

Aus der Klinik für Angeborene Herzfehler / Kinderkardiologie
des Deutschen Herzzentrums Berlin

DISSERTATION

Vergleich zwischen ungewaschenen und gewaschenen
Erythrozytenkonzentraten:
eine pädiatrische prospektive randomisierte Studie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ulrike Christine Busch

aus Heppenheim

Datum der Promotion: 30.05.2015

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	7
Abstract	9
1 Einleitung	13
1.1 Historischer Hintergrund der Bluttransfusion	13
1.2 Klinischer Hintergrund der Bluttransfusion	13
1.3 Klinischer Hintergrund der Bluttransfusion in der Kinderkardiologie	14
1.4 Immunologische Risiken durch Erythrozytenkonzentratgabe	15
1.5 Immunologische Reaktion durch Erythrozytenkonzentratgabe und die Rolle von Zytokinen	17
1.6 Lagerung von Erythrozytenkonzentraten und daraus resultierende Lagerungsschäden	18
1.7 Lagerungszeit der Erythrozytenkonzentrate in Bezug auf klinisches Outcome der Patienten	19
1.8 Waschvorgang von Erythrozytenkonzentraten.....	20
1.9 Ziel der Studie	20
2 Methoden	22
2.1 Studiendesign.....	22
2.2 Patientenkollektiv.....	22
2.2.1 Einschlusskriterien	22
2.2.2 Ausschlusskriterien	22
2.2.3 Abbruchkriterien	23
2.3 Studienablauf.....	23
2.4 Botenstoffe	24
2.5 Zytokinanalyse mittels Dry Blood Spots	26
2.6 Zytokinanalyse mittels Instant Leukocyte Culture System.....	26

2.7	Luminex-Technologie.....	27
2.8	Studiendokumentation.....	27
2.9	Statistische Analyse.....	28
3	Ergebnisse	29
3.1	Patientenkollektiv.....	29
3.2	Charakterisierung der transfundierten Erythrozytenkonzentrate.....	30
3.3	Ausgangsparameter vor Erythrozytenkonzentratgabe	30
3.3.1	Vitalparameter	30
3.3.2	Blutgasanalysen	31
3.3.3	Laborchemische Parameter	31
3.3.4	Zytokinkonzentrationsanalysen	33
3.3.4.1	Dry Blood Spots	33
3.3.4.2	Instant Leukocyte Culture System	33
3.4	Wascheffekt auf die Erythrozytenkonzentrate mittels Autotransfusionssystem	34
3.5	Einfluss der Transfusion von ungewaschenen und gewaschenen Erythrozytenkonzentraten	35
3.5.1	Vitalparameter	35
3.5.2	Blutgasanalysen	36
3.5.3	Laborchemische Parameter	37
3.5.4	Zytokinkonzentrationsanalysen	40
3.5.4.1	Dry Blood Spots	40
3.5.4.2	Instant Leukocyte Culture System	42
3.6	Vergleich der randomisierten Patientenkohorten behandelt mit ungewaschenen vs gewaschenen Erythrozytenkonzentraten	43
3.6.1	Vitalparameter	43
3.6.2	Blutgasanalysen	44
3.6.3	Laborchemische Parameter	44
3.6.4	Zytokinkonzentrationsanalysen	45
3.6.4.1	Dry Blood Spots	45
3.6.4.2	Instant Leukocyte Culture System	46
4	Diskussion	48
4.1	Wascheffekt auf die Erythrozytenkonzentrate mittels Autotransfusionssystem	48
4.2	Einfluss der Transfusion von ungewaschenen und gewaschenen Erythrozytenkonzentraten	49

4.3	Vergleich der randomisierten Patientenkohorten mit ungewaschenen vs gewaschenen Erythrozytenkonzentraten	52
4.4	Methodendiskussion	54
4.5	Fazit und Ausblick.....	55
5	Literaturverzeichnis	57
6	Eidesstattliche Versicherung / Anteilserklärung	62
7	Lebenslauf	63
8	Publikationsliste	64
9	Danksagung	65

Abkürzungsverzeichnis

ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
ATP	Adenosintriphosphat
BRMs	Biological Response Modifiers
CK	Creatinkinase
CK-MB	Creatinkinase Muscle-Brain
CRP	C-Reaktives Protein
CXCL-1	Chemokine (C-X-C motif) Ligand 1
DBS	Dry Blood Spots
DHZB	Deutsches Herzzentrum Berlin
DPG	Diphosphoglycerat
EK	Erythrozytenkonzentrat
GP-VI	Glycoprotein VI
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HLA	Humane Leukozytenantigene
IgA	Immunglobulin A
IL-1 α	Interleukin-1 α
IL-1 β	Interleukin-1 β
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IL-10	Interleukin-10
IL-17A	Interleukin-17A
ILCS	Instant Leukocyte Culture System
INF- γ	Interferon- γ
IP-10	γ -Interferon Inducible Protein 10
LDH	Lactatdehydrogenase
LPS	Lipopolysaccharid
MCP-1	Monocyte Chemotactic Protein-1
MIP-1 α	Macrophage Inflammatory Protein-1-alpha
MIP-2	Macrophage Inflammatory Protein-2
NaCl	Natriumchlorid
PDGF AB/BB	Platelet-Derived Growth Factor AB/BB
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
TA-GVHD	Transfusionsassoziierte Graft Versus Host Disease
TARC	Thymusaktivitätsreguliertes Chemokin
TGF- β 1	Transforming Growth Factor Beta 1
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TRALI	Transfusion-Related Acute Lung Injury
TRIM	Transfusion-Related Immunomodulation
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Studienablauf.....	24
Abbildung 2: Filterkarte vom Neugeborenenenscreening	26
Abbildung 3: Transfusionsparameter in der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24 Stunden nach EK-Gabe	39
Abbildung 4: Transfusionsparameter in der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24 Stunden nach EK-Gabe	40
Abbildung 5: MCP-1 und TARC gemessen in DBS der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe.....	41
Abbildung 6: IL-8 gemessen in DBS der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe.	41
Abbildung 7: IL-1 α , IL-6, IL-8 und MCP-1 gemessen in ILCS der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe	42
Abbildung 8: Vergleich der relativen Änderung von MCP-1 und GP-VI gemessen in DBS zwischen den beiden randomisierten Gruppen (gewaschene versus ungewaschene Erythrozytenkonzentrate)	46
Abbildung 9: Vergleich der relativen Änderung von IL-6, IL-8 und MCP-1 gemessen in ILCS zwischen den beiden randomisierten Gruppen (gewaschene versus ungewaschene Erythrozytenkonzentrate)	47

