated cancer.
Clin Cancer Res **3**: 647-651.
- Salven, P., L. Teerenhovi und H. Joensuu (1997b)
A high pretreatment vascular endothelial growth factor concentration is associated with poor outcome in non-Hodgkin`s lymphoma.
Blood **90**: 3167-3172.
- Salven, P., A. Orpana und H. Joensuu (1999a)
Leukocytes and platelets of patients with cancer contain high levels of vascular endothelial growth factor.
Clin Cancer Res **5**: 487-491.
- Salven, P., V. Perhoniemi, H. Tykka, H. Maenpaa und H. Joensuu (1999b)
Serum VEGF levels in women with a benign breast tumor or breast cancer.
Breast Cancer Res Treat **53**: 161-166.

- Salven, P., T. Ruotsalainen, K. Mattson und H. Joensuu (1998)
High pretreatment serum level of vascular endothelial growth factor (VEGF) is associated with poor outcome in small-cell lung cancer.
Int J Cancer **79**(2): 144-146.
- Samoto, K., K. Ikezaki, M. Ono, T. Shono, K. Kohno und M. Kuwano (1995)
Expression of vascular endothelial growth factor and its possible relation with neovascularization in human brain tumors.
Cancer Res **55**: 1189-1193.
- Sandler, S. G., C. T. Fang und A. E. Williams (1991)
Human T-cell lymphotropic virus type I and II in transfusion medicine.
Transfus Med Rev **5**: 93.
- Santini, D., Y. Ceccarelli, G. N. Martinelli, O. Leone, a. Marabini und C. Orlandi (1994)
Immunocytochemical study of epidermal growth factor receptor, transforming growth factor alpha, and "squamous differentiation" in human endometrial carcinoma.
Hum Pathol **25**: 1319-1323.
- Sarkodee-Adoo, C. B., J. M. Kendall, R. Sridhara, E. J. Lee und C. A. Schiffer (1998)
The relationship between the duration of platelet storage and the development of transfusion reactions.
Transfusion **38**: 229.
- Sato, K., N. Tsuchiya und R. Sasaki (1999)
Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with renal cell carcinoma.
Jpn J Cancer **90**: 874-879.
- Sayers, M. H. (1994)
Transfusion-transmitted viral infections other than hepatitis and human immunodeficiency virus infection. Cytomegalovirus, Epstein Barr virus, human herpes virus 6, and human parvovirus.
Arch Pathol Lab Med **118**: 346-349.
- Sazama, K. (1994)
Bacteria in blood for transfusion: a review.
Arch Pathol Lab Med **118**: 350-365.
- Scheidegger, P., W. Weiglhofer, S. Suarez, B. Kaser-Hotz, R. Steiner, K. Ballmer-Hofer und R. Jaussi (1999)
Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors in tumor-bearing dogs.
Biol Chem **380**(12): 1449-1454.
- Schiffer, C. A. (1991)
Prevention of alloimmunization against platelets.
Blood **77**: 1.

Schneider, A. (2000)

Principles of blood collection and processing.

In: Schalm's Veterinary Hematology. B. F. Feldman, J. G. Zinkl und N. C. Jain (Hrsg.): Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 827-832.

Schürer-Maly, C. C., M. Fried und F. E. Maly (1997)

Vascular endothelial growth factor in serum of patients with inflammatory bowel disease.

Scand J Gastroenterol **32**: 959-960.

Seghezzi, G., S. Patel, C. J. Ren, A. Gualandris, G. Pintucci, E. S. Robbins, R. L. Shapiro, A. C. Galloway, D. B. Rifkin und P. Mignatti (1998)

Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the endothelial cells of forming capillaries: an autocrine mechanism contributing to angiogenesis.

J Cell Biol **141**: 1659-1673.

Semple, J. W., E. R. Speck, D. Cosgrave, A. H. Lazarus, V. S. Blanchette und J. Freedman (1999)

Extreme leukoreduction of major histocompatibility complex class II positive B cells enhances allogeneic platelet immunity.

Blood **93**: 713-720.

Senger, D. R., S. J. Galli, A. M. Dvorak, C. A. Perruzzi, V. S. Harvey und H. F. Dvorak (1983)

Tumor cells secrete vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid.

Science **219**: 983-985.

Shanwell, A., M. Kristiansson, M. Remberger und O. Ringden (1997)

Generation of cytokines in red cell concentrates during storage is prevented by prestorage white cell reduction.

Transfusion **37**: 678-684.

Shen, H., M. Clauss, J. Ryan, A.-M. Schmidt, P. Tijburg, L. Borden, D. Connolly, D. Stern und J. Kao (1993)

Characterization of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor receptors on mononuclear phagocytes.

Blood **81**: 2767.

Shiba, M., K. Tadokoro, M. Sawanobori, K. Nakajima, K. Suzuki und T. Juji (1997)

Activation of the contract system by filtration of platelet concentrates with a negatively charged white cell-removal filter and measurement of venous blood bradykinin level in patients who received the filtered platelets.

Transfusion **37**: 457-462.

