

4 Diskussion

4.1 Audits und Akkreditierung bis 2003, Transfusionsgesetz (TG), Qualitätsmanagement (QM)

Die Verfügbarkeit von Blut- und Plasmaderivaten zur Anwendung am Menschen stellt einen entscheidenden Beitrag zur Entwicklung der modernen Medizin dar. Die Bundesärztekammer hat 1958 die ersten kurzen "Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung als vorbeugende Maßnahme" veröffentlicht. Das Ziel war, die methodische Zuverlässigkeit der Blutgruppenbestimmung in verschiedenen Laboratorien zu gewährleisten. 1961 wurden die ersten Richtlinien für Bluttransfusionen vom damaligen Bundesgesundheitsamt (BGA) und der Deutschen Gesellschaft für Bluttransfusionen herausgegeben. In den damaligen Richtlinien wurden erstmals verbindliche Kriterien für die Eignung von Blutspendern formuliert und Ausschlusskriterien aufgeführt. Jeder Dauerspender musste sich damit einverstanden erklären, dass das zuständige Gesundheitsamt Auskünfte über seine Person betreffend den Eintragungen in der Tuberkulose-, Geschlechtskrankheiten-, Salmonellen-Dauerausscheiderkartei erteilte. Neben den Blutgruppenuntersuchungen wurde ein Antikörpersuchtest als Möglichkeit erwähnt und die Kreuzprobe sollte nach der wissenschaftlich anerkannten Methode durchgeführt werden. Für die Herstellung von Blutkonserven wurde ein geschlossenes Einmalsystem nach DIN-Norm gefordert. Die Herstellungsregeln der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie e.V. (DGTI), sowie andere Richtlinien und Kommentare, wurden von 1963 bis 1973 als lose Blattsammlung herausgegeben. Die Bundesärztekammer hat 1965 eine neue Fassung "nur für die Bestimmung von Blutformeln und die Blutgruppenantikörper bei Patienten, Graviden und zur Prophylaxe" veröffentlicht. Für die entsprechenden Untersuchungen bei Blutspendern wurde darin auf die Richtlinien des BGA verwiesen. Im Jahre 1968 erschienen die neuen Richtlinien mit Informationen zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion, die von der Bundesärztekammer in Zusammenarbeit mit dem Bundesminister für Gesundheit und anderen Institutionen und Organisationen verfasst wurden. Eine Neufassung wurde 1980 erforderlich und in den folgenden Jahren erschienen regelmäßig weitere Neufassungen der Hämotherapie-Richtlinien, in denen zunehmende Präzision methodischer Angaben unter Berücksichtigung gesamteuropäischer Regelungen und Standardwerke dargelegt wurde (Deicher 2004).

Im Jahr 1992 erschien die von der Bundesärztekammer und vom Bundesgesundheitsamt herausgegebene erste gesamtdeutsche Ausgabe der Hämotherapie-Richtlinien (Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer und Bundesgesundheitsamt 1992), in denen eine verbindliche Klassifizierung von transfusionsmedizinischen Einrichtungen eingeführt wurde, für deren Leitung der verantwortliche Arzt eine entsprechende Qualifizierung besitzen musste.

Seit 1996 sind die Bundesärztekammer und das Paul-Ehrlich-Institut für die Hämotherapie Richtlinien verantwortlich (Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer und des Paul-Ehrlich-Institutes, 1996, 2000, 2003). Um eine möglichst einheitliche Qualität der Versorgung mit Blutprodukten zu sichern, mussten alle Einrichtungen der Krankenversorgung einen Transfusionsverantwortlichen, jede transfusionsmedizinisch tätige Krankenhausabteilung einen Transfusionsbeauftragten benennen und es wurde eine Transfusionskommission vorgeschrieben. Alle Verfahren und Methoden wurden überarbeitet und der erste Hinweis auf ein Qualitätsmanagementsystem kam dazu.

Das Transfusionsgesetz (TFG) wurde 1998 erlassen, dessen Zweck es ist: "Für eine sichere Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und für eine gesicherte und sichere Versorgung der Bevölkerung mit Blutprodukten zu sorgen" (Transfusionsgesetz 1998). Somit wurde die Einrichtung der Qualitätssicherung eingeführt.

Das TFG und das AMG (Arzneimittelgesetz 1994, 1998) geben im Grunde nur ein Gerüst für die Qualitätssicherung. Dagegen gibt CAP für alle Abläufe definierte Ausführungsbestimmungen vor. Aus diesem Grund hat CAP einen internationalen Chefinspektor eingesetzt, der die regionalen Unterschiede erfasst, gewichtet und Lösungsvorschläge erarbeitet (Peters 1997). Dies zeigte sich z.B. bei der Forderung nach einem patientenbezogenen Identifikationsarmband, nach einem HTLV-I / II-Test und nach unterschriebenen Probenbehältern. Diese Flexibilität ist von der AABB (American Association of Blood Banks) nicht gewährleistet, da diese Institution als amerikanische Einrichtung die Einhaltung amerikanischer Gesetze und Regelwerke fordert (US Department of Health and Human Services 1988). Aus diesem Grund ließ sich eine AABB-Akkreditierung des ITM der Charité nicht realisieren, da die amerikanischen Gesetze in Deutschland nicht gelten. Die Frage ob, eine Akkreditierung nach Einführung des Transfusionsgesetzes in Deutschland sinnvoll ist, muss aus folgenden Gründen bejaht werden:

1. Es findet eine lückenlose Erfassung und Dokumentation von Fehlern in den sogenannten Trouble-Büchern statt. Von einem Troublezirkel werden Fehler aufgespürt und analysiert. Zur Vermeidung von Wiederholungsfehlern werden Strategien etabliert und umgehend umgesetzt. Hierbei wird nicht der Verursacher des Fehlers gesucht und „bestraft“, sondern es wird eine Strategie zur Vermeidung solcher Fehler am Arbeitsplatz direkt dargestellt, diskutiert und durch modifizierte Arbeitsweise realisiert. Somit sind die notwendigen Voraussetzungen geschaffen, dass Fehler, die üblicherweise verheimlicht werden, statt dessen offengelegt und beseitigt werden.
2. Während das TG einschließlich der lokalen Regelwerke auf die Funktionalität des pharmazeutischen Unternehmers fokussiert ist, schließt die Akkreditierung auch sämtliche Dienstleistungen am Patienten mit ein. Alle Prozesse, von der Blutentnahme bis zur Bluttransfusion, werden akribisch überwacht.
3. Nur mit einer internationalen Akkreditierung lassen sich internationale Studien oder Geschäfte realisieren, z.B. zahlen amerikanische Krankenkassen nur Leistungen akkreditierter Institutionen, erkennt die pharmazeutische Industrie nur Analysen an, die in akkreditierten Laboratorien erbracht werden.
4. Mit der Akkreditierung werden regelmäßig aktuelle wissenschaftliche und internationale Standards erworben.
5. Die Akkreditierung gewährleistet kontinuierlich die Sicherheit der praktischen Labordiagnostik.
6. Jährliche Inspektionen, davon alle 2 Jahre Fremdinspektionen (Audits), garantieren eine effektive Kontrolle und eine kontinuierliche Aktualisierung aller Abläufe.
7. Die Akkreditierung ist kostensparend, da die Abläufe standardisiert sind und Fehler vermieden werden.