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Nicht-infektiöse immunologische Risiken durch Erythrozytenkonzentratgabe.....	15
Tabelle 2: Analytierte Zytokine und ihre biologischen Funktionen	25
Tabelle 3: Demographische Daten.....	29
Tabelle 4: Charakterisierung der transfundierten Erythrozytenkonzentrate	30
Tabelle 5: Vitalparameter der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe	31
Tabelle 6: Blutgasanalyse der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe	31
Tabelle 7: Laborchemische Parameter der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe ..	32
Tabelle 8: Transfusionsparameter der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe	32
Tabelle 9: Vergleich der Transfusionsparameter vor EK-Gabe bei Patienten mit nicht- zyanotischem und zyanotischem Herzfehler	33
Tabelle 10: Zytokinkonzentrationen gemessen in DBS der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe	33
Tabelle 11: Zytokinkonzentrationen gemessen in ILCS der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe	34
Tabelle 12: Vergleich der Blutgasanalysen ungewaschener und gewaschener Erythrozytenkonzentrate	35
Tabelle 13: Vitalparameter der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe	36
Tabelle 14: Vitalparameter der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24h nach EK- Gabe	36
Tabelle 15: Blutgasanalyse der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 6h nach EK-Gabe	37
Tabelle 16: Blutgasanalyse der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 6h nach EK- Gabe	37
Tabelle 17: Laborchemische Parameter der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe.....	38
Tabelle 18: Laborchemische Parameter der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe.....	39
Tabelle 19: Zytokinkonzentrationen gemessen in DBS der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe.....	41
Tabelle 20: Zytokinkonzentrationen gemessen in DBS der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe	42
Tabelle 21: Zytokinkonzentrationen gemessen in ILCS der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe.....	43

Tabelle 22: Zytokinkonzentrationen gemessen in ILCS der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe.....	43
Tabelle 23: Vergleich der Vitalparameter 24h nach EK-Gabe zwischen den beiden randomisierten Gruppen.....	44
Tabelle 24: Vergleich der Blutgasanalysen 6h nach EK-Gabe zwischen den beiden randomisierten Gruppen.....	44
Tabelle 25: Vergleich der laborchemischen Parameter 24h nach EK-Gabe zwischen den beiden randomisierten Gruppen.....	45
Tabelle 26: Vergleich der Transfusionsparameter 24h nach EK-Gabe zwischen den beiden randomisierten Gruppen.....	45
Tabelle 27: Vergleich der relativen Änderung der Zytokinkonzentrationen gemessen in DBS zwischen den beiden randomisierten Gruppen.....	46
Tabelle 28: Vergleich der relativen Änderung der Zytokinkonzentrationen gemessen in ILCS zwischen den beiden randomisierten Gruppen.....	47

Abstract

Hintergrund: Nach herzchirurgischen Eingriffen benötigen Kinder häufig eine Transfusion von Erythrozytenkonzentraten. Jedoch führen Bluttransfusionen zu immunologischen Veränderungen und sind ein Risikofaktor für erhöhte Morbidität und Mortalität bei kritisch kranken Patienten.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, bei Kindern mit angeborenem Herzfehler die klinische Auswirkung und immunologische Reaktion durch die Gabe von Erythrozytenkonzentraten zu untersuchen und einen Unterschied zwischen der Transfusion von gewaschenen und ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten zu analysieren.

Methoden: In einer pädiatrischen prospektiven randomisierten Studie im DHZB erhielten 48 Kinder nach herzchirurgischen Eingriffen randomisiert ein ungewaschenes oder gewaschenes Erythrozytenkonzentrat. Der Waschvorgang erfolgte mittels Autotransfusionssystem. Blutgasanalysen erfolgten aus dem Erythrozytenkonzentrat und von den Studienteilnehmern vor und sechs Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe. Vor und 24 Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe wurden Vitalparameter dokumentiert und Blut für laborchemische Parameter sowie Zytokinkonzentrationsanalysen mittels Dry Blood Spots (DBS) und Instant Leukocyte Culture System (ILCS) entnommen.

Ergebnisse: 45 Kinder wurden analysiert, hiervon erhielten 23 ein ungewaschenes und 22 ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat. Drei Kinder erfüllten ein Abbruchkriterium.

Durch den Waschvorgang wurden in den Erythrozytenkonzentraten die Konzentrationen von Hämoglobin, Kalium und Glucose gesenkt und von Natrium erhöht.

Nach sechs Stunden wurde in beiden Patientenkohorten ein Anstieg des Hämoglobins und der Sauerstoffsättigung beobachtet. In der mit einem ungewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte war die Natriumkonzentration und in der mit gewaschenem Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte das Standardbicarbonat erniedrigt. Nach 24 Stunden zeigte sich ein Anstieg des diastolischen Blutdrucks in der mit einem gewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte. In beiden randomisierten Gruppen waren Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozytenanzahl angestiegen und das CRP erniedrigt. Zusätzlich

zeigten sich eine Reduktion der Creatinkinase sowie ein dezenter Anstieg des Albumins und Gesamtcalciums in der mit ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten behandelten Patientenkohorte und ein Abfall der Leukozyten und Thrombozyten in der mit gewaschenen Erythrozytenkonzentraten behandelten Patientenkohorte.

Nach der Erythrozytenkonzentratgabe waren MCP-1 und TARC in der DBS-Methode sowie IL-1 α , IL-6, IL-8 und MCP-1 in der ILCS-Methode in der mit einem ungewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte angestiegen. In der mit einem gewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte war IL-8 in der DBS-Methode reduziert.

Die mit einem gewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelte Patientenkohorte wies im Vergleich zu der mit einem ungewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte einen reduzierten prozentualen Anstieg von MCP-1 und GP-VI in der DBS-Methode sowie von IL-6, IL-8 und MCP-1 in der ILCS-Methode nach der Erythrozytenkonzentratgabe auf.

Zusammenfassung: Die Erythrozytenkonzentratgabe führt zu einer proinflammatorischen Reaktion, die durch das vorherige Waschen der Erythrozytenkonzentrate abgeschwächt werden kann. Es bedarf weiterer klinischer Studien mit einem größeren Patientenkollektiv und multiplen Transfusionen, die insbesondere das klinische Outcome evaluieren.

Background: After cardiac surgery children often need red blood cell (RBC) transfusions. RBC transfusions generate an inflammatory response and are associated with increased morbidity and mortality. The aim of this study was to evaluate the clinical effect and inflammatory response in children with RBC transfusion. We hypothesized that washing RBCs before transfusion would reduce the pro-inflammatory response.

Methods: In a pediatric prospective randomized controlled clinical trial 48 children treated in the DHZB were randomized to an unwashed or washed RBC transfusion group. The RBCs were washed by a cell salvage machine. Blood gas analysis was performed in the packed RBCs and in all patients before and 6 hours after receiving a RBC transfusion. Vital parameters were documented before and 24 hours after transfusion and blood was taken for laboratory analysis and analysis of cytokine concentration using Dry Blood Spots (DBS) and Instant Leukocyte Culture System (ILCS).

Results: 45 children were analyzed, 23 receiving unwashed RBCs and 22 receiving washed RBCs. Three children were excluded from analysis.

Washing reduced hemoglobin, potassium and glucose and increased sodium concentration in the RBCs.