Shibuya, M. (2006)

Differential roles of vascular endothelial growth factor receptor-1 and receptor-2 in angiogenesis.

J Biochem Mol Biol **39**: 469-478.

- Shifren, J. L., N. Doldi, N. Ferrara, S. Mesiano und R. B. Jaffe (1994)
In the human fetus, vascular endothelial growth factor (VEGF) is expressed in epithelial cells and myocytes, but not vascular endothelium: implications for mode of action.
J Clin Endocrinol Metab **79**: 316-322.
- Shulman, N. R. und D. M. Reid (1994)
Platelet immunology.
In: Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice. R. W. Colman, J. Hirsh, V. J. Marder und E. W. Salzman (Hrsg.): Philadelphia, J.B. Lippincott Co.
- Shweiki, D., A. Itin, G. Neufeld, H. Gitay-Goren und E. Keshet (1993)
Patterns of expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in mice suggest a role in hormonally regulated angiogenesis.
J Clin Invest **91**: 2235-2243.
- Shweiki, D., A. Itin, D. Soffer und E. Keshet (1992)
Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis.
Nature **359**(6398): 843-845.
- Siemeister, G., K. Weindel, K. Mohrs, B. Barleon, G. Martiny-Baron und D. Marme (1996)
Reversion of deregulated expression of vascular endothelial growth factor in human renal carcinoma cells by von Hippel-Landau tumor suppressor protein.
Cancer Res **56**: 2299-2301.
- Silliman, C. C. (1999)
Transfusion-related acute lung injury.
Transfus Med Rev **13**: 177-186.
- Silliman, C. C., W. O. Dickey, A. J. Paterson, G. W. Thurman, K. L. Clay, C. A. Johnson und D. R. Ambruso (1996)
Analysis of the priming activity of lipids generated during routine storage of platelet concentrates.
Transfusion **36**: 133.
- Simmonds, P., F. Davidson, C. Lycett, L. E. Prescott und D. M. MacDonald (1998)
Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products.
Lancet **352**: 191-195.
- Sintnicolaas, K., M. van Marwijk Kooij, H. C. van Prooijen, B. A. van Dijk, W. L. J. van Putten, F. H. J. Claas, V. M. J. Novotny und A. Brand (1995)
Leukocyte depletion of random single-donor platelet transfusion does not prevent secondary human leukocyte antigen-alloimmunisation and refractoriness: a randomized prospective study.
Blood **85**: 824-828.
- Skipper, D., M. J. Jeffrey, A. J. Cooper, P. Alexander und I. Taylor (1989)
Enhanced growth of tumor cells in healing colonic anastomoses and laparotomy wounds.
Int J Colorectal Dis **4**: 172-177.

Skobe, M., P. Rockwell, N. Goldstein, S. Vosseler und N. E. Fusenig (1997)
Halting angiogenesis suppresses carcinoma cell invasion.
Nat Med **3**: 1222-1227.

Slichter, S. J. (2007)
Evidence-based platelet transfusion guidelines.
Hematology Am Soc Hematol Educ Program: 172-178.

Sloand, E., P. Kumar, H. G. Klein, S. Merritt und R. Sacher (1994)
Transfusion of blood components to persons infected with human immunodeficiency virus type 1: relationship to opportunistic infection.
Transfusion **34**: 48-53.

Smith, C. A. (1991)
Transfusion medicine: The challenge of practical use.
J Am Vet Med Assoc **198**: 747-752.

Smith, J. E., G. A. Andrews und C. E. Layton (1989)
Problems in animal transfusion: an area of growing interest. Arlington, AABB.

Smith, K. L., T. Cobain und R. A. Dunstan (1993)
Removal of cytomegalovirus DNA from donor blood by filtration.
Br J Haematol **83**: 640-642.

Smith, R. P., A. T. Evans, M. Popovsky, L. Millis und A. Spielman (1986)
Transfusion-acquired babesiosis and failure of antibiotic treatment.
J Am Med Assoc **256**: 2726-2727.

Sniecinski, I., M. R. O'Donnell, B. Nowicki und L. R. Hill (1988)
Prevention of refractoriness and HLA-alloimmunization using filtered blood products.
Blood **71**: 1402-1407.

Snyder, E. L. (1994)
Transfusion reactions: state-of-the-art 1994.
Vox Sang **67**(Suppl 3): 143-146.

Snyder, E. L. (1995)
The role of cytokines and adhesive molecules in febrile non-hemolytic transfusion reactions.
Immunol Invest **24**: 333-338.

Snyder, E. L. und R. Y. Dodd (2001)
Reducing the risk of blood transfusion.
Hematology: 433-442.

Snyder, E. L., S. L. Hedberg und P. A. Napychank (1993)
Stability of red cell antigens and plasma coagulation factors stored in a non-diethylhexyl phthalate-plasticized container.
Transfusion **33**: 515.