Allein an der Darstellung der Verantwortlichkeiten des Direktors wird deutlich, dass mit diesem QM eine absolute Transparenz bei den Verantwortlichkeiten und Arbeitsabläufen in einem Institut geschaffen wird. Es werden Nahtstellen deutlich, bei denen es zu Fehlern kommen kann. Außerdem wird erkennbar, dass die Dokumentation von Ereignissen nicht dazu dient, um Mitarbeitern Fehler nachzuweisen, sondern um die Ursachen für das Auftreten von Fehlern zu erkennen und deren künftige Vermeidung zu bewirken. Durch das von CAP vertretene Prinzip der Transfusionsmedizin „von der Nadel bis zur Nadel“ alle Prozesse qualitätssichernd nach dem aktuellen Stand der Wissenschaft zu begleiten, werden hier die Prinzipien des TQM (Berte 1997) realisiert.

Eine wichtige Besonderheit der Akkreditierung ist die Überwachung durch spezialisierte Inspektoren (PEER-Review). Die Inspektionen werden generell von Fachleuten durchgeführt, die in vergleichbaren Einrichtungen in vergleichbaren Positionen tätig sind. Dadurch ist ein hervorragender Erfahrungsaustausch unter Gleichen gewährleistet, der von hoher psychologischer Bedeutung ist und unmittelbar zu Qualitätsverbesserungen führen kann.

Dies beruht vor allem auf der durch die jahrzehntelange praktische Erfahrung erworbene Kompetenz und die ständige Aktualisierung bzw. Anpassung der transfusionsmedizinischen und der labormedizinischen Abläufe durch einen Zirkel von internationalen Fachleuten im CAP-System (College of American Pathologists 1993). Somit entsprechen die CAP-Regeln weitgehend der Kommentierung von Gesetzestexten und Regelwerken, vor allem der amerikanischen Gesetze.

4.2 Blutkomponenten

4.2.1 Leukozytendepletion von Erythrozytenkonzentraten

Der optimale Zeitpunkt zur Filtration von Blutkonserven ist bisher nicht eindeutig definiert. Eine Phagozytose und Elimination von kontaminierenden Bakterien durch die in der Konserve enthaltenen Leukozyten ist sicher wünschenswert. Allerdings konnte bisher nicht gezeigt werden, dass unter normalen Herstellungs- und Lagerungsbedingungen eine Lagerung vor Filtration für die Phagozytose relevant ist. Aus logistischen Gründen und zur Vermeidung einer Akkumulation von Zytokinen und leukozytären Zerfallsprodukten ist eine frühzeitige Filtration vorzuziehen.

In unserer Einrichtung bestand vor der Akkreditierung eine nahezu zweijährigen Erfahrung mit der frühzeitigen Vollblutfiltration innerhalb von 60 Minuten nach Herstellung. Die hier präsentierten Ergebnisse der Sterilitätsprüfung im Rahmen der Qualitätskontrolle ergaben

keinerlei Hinweis auf ein erhöhtes Risiko für eine bakterielle Kontamination durch die frühzeitige Leukozytendepletion. Diese Ergebnisse stehen auch im Einklang mit der Beobachtung, dass die Einführung von Thrombozytaphereseverfahren, bei denen die Thrombozytapheresekonzentrate bereits leukozytendepletiert hergestellt werden, zu keiner Häufung von bakteriell kontaminierten Produkten geführt hat (Buchholz 1994, Dzik 1995). Wie diese Untersuchung weiterhin zeigt, ist eine effiziente Filtration mit dem Vollblutfilter WBF-1 (Pall SLS GmbH, Dreieich) frühzeitig nach Herstellung möglich. Bereits bei Filtration unmittelbar nach Herstellung weisen die Vollblutkonserven eine Leukozytenkontamination unter 5×10^6 /Produkte auf. Allerdings fand sich bei diesen Vollblutkonserven eine erhöhte Streuung bei der Filtrationseffizienz: Vier der 50 unmittelbar nach Herstellung gefilterten Vollblutkonserven wiesen eine Leukozytenkontamination über 1×10^6 /Produkte auf, hingegen keine der 150 zu einem späteren Zeitpunkt gefilterten. Ursache dafür ist sicher die Veränderung der Adhäsionseigenschaften der Leukozyten in der frühen Phase nach Blutentnahme in Verbindung mit den physikalischen Filtereigenschaften. Da bereits optimale Ergebnisse nach 30 Minuten zu erzielen waren, ist eine gering zeitlich verzögerte Filtration der sofortigen Filtration vorzuziehen. Die Filtrationsdauer betrug im Mittel unabhängig vom Filtrationszeitpunkt etwa zehn Minuten und war damit erfreulich kurz. Der gesamte Herstellungsprozess wurde durch die Filtration somit nur unwesentlich verlängert.

Zusammenfassend zeigen unsere Erfahrungen, dass eine frühzeitige Vollblutfiltration ohne ein erhöhtes Risiko für eine bakterielle Kontamination möglich ist. Aufgrund der Charakteristika des Vollblutfilters WBF-1 (Pall SLS GmbH) sollte vor der Filtration eine Wartezeit von 30 Minuten eingehalten werden.