After transfusion an increased diastolic blood pressure was seen in the group receiving washed RBCs. Increased hemoglobin levels and oxygen saturation in the venous blood gas analysis were found in both groups. A reduced sodium concentration was seen in the group receiving unwashed RBCs and a reduced standard bicarbonat concentration was seen in the group receiving washed RBCs. In laboratory analysis hemoglobin, hematocrit and number of erythrocytes were increased in both groups and CRP was reduced. A reduced creatinkinase and an increased serum albumin and calcium were seen in the group receiving unwashed RBCs. In the group receiving washed RBCs a drop of the serum leukocytes and thrombocytes was found.

After transfusion an increase of MCP-1 and TARC in the DBS as well as an increase of IL-1 α , IL-6, IL-8 and MCP-1 in the ILCS was found in patients receiving unwashed RBCs. IL-8 was reduced in patients receiving washed RBCs.

Among the patients receiving washed RBCs the ratio of MCP-1 and GP-VI in the DBS analysis as well as IL-6, IL-8 and MCP-1 in the ILCS analysis was significantly reduced.

Conclusion: Transfusion of RBCs induces a pro-inflammatory reaction which can be diminished by washing the packed RBCs before transfusion. Further clinical trials using a larger amount of patients and multiple transfusions are needed to evaluate especially the clinical outcome.

1 Einleitung

1.1 Historischer Hintergrund der Bluttransfusion

Die erste Bluttransfusion zwischen zwei Menschen wurde 1818 durch den britischen Arzt James Blundell durchgeführt.¹ Trotz seiner Bemühungen überlebte der Patient nicht. 1825 gelang Blundell die erste erfolgreiche Übertragung menschlichen Bluts bei einer Wöchnerin. Im 19. Jahrhundert setzte sich die Bluttransfusion kaum als Behandlungsmethode bei massivem Blutverlust durch, da bis dahin nur jede zweite Bluttransfusion erfolgreich verlief.

Einen Meilenstein in der Transfusionsmedizin legte der Wiener Pathologe Karl Landsteiner, der 1901 die Blutgruppeneigenschaften des ABO-Systems und die korrespondierenden Isoagglutinine entdeckte.² Von da an liefen die meisten Blutübertragungen erfolgreich, wenn auch nur die direkte Blutübertragung von Spender zu Empfänger möglich war. Erst die Entdeckung von Natrium-Citrat als Blutantikoagulans 1914 und der Zusatz von Dextrose ab 1916 ermöglichten die Lagerung von Blut. Weitere Entdeckungen von Blutgruppensystemen, allen voran dem Rhesus-Merkmal, haben die Zahl der hämolytischen Reaktionen durch Blutgruppenunverträglichkeit gesenkt. Mitte des 20. Jahrhunderts begann man mit der Auftrennung des Bluts in seine Komponenten³ und anstelle des Vollblutes wurden nun Erythrozytenkonzentrate zur Therapie der Anämie verabreicht. In der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts trat ein neues Problemfeld der modernen Transfusionsmedizin auf: die Übertragung von Infektionskrankheiten. Jedoch konnte durch die Einführung von molekularbiologischen Screeningverfahren die Zahl der transfusionsbedingten Infektionen seit den 1990er Jahren drastisch gesenkt werden. Aktuell liegt das Risiko bezüglich einer Übertragung des Hepatitis-B-Virus (HBV) bei 1:350.000, des Hepatitis-C-Virus (HCV) bei 1:1,8 Millionen und des Humanen Immundefizienz-Virus (HIV) bei 1:2,3 Millionen).⁴

1.2 Klinischer Hintergrund der Bluttransfusion

Die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten ist eine der wichtigsten und sehr häufig durchgeführten Therapien im klinischen Alltag. Die World Health Organization berichtet, dass jährlich etwa 92 Millionen Blutkonserven weltweit gesammelt werden, die Hälfte davon alleine für europäische, nordamerikanische und andere industrialisierte Staaten.⁵

In diesen Ländern wird die Transfusionstherapie hauptsächlich in der Transplantations- und Herzchirurgie, nach massiven Traumata sowie bei onkologischen und hämatologischen Erkrankungen eingesetzt.⁵ Fast 50% der schwerkranken erwachsenen Patienten, die mehr als 48 Stunden auf einer Intensivstation liegen, erhalten eine Bluttransfusion.⁶

Für kritisch kranke Kinder gilt, dass fast die Hälfte aller Patienten auf pädiatrischen Intensivstationen mindestens ein Erythrozytenkonzentrat erhält.^{7, 8} Zu den Ursachen, die eine Bluttransfusion bei Kindern notwendig machen, gehören extreme Frühgeburtlichkeit, Blutverlust bei akuter Blutung oder chirurgischen Eingriffen, hämatoonkologische Erkrankungen sowie der septische Schock.⁹

Trotz der Tatsache, dass Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten eine potenziell lebensrettende Maßnahme sind, scheinen sie gleichzeitig einen negativen Effekt bei kritisch kranken Patienten in Bezug auf Morbidität und Mortalität zu haben.¹⁰ Die Bluttransfusion ist ein unabhängiger Risikofaktor bei kritisch kranken Erwachsenen für nosokomiale Infektionen, Multiorganversagen und ARDS (engl.: Acute Respiratory Distress Syndrome).¹⁰ Sowohl bei Frühgeborenen als auch bei kritisch kranken Kindern konnte in Bezug auf Mortalität^{7, 11} und Morbidität^{7, 11-13} ebenfalls ein erhöhtes Risiko durch Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten festgestellt werden. Frühgeborene, die transfundiert werden, brauchen häufiger eine diuretische Therapie und weisen ein größeres Risiko in Bezug auf bronchopulmonale Dysplasie sowie nekrotisierende Enterokolitis auf.¹³ Kinder, die während der intensivmedizinischen Behandlung Erythrozytenkonzentrate erhalten, haben über längere Zeit Sauerstoffbedarf, müssen länger beatmet werden, brauchen mehr vasoaktive Substanzen und weisen längere Intensivliegezeiten sowie ein erhöhtes Mortalitätsrisiko auf.^{7, 11, 12}

1.3 Klinischer Hintergrund der Bluttransfusion in der Kinderkardiologie

Insbesondere Kinder mit angeborenem Herzfehler benötigen häufig eine Bluttransfusion, da es bei Korrekturoperationen unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine zu erhöhtem Blutumsatz kommt. Die Wahrscheinlichkeit einer Erythrozytenkonzentratgabe hängt von der Menge des Blutverlustes, der Größe des Kindes, der Komplexität des Herzfehlers und der durchgeführten Operation ab. Die Indikation zu Bluttransfusion richtet sich nach Hämoglobin- und Hämatokritwert sowie der Art des Herzfehlers und der klinischen Situation des Kindes. Zudem besteht bei

Kindern mit einem zyanotischen Herzvitium eher die Indikation zur Erythrozytenkonzentratgabe, um die Sauerstofftransportkapazität durch gesteigerte Hämoglobinkonzentrationen zu erhöhen.

1.4 Immunologische Risiken durch Erythrozytenkonzentratgabe

Neben den infektiösen Risiken einer Bluttransfusion (siehe 1.1) existieren auch nicht-infektiöse immunologische Risiken einer Bluttransfusion (Tabelle 1).