- Snyder, E. L. und G. Stack (1991)
 Febrile and nonimmune transfusion reactions.
 In: Principles of transfusion medicine. C. E. Rossi, T. L. Simon und G. S. Moss (Hrsg.):
 Baltimore, Williams & Wilkins: 641-643.
- Sowemimo-Coker, S. O., A. Kim, E. Tribble, H. J. Brandwein und B. Wenz (1998)
 White cell subsets in apheresis and filtered platelet concentrates.
Transfusion **38**: 650-657.
- Sprogoe-Jakobsen, U., A. M. Saetre und J. Georgsen (1995)
 Preparation of white-cell reduced red cells by filtration: comparison of a bedside filter and two
 blood bank filter systems
Transfusion **35**: 421-426.
- Sreelakshimi, T. R. und J. Eldridge (2009)
 Acute hypotension associated with leucocyte depletion filters during cell salvaged blood
 transfusion.
Anaesthesia **10**: 1365-1367.
- Stack, G., L. Baril und P. Napychank (1995)
 Cytokine generation in stored, white cell reduced, and bacterially contaminated units of red
 cells.
Transfusion **35**: 199-203.
- Stack, G. und E. L. Snyder (1994)
 Cytokine generation in stored platelet concentrates.
Transfusion **34**: 20-25.
- Stavri, G. T., I. C. Zachary, P. A. Baskerville, J. F. Martin und J. D. Erusalimsky (1995)
 Basic fibroblast growth factor upregulates the expression of vascular endothelial growth
 factor in vascular smooth muscle cells. Synergistic interaction with hypoxia.
Circulation **92**: 11-14.
- Stegemann, J. R., A. J. Birkenheuer und J. M. Kruger (2003)
 Transfusion-associated Babesia gibsoni infection in a dog.
J Am Vet Med Assoc **222**: 959-963.
- Steneker, I., H. K. Prins und M. Florie (1993)
 Mechanisms of white cell reduction in red cell concentrates by filtration: the effect of the
 cellular composition of the red cell concentrates.
Transfusion **33**: 42-50.
- Steneker, I., M. J. A. van Luyn und P. B. van Wachem (1992)
 Electron microscopic examination of white cell reduction by four white cell reduction filters.
Transfusion **32**: 450-457.
- Stephens, R. W., H. J. Nielsen, I. J. Christensen, O. Thorlacius-Ussing, S. Sorensen, K. Dano
 und N. Brunner (1999)
 Plasma urokinase receptor levels in patients with colorectal cancer: relationship to prognosis.
J Natl Cancer Inst **91**(10): 869-74.

Stephens, R. W., A. N. Pedersen, H. J. Nielsen, M. J. Hamers, G. Hoyer-Hansen, E. Ronne, E. Dybkjaer, K. Dano und N. Brunner (1997)
ELISA determination of soluble urokinase receptor in blood from healthy donors and cancer patients.
Clin Chem **43**(10): 1868-76.

Straubinger, R. K. (2000)
PCR-based quantification of *Borrelia burgdorferi* organisms in canine tissues over a 500-day postinfection period.
J Clin Microbiol **38**: 2191-2199.

Stuart, J. und G. B. Nash (1990)
Red cell deformability and hematological disorders.
Blood Rev **4**: 141-147.

Suzuki, K., M. Hayashi und Y. Miyamaoto (1996)
Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in human hepatocellular carcinoma.
Cancer Res **56**: 3004-3009.

Svendsen, M. N., J. Lykke, K. Werther, I. J. Christensen und H. J. Nielsen (2004)
Concentrations of VEGF and VEGFR1 in paired tumor arteries and veins in patients with rectal cancer.
Oncol Res **14**(11-12): 611-5.

Sweeney, J. D., S. Holme, R. R. Stromberg und W. A. L. Heaton (1995)
In vitro and in vivo effects of prestorage filtration of apheresis platelets.
Transfusion **35**: 125-130.

Swisher, S. N. und L. E. Young (1961)
The blood grouping of dogs.
Physiol Rev **41**: 495-520.

Swisher, S. N., L. E. Young und N. Trabold (1962)
In vitro and in vivo studies of the behavior of canine erythrocyte-isoantibody systems.
Ann N Y Acad Sci **97**: 15-25.

Taboada, J. und R. Lobetti (2006)
Babesiosis.
In: Infectious diseases of the dog and cat. C. E. Greene (Hrsg.): St.Louis, Missouri, Saunders Elsevier: 722-736.

Takahashi, T. A., K. Kwon, M. Yano, H. Abe und S. Sekiguchi (1994)
Photochemical inactivation of HTV-I-infected cells by merocyanine 540 and visible light.
Vox Sang **67**: 36.

Takeda, A., H. Shimada und H. Imaseki (2000)
Clinical significance of serum vascular endothelial growth factor in colorectal cancer patients.
Oncol Rep **7**: 333-338.