4.2.2 Bestrahlte und unbestrahlte Erythrozytenkonzentrate

Zur Vermeidung einer t-GvHD ist die Bestrahlung von Blutkomponenten vor deren Transfusion bei Knochenmarktransplantation, beim schweren Immundefektsyndrom, sowie intrauterinen Transfusionen, Hochdosis-Chemotherapie bei Leukämien, malignen Lymphomen und soliden Tumoren, bei Frühgeborenen (weniger als 37 Schwangerschaftswochen), sowie bei gerichteten Spenden von Blutsverwandten notwendig (Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer und Paul-Ehrlich-Institut, 1996, 2000, 2003). Die 24-Stunden-Überlebenszeit von am Tage der Herstellung bestrahlten (25 Gy) und unbestrahlten Erythrozyten betrug nach 28 Tagen gelagerten EK in Adsol 79 ± 6 % bzw. 84 ± 5 % und bei bestrahlten (30 Gy) und unbestrahlten EK nach 25 tägiger Lagerung 78 ± 7 % bzw. 82 ± 4 % (Mintz 1993, Moroff 1994).

Der Zeitpunkt der Bestrahlung scheint ebenfalls nur einen geringen Einfluss auf die 24-Stunden-Überlebenszeit zu haben. Die Bestrahlung von 14 Tage gelagerten EK mit einer Dosis von 30 Gy und einer anschließenden Lagerung von 21 Tagen führte zu identischen Ergebnissen (Moroff 1994): Von den bestrahlten wurden 79 ± 3 % der Erythrozyten wiedergefunden; von den unbestrahlten nach 35 Tagen Lagerung waren es 82 ± 4 %. Die klinische Relevanz dieser geringfügigen Unterschiede bei der 24-Stunden-Überlebenszeit bestrahlter und unbestrahlter EK von maximal 5 % scheint nicht gegeben zu sein.

Diesem in-vivo Verhalten bestrahlter Erythrozyten entsprechen die Veränderungen der metabolischen Parameter bestrahlter und unbestrahlter Erythrozyten. Übereinstimmend wird immer wieder festgestellt, dass die Lagerung der EK einen ungleich größeren Einfluss auf den Metabolismus und die Sauerstofftransportkapazität der Erythrozyten hat, als die Bestrahlung der Erythrozyten mit einer Dosis von 30 Gy (Busch 1993, Rosen 1993, Moroff 1994, Pelszynski 1994). Aus eigenen Untersuchungen (Bäumler & Latza 1999) geht ebenfalls hervor, dass die Bestrahlung keinen signifikanten Einfluss auf die Nukleotide ATP und 2,3-DPG, sowie die Glykolyse der Erythrozyten hat. Dabei konnte außerdem festgestellt werden, dass der Abfall des 2,3-DPG und der Glukoseverbrauch unabhängig von der Leukozytendepletion und dem Lagerungsmedium war. Allerdings wurde im Verlauf der Lagerung ein deutlich geringerer Abfall der 2,3-DPG-Konzentration in den mittels Apherese hergestellten EK festgestellt. Weitere Untersuchungen zur Dosisabhängigkeit des Nukleotidabbaus während der Lagerung von bestrahlten Erythrozyten in SAG-M zeigten bei einer Bestrahlung von 15 - 30 Gy ebenfalls keine signifikanten Unterschiede (Ziegler 1997).

Elektrolyte und pH

Der erhöhte K^+ - Ausstrom bestrahlter Erythrozyten korreliert mit dem Kaliumanstieg im Überstand während der Lagerung (Bäumler 1997). Dieser K^+ "leak" wird über ein Transportermolekül vermittelt und erfolgt nicht passiv, wie bisher angenommen wurde (Richter 1997). Energiedosen im Bereich von 15 bis 30 Gy führten wiederum zu einem vergleichbaren Anstieg (Ziegler 1997). Der erhöhte K^+ - Ausstrom bestrahlter Erythrozyten wird durch die Lagerungsmedien (SAG-M, PAGGS-M und Adsol) nicht bedeutsam beeinflusst.

Die erhöhte K^+ Konzentration in den bestrahlten EK im Vergleich zu den unbestrahlten EK ist die einzige kritische Größe unter dem Aspekt der Qualität bestrahlter EK und der vertretbaren Lagerungsdauer bestrahlter EK. Die klinische Auswirkung der erhöhten Kaliumkonzentration in bestrahlten EK nach der Transfusion ist bisher nicht bewiesen (Brugnara 1992). Bei Erwärmung des EK vor der Transfusion auf 37°C wird die Na^+/K^+ Pumpe aktiviert, so dass ein verstärkter Kaliumein- und Natriumausstrom erfolgt. Ausgehend von den eigenen und aus der Literatur (Brugnara 1992, Samuel 1997) bekannten Daten, lässt sich außerdem folgende Abschätzung vornehmen: Bei 28 Tage gelagerten bestrahlten EK erreicht die K^+ -Konzentration Werte von maximal 40 mmol/l. Werden einem normalgewichtigen Erwachsenen (70 kg Körpermasse) mit einem mittleren Blutvolumen von ca. 5 l und einem Hämatokrit von 0.30 (Plasmavolumen 3,5 l) 4 EK zur Erreichung eines Hämatokrits von 0.4 transfundiert, steigt die K^+ Konzentration im Plasma theoretisch auf ca. 5 mmol/l an. Wird jedoch berücksichtigt, dass ein extrazelluläres Volumen von 15 % der Körpermasse, d.h. 10,5 l für den Konzentrationsausgleich zur Verfügung steht, reduziert sich die K^+ Konzentration auf ca. 2 mmol/l. Es besteht demnach keinerlei Veranlassung anzunehmen, dass die Transfusion einer begrenzten Zahl vorgewärmter EK zu einer Hyperkalämie beim Erwachsenen führen würde. Außerdem findet ein Rückstrom von K^+ in die Erythrozyten statt.

Hämolyserate

Die Erhöhung der Hämolyserate in den bestrahlten EK, die jedoch bis zum 28. Lagerungstag deutlich unter dem erlaubten Grenzwert für unbestrahlte EK am Ende der Haltbarkeitsdauer lag, war für jedes untersuchte Lagerungsmedium nachweisbar. Der Mechanismus, der zur Hämolyse führt, ist bisher nicht geklärt. Aus den eigenen Untersuchungen folgt jedoch, dass das Lagerungsmedium keinen bedeutsamen Einfluss auf den Anstieg der Hämolyserate während der Lagerung der bestrahlten EK hat. Der protektive Effekt von Mannitol (Beutler 1988) beruht nicht auf der Prävention des osmotisch bedingten Anschwellens der Erythrozyten, denn der Anstieg der Hämolyserate in Abhängigkeit vom MCV war für alle untersuchten Lagerungsmedien vergleichbar.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass unter Berücksichtigung aller bestimmten in-vitro Parameter die Bestrahlung der untersuchten EK in den Lagerungsmedien SAG-M, PAGGS-M und Adsol keine Erhöhung der Hämolyserate im Vergleich zu den unbestrahlten EK bis zum 28. Lagerungstag bewirkt.