Tabelle 1: Nicht-infektiöse immunologische Risiken durch Erythrozytenkonzentratgabe.

Nicht-infektiöse immunologische Risiken einer Bluttransfusion
<ul style="list-style-type: none">· Akute hämolytische Transfusionsreaktion bei AB0-Inkompatibilität· Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktion· Transfusionsbedingte Immunmodulation· Febrile nicht-hämolytische Transfusionsreaktion· Transfusion-Related Acute Lung Injury· Allergische Transfusionsreaktionen· Transfusionsassoziierte Graft Versus Host Disease

Trotz AB0-Kompatibilität und korrekt durchgeführtem, unauffälligem Bedside-Test kann es bei Patienten nach der Erythrozytenkonzentratgabe zu einer verzögerten hämolytischen Transfusionsreaktion kommen. Bei diesen Patienten liegt bereits durch eine vorangegangene Schwangerschaft oder vorherige Transfusionen eine Alloimmunisierung vor, die bei erneuter Exposition durch eine Bluttransfusion zu einer sekundären Immunreaktion mit der Bildung von Alloantikörpern führt. Diese richten sich meistens gegen die Antigene des Rhesus- oder Kidd-Systems.¹⁴ Verzögerte hämolytische Transfusionsreaktionen treten in der Regel zwischen 24 Stunden und zehn Tagen nach der Transfusion auf und sind häufig nur durch einen Abfall des Hämoglobin-Wertes gekennzeichnet. Als Begleiterscheinung können Fieber, Ikterus oder Hämoglobinurie auftreten.¹⁵

Die transfusionsbedingte Immunmodulation (TRIM) wurde zum ersten Mal 1973 beschrieben. Hierbei wurde beobachtet, dass Bluttransfusionen vor einer Nierentransplantation einen positiven immunsuppressiven Effekt haben und zu einer geringeren Abstoßungsrate des Transplantats führen.¹⁶ In den folgenden Jahren wurden in Studien weitere immunsuppressive Effekte wie erhöhte Tumorrezidivraten und erhöhte postoperative Infektionsraten beschrieben.¹⁷⁻²¹ Der Mechanismus, der zu

dem TRIM-Effekt führt, wird kontrovers diskutiert. Drei Komponenten gelten als mögliche Ursache: das Spenderplasma, die Spenderleukozyten und Substanzen, die sich während der Lagerung in den Erythrozytenkonserven angesammelt haben.²² Nach Einführung der Leukozytendepletion zeigten einige Studien, dass der TRIM-Effekt nach Transfusionen auch weiterhin auftritt.^{23, 24} Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der TRIM-Effekt noch unzureichend verstanden ist und aktuell weiter erforscht wird.

Eine häufige Transfusionsreaktion ist die febrile nicht-hämolytische Transfusionsreaktion, die während oder nach einer Transfusion zu einem Temperaturanstieg $> 1^{\circ}\text{C}$ führt. Symptomatisch zeigen sich dabei oft Schüttelfrost, Blutdruckabfall und leichte Dyspnoe. Die Angaben zur Inzidenzrate variieren von $< 1\%$ bis über 35% .²⁵ Durch Einführung der Leukozytendepletion konnte die Inzidenz um ca. 50% gesenkt werden.^{26, 27} Als Ursache hierfür wird die HLA-Alloimmunisierung gesehen. Für das verbleibende Risiko scheinen Zytokine, die von verbleibenden Leukozyten in den Erythrozytenkonzentraten gebildet werden, eine Rolle zu spielen.²⁸

Eine seltene, aber lebensbedrohliche Transfusionskomplikation ist die Transfusion-Related Acute Lung Injury (TRALI). TRALI ist definiert als akutes nicht-kardiogenes Lungenödem, das während oder innerhalb von sechs Stunden nach einer Bluttransfusion auftritt.²⁹ Aktuell wird folgende Pathogenese angenommen: Zunächst steht die Erkrankung des Patienten, die mit einer pulmonalen endothelialen Aktivierung und vermehrten Bildung von neutrophilen Granulozyten einhergeht. Mit der Bluttransfusion werden sogenannte Biological Response Modifiers (BRMs), z.B. biologisch aktive Lipide (Lysophosphatidylcholine) übertragen, die im Zusammenspiel mit dem vorgeschädigten Endothel und den aktivierten Leukozyten zu der pulmonalen Endothelschädigung, dem Kapillarlecksyndrom und damit TRALI führen.^{30, 31}

Allergische Transfusionsreaktionen zeigen sich in Form von Urtikaria, Ödemen, Pruritus und Angioödem bis hin zum anaphylaktischen Schock. Verantwortlich dafür scheinen lösliche Antigene im Plasma der Erythrozytenkonserve zu sein, für die der Empfänger schon im Vorfeld sensibilisiert wurde.²⁸ In ca. 20% der Fälle tritt die allergische Transfusionsreaktion bei IgA-Mangel auf.³² Des Weiteren werden allergische Reaktionen in Zusammenhang mit HLA-Antikörpern³³ und Antikomplement-Antikörpern³⁴ gesehen.

Bei immunsupprimierten Patienten können proliferationsfähige T-Lymphozyten des Spenders eine Transfusionsassoziierte Graft Versus Host Disease (TA-GVHD) verursachen. Auch bei immunkompetenten Patienten kann es zu einer TA-GVHD kommen, wenn Blutspender und Empfänger ähnliche HLA-Haplotypen aufweisen.³⁵ Ein bis sechs Wochen nach der Transfusion können Fieber, Leberfunktionsstörungen, Diarrhoe und Panzytopenie auftreten. Die Mortalitätsrate der TA-GVHD liegt > 90%²⁸. Zur Prophylaxe können Erythrozytenkonzentrate bestrahlt werden.

1.5 Immunologische Reaktion durch Erythrozytenkonzentratgabe und die Rolle von Zytokinen

Auch ohne sichtbare klinische Zeichen einer immunologischen Reaktion beeinflussen Bluttransfusionen auf zellulärer Ebene das Immunsystem. Kinder, die während herzchirurgischer Eingriffe Erythrozytenkonzentrate erhielten, wiesen signifikant erhöhte Leukozyten und neutrophile Granulozyten sowie ein erhöhtes C-Reaktives Protein (CRP) auf.³⁶

Besondere Aufmerksamkeit liegt bei der Betrachtung der immunologischen Reaktionen auf den Zytokinen, die als Botenstoffe eine wichtige Rolle in der Regulation der Immunantwort spielen. Zytokine sind Polypeptide, die von Immun- und auch anderen Körperzellen gebildet werden können und nach einer Stimulation durch auslösende Noxen wie z.B. Infektionen, Traumata und Stress sezerniert werden. Sie binden an spezifische Oberflächenrezeptoren der Zielzelle und aktivieren Signaltransduktionskaskaden innerhalb der Zelle, die zu veränderter Genexpression, Differenzierung, Proliferation, Migration oder Apoptose führen. Nach ihren biologischen Funktionen lassen sich Zytokine in fünf Untergruppen einteilen: Interleukine, Interferone, Wachstumsfaktoren, Tumornekrosefaktoren und Chemokine.³⁷