- Tan, H. P., S. J. Dumler und W. R. Maley (2001)
Human monocytic ehrlichiosis: an emerging pathogen in transplantation.
Transplantation **71**: 1678-1680.
- Tang, R., J. Y. Wang, C. R. Chang Chien, J. S. Chen, S. E. Lin und H. A. Fan (1993)
The association between perioperative blood transfusion and survival of patients with colorectal cancer.
Cancer **72**: 341-348.
- Tartter, P. I. (1988)
Blood transfusion and infectious complications following colorectal cancer surgery.
Br J Surg **75**: 789-792.
- Tartter, P. I. (1992)
The association of perioperative blood transfusion with colorectal cancer recurrence.
Ann Surg **216**(6): 633-638.
- Tartter, P. I., K. Mohandas, P. Azar, J. Endres, J. Kaplan und M. Spivack (1998)
Randomized trial comparing packed red cell transfusion with and without leukocyte depletion for gastrointestinal surgery.
Am J Surg **176**: 462-466.
- Tartter, P. I., S. Quintero und D. M. Barron (1986)
Perioperative blood transfusion associated with infectious complications after colorectal cancer operations.
Am J Surg **152**: 479-482.
- Tartter, P. I., B. Steinberg, D. M. Barron und G. Martinelli (1987)
The prognostic significance of natural killer cytotoxicity in patients with colorectal cancer.
Arch Surg **122**: 1264-1268.
- Tartter, P. I., B. Steinberg, D. M. Barron und G. Martinelli (1989)
Transfusion history, T cell subsets and natural killer cytotoxicity in patients with colorectal cancer.
Vox Sang **56**: 80-84.
- Taylor, C. G., W. P. Faulk und J. A. McIntyre (1985)
Prevention of recurrent spontaneous abortions by leucocyte transfusions.
J R Soc Med **78**: 623-627.
- Tempfer, C., A. Obermair und L. Hefler (1998)
Vascular endothelial growth factor serum concentrations in ovarian cancer.
Obstet Gynecol Oncol **92**: 360-363.
- Thompson, K. S., F. V. Plapp und N. D. Long (1992)
CMV infection in heart transplant recipients.
Transfusion **32**: 65.

- Tinmouth, A. und I. Chin-Lee (2001)
The clinical consequences of the red cell storage lesion.
Transfus Med Rev **15**: 91-107.
- Tischer, E., R. Mitchell, T. Hartman, M. Silva, D. Gospodarowicz, J. C. Fiddes und J. A. Abraham (1991)
The humane gene for vascular endothelial growth factor.
J Biol Chem **266**(18): 11947-11954.
- Tizard, I. R. (2006a)
Red cell antigens and type II hypersensitivity.
In: *Veterinary Immunology: An introduction*. I. R. Tizard (Hrsg.): Philadelphia, WB Saunders Co: 324-331.
- Tizard, I. R. (2006b)
Type I hypersensitivity.
In: *Veterinary Immunology: An introduction*. I. R. Tizard (Hrsg.): Philadelphia, WB Saunders Co: 308-323.
- Tocci, L. J. und P. J. Ewinh (2009)
Increasing patient safety in veterinary transfusion medicine: an overview of pretransfusion testing.
J Vet Emerg Crit Care **19**: 66-73.
- Toi, M., S. Hoshina und T. Takayanagi (1994)
Association of vascular endothelial growth factor expression with tumor angiogenesis and early relapse in primary breast cancer.
Jpn J Cancer Res **85**: 1045-1049.
- Tormey, C. A., J. D. Sweeny, M. H. Champion, P. T. Pisciotto, E. L. Snyder und Y. Y. Wu (2009)
Analysis of transfusion reactions associated with prestorage-pooled platelet components.
Transfusion **49**: 1242-1247.
- TRAP, Trial to Reduce Alloimmunisation to Platelets Study Group (1997)
Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusion.
New Engl J Med **337**: 1861-1869.
- Trindade, H., H. Carvalho, G. Sousa, J. A. Machado Caetano und J. Seghatchian (2003)
Filtration induces changes in activity states and leucocyte populations.
Transfusion and Apheresis Science **28**: 319-327.
- Triulzi, D. J., K. Vanek, D. H. Ryan und N. Blumberg (1992)
A clinical and immunologic study of blood transfusion and postoperative bacterial infection in spinal surgery.
Transfusion **32**: 517-524.

Troy, G. C., W. R. Huckle, J. H. Rossmeisl, D. Panciera, O. Lanz, J. L. Robertson und D. L. Ward (2006)

Endostatin and vascular endothelial growth factor concentrations in healthy dogs, dogs with selected neoplasia, and dogs with nonneoplastic diseases.

J Vet Intern Med **20**(1): 144-50.

Tsuchiya, R., H. Yagura, Y. Hachiya, T. Mochizuki, M. Furuichi, M. Hisasue, K. Kobayashi und T. Yamada (2003)

Aggregability and post-transfusion survival of canine platelets in stored whole blood.

J Vet Med Sci **65**(8): 825-9.

Turner, M. L. (1999)

The impact of a new variant Creutzfeldt-Jakob disease on blood transfusion practice.

Br J Haematol **106**: 842-850.

Turnwald, G. H. und M. E. Pichler (1985)

Blood transfusion in dogs and cats part II. Administration, adverse effects, and component therapy.

Compend Contin Educ Pract Vet **7**: 115-126.