Interleukin-1 Rezeptor Antagonist (IL-1RA)

Es wird angenommen, dass Bluttransfusionen beim Empfänger eine Immunmodulation, bzw. eine Immunsuppression hervorrufen können (Heal 1988, Hébert 1999, Triulzi 1990, Murphy 1991, 1992, Agarwal 1993). Außerdem wurde ein verstärktes Tumorwachstum bzw. das Wiederauftreten von Tumoren in klinischen (Heal 1988) und experimentellen (Shirwadkar 1992, Blajchman 1993, Bordin 1994) Studien nachgewiesen.

Der Mechanismus der transfusionsbedingten Immunsuppression ist bis jetzt noch nicht völlig verstanden worden. Verschiedene Gruppen berichteten über eine reduzierte Funktion der natürlichen Killerzellen, eine verminderte CD4⁺ T-Zellen Zahl und ein vermindertes T-Helfer/T-Suppressor Lymphozytenverhältnis nach der Transfusion von Blutprodukten, die nicht Leukozyten depletiert waren (Kaplan 1984, Heiss 1997, Mathiesen 1998). *In vitro* Studien zeigten, dass immunhemmende lösliche Faktoren, die in gelagertem Blut (Vliet 1989) und im Plasma von Patienten nach multiplen Bluttransfusionen (Shenton 1979) nachgewiesen wurden, zu diesen Effekten beitragen könnten. Neuere Daten zeigen, dass die negative Wirkung der Blutprodukte auf die Immunkompetenz mit der Lagerungsdauer zunimmt (Mynster 1998, Vamvakas 1999) und durch eine vor der Lagerung durchgeführte Leukozytendepletion mit effizienten Filtern reduziert werden kann (Jensen 1996, Mathiesen 1998, Bordin 1999). Eine Leukozytendepletion nach der Lagerung hat keinen Effekt (Bordin 1999).

In einer Studie des Institutes für Transfusionsmedizin wurden Buffy coat-arme und leukozytendepletierte EK untersucht, um festzustellen, ob die von Spenderleukozyten stammenden Zytokine im EK-Überstand transfusionsbedingte immunologische Veränderungen bewirken (Büttnerova 2000). Es wurde eine starke lagerungszeitabhängige Zunahme der IL-1RA Konzentration in Buffy coat-armen EK, aber nicht in Leukozyten depletierten EK's beobachtet. Die beobachtete IL-1RA Konzentration im Überstand der Buffy coat-armen EK's war nach einer 7 wöchigen Lagerung fünfmal höher ($16,327 \pm 2,686$ pg/ml) als die Normalwerte im Plasma gesunder Probanden (Mittelwert: 303 pg/ml; Quantikine™ IL-1RA, DPC Biermann). Alle Daten waren in Übereinstimmung mit Literaturdaten (Davay 1989, Greenwalt 1990, Högman 1991, Bäumlner 1997, 1999). Die Zahl der Leukozyten betrug vor der Lagerung $3780 \pm 0.55 \times 10^6$ /Produkt in den Buffy coat-armen EK's und $0.24 \pm 0.048 \times 10^6$ /Produkt in den in-line gefilterten EK's. Wegen seiner ausgeprägten antiinflammatorischen und immunsuppressiven Aktivität könnte IL-1RA an der transfusionsbedingten Immundepression beteiligt sein (Conti 1991, 1992, Granowitz 1992, Arend 1998).

IL-1RA gehört zu der Interleukin-1 (IL-1) Familie. Es ist der einzige natürlich vorkommende Zytokin-Antagonist, der durch eine kompetitive Bindung an den IL-1-Rezeptor die Bindung von IL-1 alpha und -beta blockiert und in seiner sezernierten Form das Überschießen einer Entzündungsreaktion regulieren soll (Arend 1998). Zusätzlich zu der löslichen Form des IL-1RA (sIL-1RA), gibt es noch zwei intrazelluläre Formen, icIL-1RAI und icIL-1RAII, die in Monozyten und Neutrophilen gefunden wurden (Malyak 1998). Alle Formen des IL-1RA binden an beide IL-1 Rezeptoren (Typ I, Typ II), wobei icIL-1RAII eine geringere Affinität besitzt, und dadurch auch eine geringere biologische Wirksamkeit. Die aktuell vorhandenen ELISAs können nicht zwischen den verschiedenen Isoformen von IL-1RA unterscheiden.

Passend zu dem pleiotropen Effekt von IL-1 zeigt ein hoher IL-1RA Spiegel eine Hemmung von sowohl der spezifischen als auch der angeborenen Entzündungsantwort. IL-1RA reduziert die proliferative Antwort von stimulierten T-Zellen durch Mitogene (Conti 1991, 1992) und die Zytokinfreisetzung von stimulierten Zellen durch Endotoxin (Granowitz 1992). Eine klinische Bedeutung von IL-1RA konnte bei der rheumatoiden Arthritis und der Graft-versus-host Krankheit gezeigt werden (Arend 1998). Ausgehend von diesen Erkenntnissen der immundepressiven Wirkung von IL-1RA kann man annehmen, dass die ansteigenden Mengen von IL-1RA in den Überständen von nicht gefilterten Blutprodukten zum immunsuppressiven Effekt von Bluttransfusionen beitragen.

In der Untersuchung konnte durch die Bestimmung der Gesamtmenge an IL-1RA durch Zell-Lyse gezeigt werden, dass die Maximalmenge an IL-1RA schon in der frisch hergestellten, nicht gefilterten Konserve vorhanden ist und von der Zahl der WBC vor der Lagerung abhängig ist. Aus der linearen Regressionsanalyse konnte entnommen werden, dass 1×10^6 WBC/ml eine Menge von 2550 pg IL-1RA/ml enthalten. Es ist möglich, dass das retikuloendotheliale System des Empfängers die Freisetzung von Interleukin durch ein „Clearing“ der transfundierten Leukozyten verhindert (Shi 1996, Dini 1998). So könnte die mit zunehmender Lagerzeit größer werdende Menge an freiem IL-1RA in ungefilterten EK's eine größere Bedeutung zukommen. Dies würde auch mit der klinischen Beobachtung der stärkeren Immundepression mit zunehmender Lagerzeit übereinstimmen (Mynster 1998, Vamvakas 1999).