In vitro wurde nach der Inkubation mit Erythrozytenkonzentraten ein Anstieg der proinflammatorischen Zytokine IL-6, IL-8 und CXCL1 bei Endothelzellen gezeigt.³⁸ Auch in vivo konnten in klinischen Studien veränderte proinflammatorische Zytokinkonzentrationen durch eine Bluttransfusion nachgewiesen werden. Die Erythrozytenkonzentratgabe führte bei Erwachsenen zu erhöhten Konzentrationen von IL-8³⁹, TGF- β 1 und TNF- α ⁴⁰ sowie IL-6 und IL-10⁴¹. Bei Frühgeborenen wurde gezeigt, dass die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten zu einem Anstieg von IL-1 β , IL-8, TNF- α und MCP-1 führt.⁴²

Diese Proinflammation, die nach Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten auftritt, könnte kritisch kranke Patienten für nosokomiale Infektionen, Multiorganversagen, SIRS (engl.: Systemic Inflammatory Response Syndrome) und Sepsis empfänglich(er) machen und bei bereits eingetretenen Ereignissen zu einem schwereren Verlauf führen, wodurch der negative Effekt von Erythrozytenkonzentratgaben bei kritisch kranken Patienten in Bezug auf Morbidität und Mortalität erklärt werden könnte.⁴³

1.6 Lagerung von Erythrozytenkonzentraten und daraus resultierende Lagerungsschäden

Um die Blutversorgung flächendeckend und bedarfsgerecht sicherzustellen, muss Blut transportiert und gelagert werden. In den letzten 50 Jahren wurde durch Weiterentwicklung der Lagerungslösung, der Lagerungsbeutel und der Verarbeitungsabläufe das Überleben der gelagerten Erythrozyten verdoppelt, sodass aktuelle Erythrozytenkonzentrate bei 2 bis 6°C je nach Verfahren zwischen 28 bis 49 Tage gelagert und transfundiert werden können. In der klinischen Routine beträgt die maximale Lagerungszeit meistens 42 Tage.⁴⁴ Zur Herstellung der Erythrozytenkonzentrate wird nach der Blutspende das Plasma entfernt und durch Filterungsverfahren die Leukozytenzahl auf unter 10^6 pro Konserve gesenkt. Anschließend werden die Erythrozyten dann in einer leicht hypertonen Lösung aus Natrium, Adenin, Glucose und Mannitol gelagert. Als Maßstab gilt, dass sich 24 Stunden nach der Transfusion mindestens 75% der transfundierten Erythrozyten noch im Blutkreislauf des Empfängers befinden müssen⁴⁵ und der Anteil der hämolysierten Erythrozyten am Ende der Lagerungszeit bei $< 0,8\%$ ^{44, 45} der gesamten Erythrozytenmasse liegen muss.

Als Ursachen negativer Effekte, die durch die Gabe von älteren Erythrozytenkonzentraten entstehen, werden Lagerungsschäden, sog. „Storage Lesions“, in Verbindung mit bioaktiven proinflammatorischen Substanzen diskutiert.

Bei den Storage Lesions handelt es sich um strukturelle Veränderungen der Erythrozyten und biochemische Veränderungen innerhalb der Erythrozytenkonserve. Infolge der Lagerungszeit kommt es bei den Erythrozyten zu einem Verlust von ATP und 2,3-DPG⁴⁶, was zu Veränderungen der Zellmembran, verminderter Verformbarkeit der Erythrozyten und einer geringeren peripheren Sauerstoffabgabe führt.⁴⁷ Somit verringert sich die Erythrozytenvitalität und -funktion. Durch die eingeschränkte

Erythrozytenfunktion steigen das extrazelluläre Lactat und Kalium an, während der pH-Wert abfällt. In dem Erythrozytenkonzentrat steigt durch die vermehrte Hämolyse der Gehalt an freiem Hämoglobin und Eisen. Des Weiteren entstehen bei der Lagerung durch oxidative Schäden Hyperoxid-Radikale und die Konzentration des Antioxidans Glutathion sinkt. Dadurch kommt es zur Phospholipidlipolyse, Lipidperoxidation und dem Abbau von Kohlenhydraten und Proteinen.⁴⁸

Aktuelle Studien zeigen, dass während der Lagerung die proinflammatorischen Mediatoren IL-1 α , CXCL-1, MIP-1 α und MIP-2⁴⁹ und MCP-1⁵⁰ in den Erythrozytenkonzentraten ansteigen.

1.7 Lagerungszeit der Erythrozytenkonzentrate in Bezug auf klinisches Outcome der Patienten

Die Lagerungszeit der Erythrozytenkonzentrate ist ein unabhängiger Risikofaktor für Morbidität und Mortalität bei kritisch kranken Patienten.^{43, 51-53}

Koch et al. zeigten, dass die Transfusion von alten Konserven (> 14 Tage) im Vergleich zu frischen Konserven (\leq 14 Tage) ein unabhängiger Risikofaktor für längere Intubationszeiten, das Auftreten einer Sepsis, Nierenversagen, Multiorganversagen sowie Krankenhausmortalität und Langzeitmortalität ist.⁵¹ Das Alter des Erythrozytenkonzentrats (\geq 14 Tage) beeinflusst auch bei Kindern die Wahrscheinlichkeit eines Multiorganversagens und die Intensivliegezeit.^{54, 55} Ebenfalls wurde bei Neugeborenen und Säuglingen, die unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine operiert wurden, gezeigt, dass die Lagerungszeit des Erythrozytenkonzentrats (> 4 Tage) pulmonale Komplikationen, akutes Nierenversagen und postoperative Infektionen begünstigt.⁵⁶

In tierexperimentellen Studien mit Mäusen waren nach der Transfusion von 14 Tage, bzw. 15 Tage gelagertem Blut im Vergleich zu frischem Blut die proinflammatorischen Zytokine IL-6, CXCL-1 und MCP-1 sowie IL-1 α , MIP-1 α und MIP-2 signifikant erhöht.^{49, 57} Wenn diese proinflammatorischen Effekte beim Menschen ebenso auftreten, könnten sie im Zusammenhang mit der erhöhten Morbidität und Mortalität bei der Transfusion von älteren Erythrozytenkonzentraten stehen.