Umemura, T., A. E. Yeo, A. Sottini, D. Moratto, Y. tanaka, R. Y. Wang, J. W. Shih, P. Donahue, D. Primi und H. J. Alter (2001)

SEN virus infection and its relationship to transfusion-associated hepatitis.

Hepatology **33**: 1303-1311.

Upile, T., W. Jerjes, A. Sandison, S. Singh, P. Rhys-Evans, H. Sudhoff und C. Hopper (2008)

The direct effects of stored blood products may worsen prognosis of cancer patients; shall we transfuse or not? An explanation of the adverse oncological consequences of blood product transfusion with a testable hypothesis driven experimental research protocol.

Med Hypotheses **71**(4): 489-492.

Vamvacas, E. C. (2002)

Possible mechanisms of allogenic blood transfusion-associated postoperative infection.

Transfus Med Rev **16**: 144-160.

Vamvacas, E. C. (2003)

WBC-containing allogeneic blood transfusion and mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials.

Transfusion **43**: 963-973.

Vamvacas, E. C. und M. A. Blajchman (2007)

Transfusion-related immunomodulation (TRIM): an update.

Blood Rev **21**: 327-348.

Vamvakas, E. C. (1995)

Perioperative blood transfusion and cancer recurrence: meta analysis for explanation.

Transfusion **35**: 760-768.

- Vamvakas, E. C. und J. H. Carven (1999)
Transfusion and postoperative pneumonia in coronary artery bypass graft surgery: effect of the length of storage of transfused red cells.
Transfusion **39**: 701-710.
- Vamvakas, E. C. und H. S. Kaplan (1993)
Early transfusion and length of survival in acquired immune deficiency syndrome: experience with a population receiving medical care at a public hospital.
Transfusion **33**: 111-118.
- Vamvakas, E. C. und S. B. Moore (1994)
Blood transfusion and postoperative septic complications.
Transfusion **34**: 714-727.
- Vamvakas, E. C., A. A. Pineda, R. Reisner, P. J. Santrach und S. B. Moore (1995)
The differentiation of delayed serologic transfusion reactions: incidence and predictors of hemolysis.
Transfusion **35**: 26-32.
- Vamvakas, E. C. und H. F. Taswell (1994)
Long-term survival after blood transfusion.
Transfusion **34**: 471-477.
- van de Watering, L. M., J. Hermans und J. G. Houbiers (1998)
Beneficial effects of leukocyte depletion of transfused blood on postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery: A randomized clinical trial.
Circulation **97**: 562-568.
- van der Linden, C. J., P. A. Buurman und J. M. Vegt (1982)
Effect of blood transfusions on canine renal allograft survival.
Transplantation: 400-402.
- van der Meer, P. F., R. N. I. Pietersz und J. T. Nelis (1999)
Six filters for the removal of white cells from red cell concentrates, evaluated at 4°C and /or room temperature.
Transfusion **39**: 265-270.
- van Marwijk Kooij, M., C. Hendrik, H. C. van Prooijen, M. Moes, I. Bosma-Stants und J.-W. N. Akkerman (1991)
Use of leukocyte-depleted platelet concentrates for the prevention of refractoriness and primary HLA autoimmunization : a prospective randomized trial.
Blood **77**: 201-205.
- van Prooijen, H. C., M. I. Aarts-Riemens, W. van Oostendorp, R. J. Hene, F. H. J. Gmelig-Meyling und R. A. de Weger (1995)
Prevention of donor-specific T-cell unresponsiveness after buffy-coat-depleted blood transfusion.
Br J Haematol **91**: 219-223.

van Twuyver, E., R. J. D. Mooijaart und I. J. M. den Berge (1991)
Pretransplantation blood transfusion revisited.
N Engl J Med **325**: 1210-1213.

Veikkola, T., M. Karkkainen, L. Claesson-Welsh und K. Alitalo (2000)
Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors.
Cancer Res **60**(2): 203-12.

Verheul, H. M., K. Hoekman, S. Luykx-de Bakker, C. A. Eekman, C. C. Folman, H. J. Broxterman und H. M. Pinedo (1997)
Platelet: transporter of vascular endothelial growth factor.
Clin Cancer Res **3**: 2187-2190.

Vermeulen, P. B., P. Salven, I. Benoy, G. Gasparini und L. Y. Dirix (1999)
Blood platelets and serum VEGF in cancer patients.
Br J Cancer **79**: 370-373.

Vervoordeldonk, S. F., K. Doumaid, E. B. M. Remmerswaal, I. J. M. ten Berge, J. M. Wilmink, L. P. de Waal und C. J. P. Boog (1998)
Long-term detection of microchimaerism in peripheral blood after pre-transplantation blood transfusion.
Br J Haematol **102**: 1004-1006.

Viglietto, G., D. Maglione, M. Rambaldi, J. Cerutti, A. Romano, F. Trapasso, M. Fedele, P. Ippolito, G. Chiappetta, G. Botti und M. G. Persico (1995)
Upregulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) and downregulation of placenta growth factor (PlGF) associated with malignancy in human thyroid tumors and cell lines.
Oncogene **11**: 1569-1579.