4.2.3 Bestrahlungsuntersuchungen Thrombozytenkonzentrate

Die Ergebnisse der Untersuchungen zum möglichen Einfluss der Bestrahlung auf die Qualität von Thrombozytenkonzentraten fallen im Einzelnen recht unterschiedlich aus. Während einige Parameter auf Einflüsse der Bestrahlung hinweisen, lassen sich bei anderen Messungen keine wesentlichen Unterschiede zwischen den unbestrahlten und den bestrahlten Anteilen der Konzentrate feststellen. Daher sollen in diesem Abschnitt zunächst die einzelnen Parameter diskutiert werden, um klare Schlussfolgerungen ableiten zu können. Auch eine separate Diskussion der unterschiedlichen Methoden ist sinnvoll.

pH-Wert

Der optimale pH-Wert für Thrombozytenkonzentrate liegt zwischen 6.5 und 7.0 und ein Absinken des pH-Wertes unter 6,2 ist mit einer erhöhten β -Thromboglobulinfreisetzung, abnormer Morphologie und Verlust der Reaktion auf hypotonen Stress verbunden (Moroff 1991). Auch ein alkalischer pH-Wert mit Werten über 7.9 ist mit einer Schädigung der Thrombozytenfunktion assoziiert (Watts 1983).

An allen untersuchten Tagen bewegte sich der pH-Wert sowohl in den unbestrahlten, als auch in den bestrahlten Thrombozytenkonzentraten in dem oben angegebenen, optimalen Bereich. Allerdings wies der pH-Wert am Herstellungstag, sowohl in den unbestrahlten, als auch in den bestrahlten Anteilen, einen gegenüber allen anderen Tagen erniedrigten Wert auf. Bereits am zweiten Tag erhöhte sich der pH-Wert und blieb bis zum vierten Tag relativ konstant. Von diesem Niveau ausgehend konnte am fünften und sechsten Tag ein pH-Abfall verzeichnet werden.

Im Vergleich zwischen unbestrahlten und bestrahlten Thrombozytenkonzentraten gab es an den untersuchten Tagen keine deutlichen Unterschiede. Die niedrigen Werte des Herstellungstages erklären sich vor allem durch die Zugabe von ACD-A als Antikoagulanzen. Darüber hinaus könnten die Manipulationen (siehe auch bei den Lagerungsuntersuchungen) am Herstellungstag einen erhöhten Stoffwechsel mit gesteigertem Laktatanfall bewirken, was zu einem zusätzlichen Abfall des pH-Wertes führen könnte. Für dieses Phänomen sprechen die Ergebnisse bei der Messung des ATP-Spiegels. Hierbei wurden in beiden Anteilen signifikant erniedrigte Werte im Vergleich mit den Werten der anderen Tage gefunden. Daher wird dies als ein Hinweis auf einen erhöhten Stoffwechsel am Herstellungstag interpretiert. Hinweise auf dieses Phänomen wurden von anderen Autoren beschrieben (Whisson 1993).

Die Möglichkeit, den pH-Wert zu optimieren, wurde in der Literatur bereits diskutiert (White 1980). In dieser Studie wurde der pH-Wert über das Antikoagulant direkt während der Herstellung artifiziell modifiziert, was zu einer verlängerten Funktionsfähigkeit der Thrombozyten führte. Der Anstieg des pH-Wertes auf höhere Werte am zweiten Tag erklärt sich durch die Wirksamkeit des Puffermediums, welches durch die Abdiffusion des Kohlendioxids durch die Membran des Blutbeutels den pH-Wert in Richtung des alkalischen Bereiches verschiebt. Im Zusammenhang damit könnte auch die 24-stündige Lagerung zur Normalisierung des Stoffwechsels und damit des pH-Wertes beigetragen haben. Der Abfall des pH-Wertes am fünften und am sechsten Tag ist Ausdruck reduzierter Pufferkapazität des Plasmas, das den vermehrten Laktatanfall nicht mehr voll kompensieren kann.

Da sich die hier beschriebenen Veränderungen stets innerhalb des empfohlenen pH-Optimums abspielen, sind ihre Auswirkungen auf die Wiederauffindbarkeit möglicherweise von untergeordneter Bedeutung. Es lassen sich jedoch aus diesen Veränderungen wertvolle Hinweise auf den möglichen Einfluss von Manipulationen und Lagerung ableiten. Einen Einfluss der Bestrahlung auf den pH-Wert der Thrombozytenkonzentrate konnte nicht beobachtet werden.

Durchflusszytometrische Bestimmung von Aktivierungsmarkern der Thrombozyten

Die eigenen Untersuchungen ergaben einen kontinuierlichen Anstieg der GMP-140-Expression in den bestrahlten und unbestrahlten Thrombozytenkonzentraten. Betrachtet man nur die Absolutzahl der gemessenen aktivierten Thrombozyten, so wird dieser Anstieg in beiden Anteilen ab dem fünften Tag sichtbar gegenüber dem Herstellungstag. Die separate Auswertung der gemessenen Fluoreszenzintensität jedoch ergibt eine Signifikanz schon ab dem vierten Tag in beiden Anteilen der Konzentrate. Die Unterschiede zwischen der Absolutzahl der aktivierten Thrombozyten und der Fluoreszenzintensität als Maß für die Stärke der Aktivierung könnten auf verschiedene Subpopulationen von Thrombozyten hinweisen, die auf einwirkende Reize unterschiedlich reagieren. Dies wird bestätigt durch die eigenen Ergebnisse der Zell-Elektrotrotation, bei der große Unterschiede der charakteristischen Frequenzen der einzelnen Thrombozyten innerhalb einer Probe gefunden wurden. Am Herstellungstag war sowohl die absolute Prozentzahl aktivierter Thrombozyten als auch die Fluoreszenzintensität in den bestrahlten Anteilen der Konzentrate deutlich höher als in den unbestrahlten Anteilen der Thrombozytenkonzentrate. Dies spricht dafür, dass durch die Bestrahlung die Sekretion der Alphagranula als Ausdruck einer Thrombozytenaktivierung gesteigert wird. Die Ergebnisse der induzierten Thrombozytenaggregation, insbesondere die ADP_{low} induzierte Aggregation, scheinen dieses Phänomen zu