1.8 Waschvorgang von Erythrozytenkonzentraten

In der klinischen Routine wird intraoperativ abgesaugtes Wundsekret aufgefangen und mittels eines Autotransfusionssystems maschinell aufgearbeitet (=gewaschen) und als gewaschene Erythrozytensuspension retransfundiert.⁵⁸

Darüber hinaus sind gewaschene Erythrozytenkonzentrate bei Patienten mit transfusionsrelevanten IgA-Antikörpern oder Antikörpern gegen andere Plasmaproteine und Patienten, bei denen wiederholt nicht-hämolytische Transfusionsreaktionen aufgetreten sind, indiziert.⁵⁸ Auch für Neugeborene und intrauterine Transfusionen sowie Patienten mit Niereninsuffizienz kann wegen des Risikos der Hyperkaliämie die Indikation für gewaschene Erythrozytenkonzentrate gestellt werden.⁵⁹

Der Waschvorgang erfolgt mit isotoner Kochsalzlösung. Hierbei werden durch Zentrifugation unerwünschte Bestandteile wie Stabilisatorlösung, Substanzen aus Lagerungsschäden, restliche Spenderproteine und Spenderleukozyten von den Erythrozyten separiert und entfernt, sowie die Konzentrationen von Kalium, Eisen und Laktat gesenkt.⁶⁰

In einer tierexperimentellen Studie bei Mäusen konnte gezeigt werden, dass durch die Gabe gewaschener im Vergleich zu ungewaschenen Erythrozytenkonzentrate der Anstieg von IL-1 α , CXCL-1, MIP-1 α und MIP-2 im Serum signifikant reduziert wird.⁴⁹

1.9 Ziel der Studie

Die Gabe von Erythrozytenkonzentraten führt zu immunologischen Veränderungen^{36, 39-42} und gilt als unabhängiger Risikofaktor für ein schlechteres klinisches Outcome¹⁰⁻¹². Die Lagerungszeit der Blutkonserven scheint diesen Effekt zu verstärken.^{43, 51-55} Aus diesem Grund ist es wichtig, die immunologischen Reaktionen auf Erythrozytenkonzentrate zu verringern und damit die Verträglichkeit von Fremdblutgaben zu erhöhen. Dies führt zu einem besseren klinischen Outcome der Patienten.

In der klinischen Routine des Deutschen Herzzentrums Berlin (DHZB) werden für Kinder möglichst frische Erythrozytenkonzentrate verwendet. Nur in Ausnahmefällen wie akuten Notfallsituationen oder mangelndem Angebot der entsprechenden Blutgruppenkonstellation werden ältere Konserven gegeben.

In der vorliegenden pädiatrisch prospektiv randomisierten Studie wird die Immunreaktion und Verträglichkeit einer Patientenkohorte, die mit ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten behandelt wurde, mit einer Patientenkohorte, die mit gewaschenen Erythrozytenkonzentraten behandelt wurde, verglichen. Die Hypothese der Studie ist, dass durch einen Waschvorgang der Erythrozytenkonzentrate klinisch und laborchemisch beobachtbare Immunreaktionen nach Erythrozytengabe abgeschwächt werden können.

Folgende Fragestellungen werden hierbei untersucht:

1. Welchen Einfluss hat die Gabe von Erythrozytenkonzentraten auf klinische, laborchemische und immunologische Parameter bei Kindern mit einem angeborenen Herzfehler?
2. Wird durch einen Waschvorgang des Erythrozytenkonzentrats die Verträglichkeit verbessert?

2 Methoden

2.1 Studiendesign

Die vorliegende klinische Studie wurde prospektiv randomisiert durchgeführt. Insgesamt sollten 48 Kinder in die Studie eingeschlossen werden. Um die Einflüsse auf den Körper und das Immunsystem durch Transfusionen mit ungewaschenen und gewaschenen Erythrozytenkonzentraten vergleichen zu können, wurden die Studienteilnehmer in zwei verschiedene Gruppen eingeteilt. Je nach randomisierter Gruppenzugehörigkeit erhielten sie entweder ein ungewaschenes oder ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat.

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin am 25.02.2009 positiv begutachtet.

2.2 Patientenkollektiv

2.2.1 Einschlusskriterien

In die Studie eingeschlossen wurden Säuglinge und Kinder, die unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine operiert wurden und bei denen postoperativ die Indikation zur Bluttransfusion gestellt wurde. Die Patienten waren zwischen einem Monat und 15 Jahren alt. Des Weiteren musste der Transfusionszeitpunkt mindestens sechs Stunden nach Operationsende liegen, um den Einfluss der Herz-Lungen-Maschine und eine mögliche Interaktion mit Narkose- und Betäubungsmitteln zu verringern. Jedes Kind konnte bis zu zweimal in die Studie eingeschlossen werden.

2.2.2 Ausschlusskriterien

Nicht in die Studie eingeschlossen wurden Säuglinge und Kinder mit akuter Blutung als Transfusionsindikation. Weitere Ausschlusskriterien waren die Therapie mit Immunsuppressiva (z.B. nach Herztransplantation), angeborene Immundefekte, die gleichzeitige Gabe von Gefrierplasma- bzw. Thrombozytenkonzentraten, bestehende extrakorporale Membranoxygenierung und die fehlende Einverständniserklärung der Eltern, bzw. der gesetzlichen Vertreter.

2.2.3 Abbruchkriterien

Die Studienteilnahme wurde abgebrochen, wenn der Patient innerhalb von 24 Stunden retransfundiert werden musste, bei Notfalloperationen, Reanimationen und Infektion innerhalb des zu untersuchenden Zeitraums.

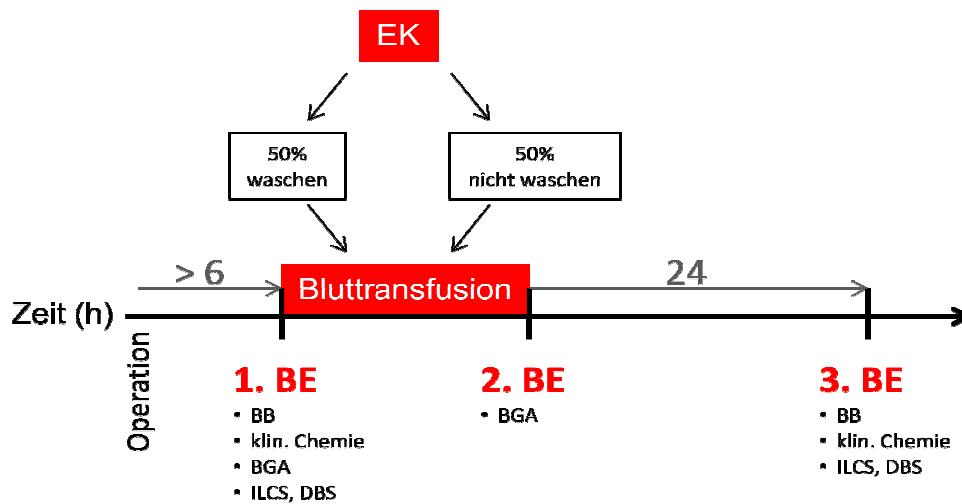
2.3 Studienablauf

Die Rekrutierung der Studienteilnehmer erfolgte im Rahmen der stationären Behandlung im DHZB. Durch die zuständigen Stationsärzte wurden nach den Standards der Abteilung für Angeborene Herzfehler / Kinderkardiologie die Indikation zur Bluttransfusion gestellt und die Eltern aufgeklärt. Nach Vorstellung der Studie durch den Studienleiter oder Studienarzt und Einwilligung der Eltern an der Studienteilnahme wurde randomisiert festgelegt, ob das Kind ein ungewaschenes oder gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt.