Vignali, A., M. Braga und L. Gianotti (1996)
A single unit of transfused allogenic blood increases postoperative infections.
Vox Sang **71**: 170-175.

Vincent, J. L., J. F. Baron, K. Reinhart, L. Gattinoni, L. Thijs, A. Webb, A. Meier-Hellmann, G. Nollet und D. Peres-Bota (2002)
Anemia and blood transfusion in critically ill patients.
J Am Med Assoc **288**: 1499-1507.

Wagner, S. J., L. I. Friedman und R. Y. Dodd (1994)
Transfusion associated sepsis.
Clin Microbiol Rev **7**: 290-302.

Wagner, S. J., G. Moroff, A. J. Katz und L. I. Friedman (1995)
Comparison of bacteria growth in single and pooled platelet concentrates after deliberate inoculation and storage.
Transfusion **35**: 298-302.

Wagner, T., A. Vetter, N. Dimovic, S. E. Guber, W. Helmberg, W. Kroll, G. Lanzer, W. R. Mayr und J. Neumuller (2002)

Ultrastructural changes and activation differences in platelet concentrates stored in plasma and additive solution.

Transfusion **42**(6): 719-27.

Walker, R. H. (1987)

Special report: Transfusion risks.

Am J Clin Pathol **88**: 374-388.

Walker, R. H. (1993)

Blood components: Preparation, storage and shipment.

Technical Manual of the American Association of Blood Banks. Arlington: 51-73.

Wardrop, K. J. (1995)

Selection of anticoagulant-preservatives for canine and feline blood storage.

Vet Clin North Am Small Anim Pract **25**(6): 1263-1276.

Wardrop, K. J. (2000)

Clinical blood typing and crossmatching.

In: Schalm's Veterinary Hematology. B. F. Feldman, J. G. Zinkl und N. C. Jain (Hrsg.): Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins: 795-798.

Wardrop, K. J., D. Lewis und S. Marks (1997a)

Post-transfusion purpura in a dog with hemophilia A.

J Vet Intern Med **11**: 261-263.

Wardrop, K. J., R. L. Tucker und K. Mugnai (1997b)

Evaluation of canine red blood cells stored in a saline, adenine, and glucose solution for 35 days.

J Vet Intern Med **11**(1): 5-8.

Wardrop, K. J., T. J. Owen und K. M. Meyers (1994)

Evaluation of an additive solution for preservation of canine red blood cells.

J Vet Intern Med **8**(4): 253-257.

Wardrop, K. J., N. Reine, A. Birkenheuer, A. Hale, A. Hohenhaus, C. Crawford und M. R. Lappin (2005)

Canine and feline blood donor screening for infectious disease.

J Vet Intern Med **19**: 135-142.

Wardrop, K. J., R. L. Tucker und E. P. Anderson (1998)

Use of an in vitro biotinylation technique for determination of posttransfusion viability of stored canine packed red blood cells.

Am J Vet Res **59**(4): 397-400.

Wartiovaara, U., P. Salven, H. Mikkola, R. Lassila, J. Kaukonen, V. Joukov, A. Orpana, A. Ristimäki, M. Heikinheimo, H. Joensuu, K. Alitalo und A. Palotie (1998)
Peripheral blood platelets express VEGF-C and VEGF which are released during platelet activation.

Thromb Haemost **80**(1): 171-175.

Waxman, M. (2009)

Update on emerging infections: news from the Centers for Disease Control and Prevention. Anaplasma phagocytophilum transmitted through blood transfusion - Minnesota 2007.

Ann Emerg Med **53**: 643-646.

Webb, N. J., M. J. Bottomley, C. J. Watson und P. E. Brenchley (1998)

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is released from platelets during blood clotting: implications for measurement of circulating VEGF levels in clinical disease.

Clin Sci (Lond) **94**(4): 395-404.

Wells, G. M., T. E. Woodward, P. Fiset und R. B. Hornick (1978)

Rocky Mountain spotted fever caused by blood transfusion.

J Am Med Assoc **239**(26): 2763-2765.

Weltermann, A., M. Wolzt, K. Pertersmann, C. Czerni, U. Graselli, K. Lechner und P. A. Kyrle (1999)

Large amounts of vascular endothelial growth factor at the site of hemostatic plug formation in vivo.

Thromb Vasc Biol **19**: 1757-1760.

Wenz, B., E. R. Burns und L. F. Freundlich (1992)

Prevention of growth of Yersinia enterocolitica in blood by polyester fiber filtration.

Transfusion **32**: 663-666.

Wergin, M. C., K. Ballmer-Hofer, M. Roos, R. E. Achermann, N. Inteworn, M. K. Akens, H. Blattmann und B. Kaser-Hotz (2004)

Preliminary study of plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) during low- and high-dose radiation therapy of dogs with spontaneous tumors.

Vet Radiol Ultrasound **45**(3): 1-8.

Wergin, M. C. und B. Kaser-Hotz (2004)

Plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) measured in seventy dogs with spontaneously occurring tumours.

Int J Vivo Res **18**(1): 15-19.