bestätigen. Wenn GMP-140-positive Thrombozyten bevorzugt aus der Blutzirkulation entfernt werden (Rinder 1991), lässt die Transfusion von Thrombozyten unmittelbar nach ihrer Bestrahlung im Vergleich zur Transfusion unbestrahlter Thrombozyten ein reduziertes Inkrement erwarten. Inwieweit das Auswirkungen auf den therapeutischen Effekt der Thrombozytentransfusion hat, bedarf weitergehender Untersuchungen. Button et al. fanden, dass die Thrombozytenkonzentrate nach einer Bestrahlung mit 50 Gy zwar ein kleineres Inkrement, jedoch einen zufriedenstellenden therapeutischen Effekt bei thrombozytopenischen Patienten erzielten (Button 1981). Die erhöhte Thrombozytenaktivität in den bestrahlten Anteilen verliert sich bis zum zweiten Tag. Offenbar scheint auch hier, wie bereits beim Verhalten des ATP-Spiegels beobachtet, die 24-stündigen Lagerung nach der Herstellung und der Bestrahlung einen günstigen Einfluss auszuüben.

Die erhöhte Anzahl aktivierter Thrombozyten in bestrahlten- und unbestrahlten Thrombozytenkonzentraten am Lagerungsende (6. Tag nach der Herstellung) ist Ausdruck des sogenannten Lagerungsschaden. Diese Ergebnisse korrelieren gut mit den Beobachtungen bei der induzierten Thrombozytenaggregation. Die mit ADP in zwei verschiedenen Konzentrationen, sowie die mit Ristocetin induzierte Thrombozytenaggregation zeigte im Verlauf der Lagerung eine kontinuierlich abnehmende Tendenz. Dies weist daraufhin, dass die bereits aktivierten Thrombozyten (GMP-140-positiv) nicht mehr zur Aggregation befähigt sind. Bertolini (Bertolini 1993) fand heraus, dass der Anstieg von GMP-140 in Thrombozytenkonzentraten während der Lagerung nicht durch erhöhte Laktat Spiegel verursacht wird.

Induzierte Thrombozytenaggregation von bestrahlten und unbestrahlten Thrombozytenkonzentraten

In den Versuchen zeigte das Endniveau der mit ADP induzierten Aggregation eine Abnahme. In den unbestrahlten Anteilen der Thrombozytenkonzentrate wird diese Abnahme gegenüber dem Herstellungstag ab dem zweiten, in den bestrahlten Anteilen ab dem dritten Tag der Lagerung sichtbar. Unterschiede zwischen den unbestrahlten und bestrahlten Thrombozytenkonzentraten konnten an den einzelnen Tagen nicht beobachtet werden.

Im Gegensatz dazu war die mit ADP_{low} induzierte Thrombozytenaggregation in den bestrahlten Anteilen am Herstellungstag niedriger als in den unbestrahlten Anteilen. Dies deutet auf einen Einfluss der Bestrahlung auf die konzentrationsabhängige Wirkung von ADP am Thrombozyten hin. Die durchflusszytometrischen Ergebnisse, die am Herstellungstag einen gegenüber den unbestrahlten Thrombozytenkonzentraten deutlich

höheren Anteil aktivierter Thrombozyten in den bestrahlten Konzentraten aufzeigten, bestätigen diesen Einfluss der Bestrahlung. Allerdings war die Abnahme der Aggregation in den unbestrahlten Anteilen nur für den vierten und den fünften Tag gesichert gegenüber dem Herstellungstag. In den bestrahlten Anteilen war die Abnahme der Thrombozytenaggregation unwesentlich.

Der Verlauf der mit Ristocetin induzierten Aggregation war ebenfalls abnehmend. In den unbestrahlten Anteilen wurde diese Abnahme ab dem dritten Tag feststellbar, in den bestrahlten Anteilen war die Abnahme wiederum nicht wesentlich. Der Verlauf der mit Collagen induzierten Thrombozytenaggregation war konträr. Hier blieb das Ausmaß der Aggregation an allen Tagen konstant und es ließen sich keine bedeutsamen Unterschiede zwischen den beiden Anteilen sowie zwischen den einzelnen Tagen feststellen. Ursache hierfür kann der Wirkungsmechanismus von Collagen sein. Collagen kann neben der Aggregation auch die Sekretion von Speicherstoffen in den Thrombozyten stimulieren, die ihrerseits einen verstärkenden Effekt auf die Aggregation haben. Collagen stellt daher einen potenten Stimulus dar, der möglicherweise die Veränderungen durch die Bestrahlung kompensiert. Dieser Effekt war auch bei den Lagerungsuntersuchungen zu beobachten.

Die Geschwindigkeit der induzierten Aggregation verhält sich ebenso wie die oben beschriebenen Verläufe der Aggregation mit ADP, ADP_{low}, Ristocetin und Collagen.

Unsere Beobachtung, dass die mit ADP_{low} induzierte Thrombozytenaggregation am Herstellungstag durch eine Bestrahlung mit 30 Gy beeinflusst wird, steht im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Autoren. Kalovidouris kam zu dem Ergebnis, dass bei Dosen von 1-50 Gy die mit ADP und Collagen induzierte Aggregation von Thrombozyten nicht verändert war (Kalovidouris 1981). Die Arbeitsgruppe um Möckl stellte fest, dass die induzierte Thrombozytenaggregation von einer Bestrahlung mit Dosen von 25-100 Gy unbeeinflusst blieb (Möckl 1992). Die notwendige Anwesenheit von ionisiertem Calcium zur Auslösung der Thrombozytenaggregation ist unbestritten. Unklar bleibt, ob eine externe Calcium-Zufuhr zur Auslösung der induzierten Thrombozytenaggregation notwendig ist. Die Arbeitsgruppe um Groh konnte die ADP induzierte Thrombozytenaggregation in Thrombozytenkonzentrat erst nach der Zugabe von Calcium und niedermolekularem Heparin zur Hemmung der plasmatischen Gerinnung auslösen (Groh 1993).