Der Waschvorgang des Erythrozytenkonzentrats fand mittels des Autotransfusionssystems Electa (Sorin Group, Mailand, Italien) statt, der routinemäßig in der Anästhesiologie und Intensivmedizin bei Operationen eingesetzt wird. Der Waschvorgang erfolgte mit NaCl 0,9 %.

Vor der Transfusion wurde sowohl aus den gewaschenen als auch aus den ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten je 1 mL Blut zur Blutgasanalyse entnommen.

Den Studienteilnehmern wurden während Routineblutentnahmen vor und 24 Stunden nach Transfusionsbeginn aus einem bereits liegenden venösen Zugang 5 mL Blut entnommen. Aus der Blutentnahme wurden ein Blutbild, Elektrolyte, Entzündungsparameter, Leber- und Nierenretentionswerte bestimmt. Des Weiteren erfolgte eine Zytokinkonzentrationsbestimmung mittels Dry Blood Spots (DBS) (zwei Blutstropfen pro Feld) und der Instant Leukocyte Culture Systems (ILCS) (1 mL pro Analyse) (siehe 2.5 und 2.6). Zusätzlich wurde aus der venösen Blutentnahme vor der Transfusion, sowie sechs Stunden nach Transfusionsbeginn eine Probe zur Blutgasanalyse entnommen. Die klinischen Parameter Blutdruck, Herzfrequenz und Temperatur wurden vor Transfusion sowie 24 Stunden nach Transfusionsbeginn dokumentiert.



EK=Erythrozytenkonzentrat, BE=Blutentnahme, BB=Blutbild, klin. Chemie=klinische Chemie, BGA=Blutgasanalyse, ILCS=Instant Leukozyte Culture System, DBS=Dry Blood Spots

Abbildung 1: Studienablauf

Die Blutgasanalysen aus den Proben des Erythrozytenkonzentrats und des Patientenblutes wurden an dem Analysegerät auf der Intensivstation des DHZB durchgeführt (ABL800 Basic, Radiometer Medical, Kopenhagen, Dänemark). Die laborchemischen Parameter wurden im Zentrallabor des DHZB bestimmt.

2.4 Botenstoffe

Zur Charakterisierung der immunologischen Reaktion auf die Bluttransfusion mit ungewaschenen und gewaschenen Erythrozytenkonzentraten wurden die in Tabelle 2 aufgelisteten und beschriebenen Botenstoffe analysiert.

Tabelle 2: Analyierte Zytokine und ihre biologischen Funktionen.⁶¹

Zytokin	Eigenschaft	Biologische Funktion
IL-1 α	Interleukin	Interleukin-1 α (IL-1 α) ist ein proinflammatorisches Zytokin, das von Monozyten, Makrophagen, Keratinozyten und Endothelzellen produziert wird. Es führt zu einer Ausschüttung von IL-2, stimuliert die B-Zell-Differenzierung und die Produktion von Prostaglandinen und Kollagen in Fibroblasten und Synovialzellen.
IL-1 β	Interleukin	Interleukin-1 β (IL-1 β) ist ein proinflammatorisches Zytokin, das von Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen sezerniert wird. Es bindet an den selben Rezeptor wie IL-1 α und hat die gleichen biologischen Eigenschaften.
IL-6	Interleukin	Interleukin-6 (IL-6) ist ein pleiotropes Zytokin, das die Immun- und Inflammationsreaktionen reguliert. Es wird von Monozyten, T-Zellen, Fibroblasten, Endothelzellen und Keratinozyten produziert. IL-6 stimuliert die B-Zell-Differenzierung, die Antikörperproduktion, die Bildung von Thrombozyten und des Akute-Phase-Proteins.
IL-8	Chemokin	Interleukin-8 (IL-8) ist ein proinflammatorisches Chemokin, das von Monozyten und Endothelzellen sezerniert wird. Es aktiviert neutrophile Granulozyten.
IL-10	Interleukin	Interleukin-10 (IL-10) ist ein antiinflammatorisches Zytokin, das von Makrophagen, Monozyten, T-Zellen, B-Zellen und Keratinozyten produziert wird. Es inhibiert die Expression der proinflammatorischen Zytokine IL-1, TNF- α .
IL-17A	Interleukin	Interleukin-17A (IL-17A) wird von aktivierten T-Zellen gebildet und induziert die Produktion von proinflammatorischen Molekülen.
IP-10	Chemokin	γ -Interferon Inducible Protein 10 (IP-10) wird nach Kontakt mit INF γ von Monozyten und Makrophagen sowie in geringerem Maße von Endothelzellen produziert. Es ist selektiv chemotaktisch für Th1-Lymphozyten und Monozyten und inhibiert die Zytokin-stimulierte hämatopoetische Zellproliferation. Zusätzlich hemmt IP-10 die Angiogenese und erhöht die Expression verschiedener Adhäsionsmoleküle auf Endothelzellen.
MCP-1	Chemokin	Monocyte Chemotracant Protein-1 (MCP-1) wird von Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen sezerniert. Es ist chemotaktisch und aktiviert Monozyten, T-Zellen, basophile Granulozyten, NK-Zellen und dendritische Zellen.
TARC	Chemokin	Thymus and Activation Regulated Chemokin (TARC) wird von dendritischen Zellen des Thymus produziert. Es ist chemotaktisch für T-Zellen.
INF- γ	Interferon	Interferon- γ (INF- γ) wird von CD4- und CD8-T-Lymphozyten produziert und aktiviert NK-Zellen.
TNF- α	Tumornekrosefaktor	Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) ist ein proinflammatorisches Zytokin, das von Adipozyten, Monozyten, Makrophagen, B-Zellen, T-Zellen und Fibroblasten produziert wird. Es ist zytotoxisch für Tumorzellen und essentiell bei der Immunreaktion gegen bakterielle Infektionen. Des Weiteren spielt es eine Rolle bei Autoimmunerkrankungen, rheumatoider Arthritis und Diabetes.
GP-VI	Kollagenrezeptor	Glycoprotein VI (GP-VI) ist ein Kollagenrezeptor auf humanen Thrombozyten. Es kann eine Thrombozytenaggregation und die Entstehung von Thromben induzieren.
PDGF AB/BB	Wachstumsfaktor	Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) tritt in Dimeren auf, durch eine Disulfidbrücke verbunden. PDGF wirkt mitogen auf diverse Zellen, darunter glatte Muskelzellen, Bindegewebszellen und einige Blutzellen. Es wird in α -Granulozyten der Thrombozyten gelagert und bei Thrombozytenaktivierung freigesetzt. PDGF ist in vielzähligen biologischen Prozessen wie Hyperplasie, Chemotaxis und Zellproliferation beteiligt.

2.5 Zytokinanalyse mittels Dry Blood Spots

Die Methode der Dry Blood Spots wurde gewählt, um die absolut ausgeschütteten Zytokinkonzentrationen der Blutprobe zum Entnahmezeitpunkt zu bestimmen.