Wergin, M. C., M. Roos, N. Inteworn, D. Lalahova, K. Allemann und B. Kaser-Hotz (2006)

The influence of fractionated radiation therapy on plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) concentration in dogs with spontaneous tumors and its impact on outcome.

Radiother Oncol **79**(2): 239-44.

Werther, K., S. Bulow, P. Hesselfeldt, N. F. Jespersen, M. N. Svendsen und H. J. Nielsen (2002a)

VEGF concentrations in tumour arteries and veins from patients with rectal cancer.

Apmis **110**(9): 646-50.

- Werther, K., I. J. Christensen und H. J. Nielsen (2002b)
Prognostic impact of matched preoperative plasma and serum VEGF in patients with primary colorectal carcinoma.
Br J Cancer **86**(3): 417-23.
- Werther, K., I. J. Christensen, N. Brunner und H. J. Nielsen (2000)
Soluble vascular endothelial growth factor levels in patients with primary colorectal carcinoma.
Eur J Surg Oncol **26**(7): 657-662.
- Werther, K., I. J. Christensen und H. J. Nielsen (2001)
The association between preoperative concentration of soluble vascular endothelial growth factor, perioperative blood transfusion, and survival in patients with primary colorectal cancer
Eur J Surg **167**(4): 287-292.
- Wheatley, T. und P. S. Veitch (1997)
Effect of blood transfusion on postoperative immunocompetence.
Br J Anaesth **78**: 489-492.
- Whitsett, C. F. (1995)
The role of hematopoietic growth factors in transfusion medicine.
Hematology/Oncology Clin North Am **9**(1): 23-68.
- Widman, F. K. (1991).
Standards of blood banks and transfusion services.
Arlington, American Association of Blood Banks.
- Widman, F. K. (1993)
Too much pretransfusion testing?
Transfusion **33**(3): 186-188.
- Wieding, J. U., P. Hellstern und M. Köhler (1993)
Inactivation of viruses in fresh-frozen plasma.
Ann Hematol **67**: 259.
- Williams, A. E. und M. T. Sullivan (1995)
Transfusion-transmitted retrovirus infection.
Hematology/Oncology Clin North Am **9**(1): 115-133.
- Williams, J. G. und L. E. Hughes (1989)
Effect of perioperative blood transfusion on recurrence of Crohn's disease.
Lancet **2**: 131.
- Williamson, L. M. (2000)
Leucocyte depletion of the blood supply - how will patients benefit?
B J Haematol **110**: 256-272.

Williamson, L. M., S. Lowe, E. Love, H. Cohen, D. B. M. McClelland, P. Skacel und J. A. J. Barbara (1999)
Serious hazards of transfusion (SHOT) initiative: analysis of the first two annual reports.
Br Med J **319**: 16-19.

Williamson, L. M. und R. M. Warwick (1995)
Transfusion-associated graft-versus-host disease and its prevention.
Blood Rev **9**: 251-261.

Williamson, L. M., J. Z. Wimperis, P. Williamson, J. A. Coplestone, H. C. Gooi, G. R. Morgenstern und D. R. Norfolk (1994)
Bedside filtration of blood products in the prevention of HLA alloimmunization - a prospective randomised study.
Blood **83**: 3028-3035.

Willis, J. I., J. A. G. Lown, M. C. Simpson und W. N. Erber (1998)
White cells in fresh-frozen plasma: evaluation of a new white cell-reduction filter.
Transfusion **38**: 645-649.

Win, N., S. Sinha, E. Lee und W. Mills (2010)
Treatment with intravenous immunoglobulin and steroids may correct severe anemia in hyperhemolytic transfusion reactions: case report and literature view.
Transfusion Med Rev **24**: 64-67.

Wobbes, T., B. L. H. Bemelmans, J. H. C. Kuypers, G. I. J. M. Beerthuisen und A. G. M. Theeuwes (1990)
Risk of postoperative septic complications after abdominal surgical treatment in relation to perioperative blood transfusion.
Surg Gynecol Obstet **171**: 59-62.

Wobbes, T., K. H. G. Joosen, J. H. C. Kuypers, G. I. J. M. Beerthuisen und A. G. M. Theeuwes (1989)
The effect of packed cells and whole blood transfusions on survival after curative resection for colorectal carcinoma.
Dis Colon Rectum **32**: 743-748.

Wolfe, L. C. (1985)
The membrane and the lesion of storage in preserved red cells.
Transfusion **25**: 185-203.

Wu, Y., L. Saldana, R. Chillar und J. V. Vadgama (2002)
Plasma vascular endothelial growth factor is useful in assessing progression of breast cancer post surgery and during adjuvant treatment.
Int J Oncol **20**: 509-516.

Wu, Y., S. Zou, R. Cable, K. Dorsey, Y. Tang, C. A. Hapip, R. Melmed, J. Trouern-Trend, J. H. Wang, M. Champion, C. Fang und R. Dodd (2010)
Direct assessment of cytomegalovirus transfusion-transmitted risks after universal leukoreduction.
Transfusion **50**: 776-786.