4.2.4 Lagerungsuntersuchungen Thrombozytenkonzentrate ohne Bestrahlung

Thrombozyten erfahren nach der Entnahme aus dem Spenderkreislauf bis zur Transfusion bzw. bis zum Ende der zulässigen Lagerungszeit von fünf Tagen verschiedene Veränderungen, die als Lagerungsschäden zusammengefasst werden (Kunicki 1975, Moroff 1982, Watts 1983, Leach 1993, Rinder 1993).

Übereinstimmend wurde in diesen Studien festgestellt, dass die Expression aktivierungsabhängiger Antigene auf der Thrombozytenoberfläche im Verlauf der Lagerung kontinuierlich zunimmt. Dementsprechend nimmt die Reaktion auf Stimuli kontinuierlich ab. Darüber hinaus treten morphologische Veränderungen auf und der pH-Wert fällt durch einen Anstieg der Laktatproduktion ab. Mit diesen Lagerungsschäden geht eine reduzierte Wiederauffindbarkeit nach der Transfusion einher. Allerdings ist anzumerken, dass bei den meisten Studien lediglich am Herstellungstag, am 3. Tag und am letzten Tag Proben entnommen wurden. Außerdem wurden die Einflüsse der Herstellung und der Spende nicht berücksichtigt. Der Filtrationsprozess scheint die Thrombozytenfunktion nicht zu beeinflussen (Böck 1991).

Eine Schwierigkeit, die Ergebnisse der zitierten Studien miteinander zu vergleichen besteht u. a. auch darin, dass die Herstellungsmodalitäten aufgrund materiell-technischer und räumlicher Gegebenheiten in den einzelnen Instituten variieren.

Durchflusszytometrische Bestimmung von Aktivierungsmarkern der Thrombozyten

Mit durchflusszytometrischen Techniken können bestimmte Thrombozyten Antigene, sowie durch Aktivierung freigesetzte Moleküle zur Beurteilung der Thrombozytenfunktion gemessen werden (Stenberg 1985, Berman 1986, Corash 1990). Es wurde gezeigt, dass die Expression dieser Antigene gut mit Veränderungen der Thrombozytenmorphologie und der Freisetzung von LDH und β -Thromboglobulin korrelieren (Fijnheer 1990). Außerdem kann mit der Durchflusszytometrie zwischen der Thrombozytenaktivierung und den erworbenen Abnormalitäten unterschieden werden. Es wurde gezeigt, dass Thrombin eine erhöhte Expression von GP IIb/IIIa, eine Expression von GMP-140 und Thrombospondin auf der Thrombozytenoberfläche, sowie eine Abnahme der Expression von GP Ib bewirkt. Dagegen zeigten Thrombozyten nach extrakorporaler Zirkulation Veränderungen, die für eine Membranfragmentierung ohne Sekretion sprachen: Erniedrigte Expression von GP Ib und GP IIb, sowie keine Expression von GMP-140 und Thrombospondin (George 1986).

Als alternative Methode wurde die quantitative Bestimmung des in das Plasma sezernierten GMP-140 mittels Immunoassay von Gutensohn beschrieben (Gutensohn 1996).

In den vorliegenden Untersuchungen nahm die Expression des alphagranulären Membranproteins GMP-140 im Verlauf der Lagerung kontinuierlich zu. Dabei war sowohl der prozentuale Anteil aktivierter Thrombozyten, als auch die gemessene Fluoreszenzintensität gegenüber dem Zeitpunkt vor der Spende erhöht. Es bestand kein Unterschied zwischen den Zeitpunkten vor und nach der Spende. Die Thrombozytenspende hat keinen Einfluss auf die GMP-140-Expression.

Der Unterschied zwischen den Zeitpunkten nach der Spende und vor der Filtration erklärt sich vor allem dadurch, dass die zum Zeitpunkt nach der Spende entnommenen Thrombozyten aus dem Spenderkreislauf stammten und somit das Aktivierungsniveau des Spenders selbst widerspiegeln. Die zum Zeitpunkt vor der Filtration entnommenen Thrombozyten hingegen hatten bereits verschiedene Manipulationen erfahren. Interessant ist auch der Vergleich vor und nach Filtration. Hier besteht zwar kein wesentlicher Unterschied, jedoch ist aus dem Kurvenverlauf eine leichte Abnahme, sowohl im prozentualen Anteil aktivierter Thrombozyten, als auch in der gemessenen Fluoreszenzintensität erkennbar. Dies bedeutet, dass zumindest ein Teil der bereits aktivierten Thrombozyten bevorzugt im Filter abgefangen wird. Die Filtration hat offenbar neben dem leukozytendepletierenden Effekt auch eine günstige, selektierende Wirkung auf aktivierte Thrombozyten. Aus der Filtration resultiert lediglich ein Thrombozytenverlust von im Mittel 5,5 % (siehe Kapitel 3.8). Die Konzentrate werden ab dem Zeitpunkt der Filtration unter standardisierten Bedingungen gelagert, die einen Einfluss von mechanischen Störfaktoren auf die Thrombozyten ausschließen sollten. Dennoch steigt die GMP-140-Expression mit der Lagerung zunehmend an.

Bedenkt man die relativ kurze Lebensdauer von Thrombozyten von etwa 10 Tagen, erscheint es möglich, dass auch im normalen Blutkreislauf die Thrombozyten eine Zunahme der GMP-140-Expression erfahren. Jedoch werden aktivierte Thrombozyten im Kreislauf bevorzugt entfernt (Rinder 1991).

Induzierte Thrombozytenaggregation von gelagerten unbestrahlten Thrombozytenkonzentraten

Die durch ADP induzierte Thrombozytenaggregation zeigt im Verlauf der Lagerung eine abnehmende Tendenz. Zwischen den Zeitpunkten vor und nach der Spende gab es keinen deutlichen Unterschied. Dies bestätigt die Ergebnisse der Durchflusszytometrie, dass die Spende keinen Einfluss auf die Thrombozytenfunktion hat. Demgegenüber scheinen die Manipulationen nach der Spende auch die durch ADP induzierte Aggregation zu beeinflussen. Die Werte der Thrombozytenaggregation und die Geschwindigkeit der Aggregation nahmen nach der Spende ab.

Bei dem durch ADP_{low} induzierten Endniveau der Thrombozytenaggregation fand sich ein ähnlicher Verlauf. Die Abnahme der induzierten Thrombozytenaggregation wurde nach der Spende sichtbar verändert. Das legt die Vermutung nahe, dass die Spende auch die im Spenderkreislauf verbleibenden Thrombozyten nicht unbeeinflusst lässt. Zumindest scheinen Veränderungen der konzentrationsabhängigen Wirkung von ADP (Siffert 1990, Mueller-Eckhardt 1993) am Thrombozyten vorzuliegen. Auch die Geschwindigkeit der durch ADP_{low} induzierten Aggregation weist durch ihre Abnahme ab dem Zeitpunkt nach der Spende auf dieses Phänomen hin.

Die wesentliche Abnahme der Aggregation mit ADP_{low} zwischen den Zeitpunkten nach der Spende und vor der Filtration scheint die Annahmen über die schädigenden Einflüsse der Manipulationen an den Thrombozytenkonzentraten zwischen Spende und Filtration zu bestätigen.

Wie bei den durchflusszytometrischen Untersuchungen festgestellt wurde, scheint auch bei der induzierten Thrombozytenaggregation die Filtration einen günstigen selektiven Einfluss auszuüben. Das Ausmaß des durch ADP_{low} induzierten Endniveaus der Thrombozytenaggregation war zum Zeitpunkt nach Filtration geringfügig, wenn auch nicht deutlich, höher als zum Zeitpunkt vor der Filtration. Neben den geschilderten Einflüssen der Manipulationen auf das Aggregationsverhalten scheint auch die Lagerung zur abnehmenden Stimulierbarkeit der Thrombozyten mit ADP und ADP_{low} beizutragen. Vergleicht man allerdings den Kurvenverlauf der durch ADP und ADP_{low} induzierten Aggregation, so scheinen für ADP_{low} die Herstellungsprozeduren eine größere Rolle als die Lagerungsschäden zu spielen.

Das Endniveau der mit Ristocetin induzierten Aggregation blieb bis zum dritten Tag relativ konstant und fiel erst nach dem vierten Tag ab. Die Geschwindigkeit der mit Ristocetin induzierten Aggregation blieb bis zum fünften Tag relativ konstant und war erst am sechsten Tag erniedrigt gegenüber dem Herstellungstag. Einen anderen Verlauf als die mit ADP, ADP_{low} und Ristocetin induzierten Endniveaus der Aggregation nahm die durch Collagen induzierte Thrombozytenaggregation, bei der das Endniveau der Aggregation im gesamten Verlauf der Untersuchung konstant blieb. Die Geschwindigkeit der Aggregation war jedoch ab dem zweiten Tag gegenüber dem Zeitpunkt vor der Spende deutlich erniedrigt.

Die Stimuli durch Ristocetin und Collagen sind offenbar so stark, dass trotz der durch Manipulationen und, im Falle von Collagen, auch durch die Lagerung induzierten Veränderungen keine veränderte Aggregation bewirkt wurde. Allerdings deutet die erniedrigte Geschwindigkeit der collageninduzierten Aggregation ab dem zweiten Tag auch auf Veränderungen durch die Lagerung hin.

Fazit der Lagerungsuntersuchungen Thrombozytenkonzentrate:

Fasst man alle oben besprochenen Ergebnisse zusammen, ergeben sich folgende Schlussfolgerungen:

- Die Spende bleibt ohne Einfluss auf den Aktivierungsgrad der im Spenderkreislauf verbleibenden Thrombozyten.
- Auch das Endniveau der induzierten Thrombozytenaggregation wird mit Ausnahme von ADP_{low} nicht von der Spende beeinflusst.
- Die Manipulationen am Thrombozytenkonzentrat bis zum Zeitpunkt vor der Filtration haben offenbar eine erhöhte Aktivierung der Thrombozyten zur Folge.
- Die Filtration scheint im Sinne einer bevorzugten Retention bereits aktivierter Thrombozyten einen günstigen Einfluss auf die Qualität der Thrombozyten im Konzentrat auszuüben.
- Die Lagerung führt zur Erhöhung des Anteils aktivierter Thrombozyten mit reduzierter Aggregationsbereitschaft.

4.2.5 Lagerungsuntersuchungen Plasma

Die Anforderungen zur Plasmaherstellung können in der Regel ohne Schwierigkeiten erfüllt werden (Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer und des Paul-Ehrlich-Institutes, 1996, 2000, 2003). Die Kontaminierung mit Thrombozyten war niedriger als nach den Empfehlungen des Europarates und der Weltgesundheitsorganisation verlangt wird (Council of Europe, 1995). Allerdings scheint die Reduktion der Thrombozyten im Plasma ein Problem für einige Apheresesysteme darzustellen. Dieses Problem sollte erwähnt werden, da die Kontaminierung des Plasmas mit Thrombozyten einen negativen Einfluss auf die Gerinnungsfaktoren haben kann (Pepper 1978). Allerdings müsste dann die Zahl der Thrombozyten in den untersuchten Systemen deutlich höher liegen, um diesen Effekt zu erreichen. Obwohl die Zahl der Thrombozyten im ungünstigsten Fall 5 mal höher lag als im günstigsten Fall, bewegten sich alle Werte innerhalb der gleichen Größenordnung. Ihr Einfluss auf die labilen Gerinnungsfaktoren kann deshalb als vergleichbar für alle Systeme angesehen werden.

Die Ursache für die Zunahme des Gesamtproteingehalts während der Lagerung um 7 % ist durch Verdunstung zu erklären. Da die heute verwendeten Folien sowohl für CO₂ und O₂ durchgängig sind, kann auch das kleinere Wassermolekül die Folien passieren. Ähnliche Ergebnisse wurden bereits in einer Tabelle von Riggert (Riggert 1997) mitgeteilt, jedoch nicht diskutiert.

Die manuell hergestellten GFP zeigten eine minimal reduzierte Faktor-VIII-Aktivität nach 15 Monaten Lagerung im Vergleich mit den Aphereseplasmen, was jedoch keine klinische Relevanz haben dürfte. Diese Ergebnisse sind in guter Übereinstimmung mit anderen Literaturdaten (Kotitschke 1997, Riggert 1997). Faktor VIII ist der empfindlichste Parameter hinsichtlich der Lagerung der GFP (Anderson 1992, Mannucci 1994). Die Faktor VIII-Aktivitäten waren nach dem Einfrieren erniedrigt. Diese waren aber stets im Bereich der deutschen Qualitätsanforderungen für GFP (Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer und des Paul-Ehrlich-Institutes, 1996, 2000, 2003) und in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren (Riggert 1997).