Wynendaele, W., R. Derua, M. F. Hoylaerts, A. Pawinski, E. Waelkens, E. A. de Bruijn, R. Paridaens, W. Merlevede und A. T. van Oosterom (1999)

Vascular endothelial growth factor measured in platelet poor plasma allows optimal separation between cancer patients and volunteers: a key to study an angiogenic marker in vivo?

Ann Oncol **10**(8): 965-71.

Yamamoto, S., I. Konishi und Y. Tsuruta (1997)

Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) during folliculogenesis and corpus luteum formation in the human ovary.

Gynecol Endocrinol **11**: 371-381.

Yamamoto, Y., M. Toi und S. Kondo (1996)

Concentrations of vascular endothelial growth factor in the sera of normal controls and cancer patients.

Clin Cancer Res **2**: 821-826.

Yamane, A., L. Seetharam und S. Yamaguchi (1994)

A new communication system between hepatocytes and sinusoidal endothelial cells in liver through vascular endothelial growth factor and Flt tyrosine kinase receptor family (Flt-1 and KDR/Flk-1).

Oncogene **9**: 2683-2690.

Yhap, E. O., C. B. Wright, N. A. Popovic und E. C. Alix (1975)

Decreased oxygen uptake with stored blood in the isolated hindlimb.

J Appl Physiol **38**(5): 882-5.

Yomtovian, R., H. M. Lazarus, L. T. Goodnough, N. V. Hirschler, A. M. Morrissey und M. R. Jacobs (1993)

A prospective microbiologic surveillance program to detect and prevent the transfusion of bacterially contaminated platelets.

Transfusion **33**: 902-909.

Yoshikawa, T., A. Tsuburaya und O. Kobayashi (2000)

Plasma concentrations of VEGF and bFGF in patients with gastric carcinoma.

Cancer Lett **153**: 7-12.

Young, L. E., D. M. Ervin und C. L. Yuile (1949)

Hemolytic reactions produced in dogs by transfusion of incompatible dog blood and plasma.

Blood **4**: 1218-1231.

Young, L. E., W. A. O'Brien, G. Miller, S. N. Swisher, D. M. Ervin, R. M. Christian und C. L. Yuile (1951)

Erythrocyte isoantibody reactions in dogs.

Trans N Y Acad Sci Ser **13**: 209-211.

Young, L. E., W. A. O'Brien, S. N. Swisher, G. Miller und C. L. Yuile (1952)

Blood groups in dogs - their significance to the veterinarian.

Am J Vet Res **13**: 207-213.

Yuile, C. L., T. F. van Zandt, D. M. Ervin und L. E. Young (1949)
Hemolytic reactions produced in dogs by transfusion of incompatible dog blood and plasma.
II. Renal aspects following whole blood transfusions
Blood **4**: 1232-1239.

Zachary, I. (1998)
Vascular endothelial growth factor.
Int J Biochem Cell Biol **30**: 1169-1174.

Zacher, S., A. Becker und I. Hintner (1998)
Hat eine Operation im Kopf-Hals-Bereich einen Einfluß auf die VEGF-Konzentration im Serum?
Strahlenther Onkol **174**: 108.

Zallen, G., P. J. Offner, E. E. Moore, J. Blackwell, D. J. Ciesla und J. Gabriel (1999)
Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure.
Am J Surg **178**: 570-572.

Zhong, H., A. M. De Marzo, E. Laughner, M. Lim, D. A. Hilton, D. Zagzag, P. Buechler, W. B. Isaacs, G. L. Semenza und J. W. Simons (1999)
Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases.
Cancer Res **59**(22): 5830-5.

Zhuravskaya, T., J. P. Maciejewski, D. M. Netski, E. Bruening, F. R. Mackintosh und S. St Jeor (1997)
Spread of human cytomegalovirus (HCMV) after infection of human hematopoietic progenitor cells. Model of HCMV latency.
Blood **90**: 2482-2491.

Zimrin, A. B. und J. R. Hess (2008)
Current issues relating to the transfusion of stored red blood cells.
Vox Sang **96**: 93-103.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die zu dem Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt:

Frau Professor Dr. Kohn für die Überlassung des Themas, die gute Betreuung, die wertvollen Literaturhinweise und die schnelle und sorgfältige Korrektur.

Herrn Professor Dr. Brunnberg für die Unterstützung während der gesamten Zeit.

Frau Professor Dr. Plendl für die freundlichen Literaturhinweise.

Herrn Professor Dr. Schweigert für die Möglichkeit, den ELISA an seinem Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Potsdam durchführen zu können.

Frau Pilz für die essentielle Hilfe bei der Durchführung des ELISA sowie ihre freundliche Unterstützung.

Allen Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik, die mich auf unterschiedlichste Weise unterstützt haben.

Alex Tischer, die mir beim Formatieren half.

Meinen Freunden und in erster Linie meiner Familie ohne deren Hilfe, Vertrauen und Motivation diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, die vorliegende Dissertation selbständig angefertigt zu haben. Ich versichere, dass ich nur die angegebenen Hilfen und Quellen in Anspruch genommen habe.

Berlin den 28.05.2010

Christine Graf