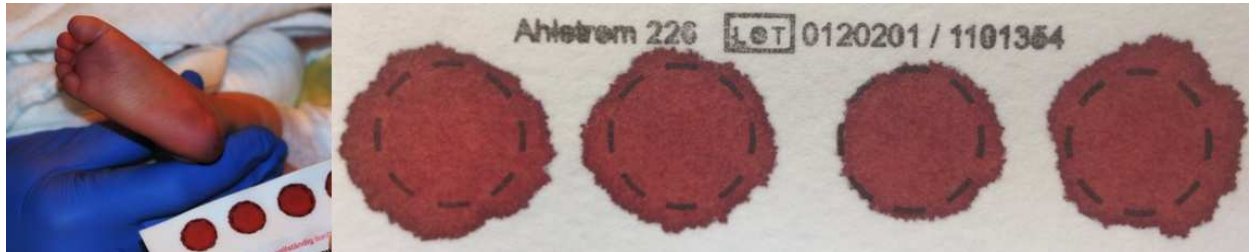


Abbildung 2: Filterkarte vom Neugeborenen-Screening (Quelle: eigenes Bild)

Es wurden jeweils zwei Blutstropfen auf insgesamt vier vorgegebene Felder einer Filterkarte, wie sie beim Neugeborenen-Screening verwendet wird, getropft und über 24 Stunden getrocknet. Anschließend wurde die Filterkarte eingeschweißt und bis zur Zytokinanalyse bei -80 °C eingefroren (siehe 2.7).

2.6 Zytokinanalyse mittels Instant Leukocyte Culture System

Die speziell angefertigten Stimulationsröhrchen des Instant Leukocyte Culture System (ILCS) wurden von der EDI GmbH (Reutlingen, Deutschland) bezogen. Sie enthalten Zellkulturmedium, Heparin als Antikoagulans und Lipopolysaccharide (LPS) als Stimulans. Die Analyse der Zytokine erfolgt im Vollblut. Durch die Stimulierung mit LPS im ILCS-Röhrchen wird die Reaktion von Leukozyten auf entzündungsrelevante Stimuli und die damit verbundene Freisetzung von Botenstoffen *in vitro* untersucht.⁶²

Zu den Entnahmezeitpunkten vor und 24 Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe wurde 1 mL Blut in ein ILCS-Röhrchen gefüllt. Das Vollblut wurde bei 37 °C inkubiert, nach 24 Stunden die Reaktion mittels eines Stempels abgestoppt und der Serumüberstand in ein Eppendorfgefäß aliquotiert. Anschließend wurden die Proben bis zur Zytokinanalyse bei -80 °C eingefroren.

Die entnommenen Proben der Dry Blood Spots und des ILCS wurden an das Natural and Medical Sciences Institute (Dr. Nicole Schneiderhan-Marra, Markwiesenstraße 55 in 72770 Reutlingen) geschickt und dort mittels Luminex-Technologie hinsichtlich ihrer Zytokinexpression untersucht (siehe 2.7).

2.7 Luminextechnologie

Bei der Luminextechnologie werden multiplex Bead-basierte, quantitative Immunoassays durchgeführt. Der Vorteil der Methode liegt zum einen darin, dass durch einen simultanen Ansatz aus geringen Probenvolumina eine hohe Anzahl von Proteinen detektiert werden kann und zum anderen kann durch die Verwendung zweier unterschiedlicher Laser gleichzeitig eine qualitative und eine quantitative Analyse durchgeführt werden.⁶³ Die Basis der Luminextechnologie bilden Polystyrolkugeln (Beads), die als Mikrosphären dienen. Jedes dieser Beads ist mit einem roten und infraroten Fluoreszenzfarbstoff in verschiedenen Anteilen gefärbt. Durch die Kombination der beiden Fluoreszenzfarbstoffe in jeweils unterschiedlichen Konzentrationen entstehen 100 unterschiedliche Beads. In einem zweiten Schritt wird dieser Bead-Mix mit der zu untersuchenden Probe inkubiert. Die Analyten werden über Fängerantikörper an bestimmte Beads gebunden und in einem weiteren Schritt an Biotin-gelabelte Detektionsantikörper und Streptavidin-Phycoerythrin konjugiert, das im Wellenlängenbereich des grünen Lichts emittiert. Anschließend erfolgt die Detektion und Quantifizierung der Analyten mittels Durchflusszytometrie, bei der zwei verschiedene Laser eingesetzt werden. Der rote Laser (633 nm) detektiert durch die unterschiedliche Farbcodierung die Bead-Sorte. Der grüne Laser (532 nm) misst die Intensität des emittierten Lichts und dient der Bestimmung der Analytenmenge.⁶⁴

Für die Immunoassays wurde ein Miliplex Zytokin-Kit (MPXHCYTO-60K, Millipore, Billerica, MA, USA) verwendet. Die Messung der Zytokinkonzentrationen erfolgte mit dem Luminex 100/200 (Luminex Corp, Austin, TX, USA) nach dem Protokoll des Herstellers.

2.8 Studiendokumentation

Von allen Patienten wurden zeitnah die Stammdaten, die gemessenen Vital- und laborchemischen Parameter, die Werte der venösen Blutgasanalysen sowie die Zytokinkonzentrationen der Proben in einer Excel-Datenbank erfasst. Des Weiteren wurden der Zeitpunkt und die Menge der Erythrozytenkonzentratgabe, mögliche Transfusionskomplikationen und Eigenschaften des Erythrozytenkonzentrats dokumentiert.

2.9 Statistische Analyse

Die erhobenen Daten wurden pseudonymisiert aus der Excel-Datenbank in die Statistikprogramme PRISM (GraphPad Prism Version 4.03, San Diego, USA) und SPSS (IBM SPSS Statistics 20 für Windows, Armonk, USA) exportiert.

Der Vergleich der Werte vor Transfusionsbeginn mit den Werten nach der Erythrozytenkonzentratgabe innerhalb der Patientenkohorten erfolgte mittels Wilcoxon-Test, der bei nicht-normalverteilten, abhängigen Stichproben eingesetzt wird.

Zum Vergleich der beiden randomisierten Gruppen wurden die Werte aus den Blutgasanalysen und Laborbestimmungen sowie die Vitalparameter nach der Erythrozytenkonzentratgabe mittels Mann-Whitney-U-Test verglichen. Der Mann-Whitney-U-Test wurde gewählt, da es sich um einen nicht-parametrischen Test handelt, der bei nicht-normalverteilten, unabhängigen Stichproben eingesetzt wird. Die Unterschiede in den Blutgasanalysen der ungewaschenen und gewaschenen Erythrozytenkonzentrate wurden ebenfalls mittels Mann-Whitney-U-Test analysiert.

Die Werte der Zytokin Konzentrationsanalyse vor Transfusionsbeginn und 24 Stunden nach Transfusionsbeginn wurden in ein prozentuales Verhältnis gesetzt, da die Ausgangswerte eine große Variabilität aufwiesen. Anschließend wurde die relative Änderung in Prozent zwischen der ungewaschenen und gewaschenen Gruppe ebenfalls mittels Mann-Whitney-U-Test miteinander verglichen.

Bei allen statistischen Analysen wurde ein p-Wert $< 0,05$ als signifikant betrachtet.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Das gesamte Patientenkollektiv bestand aus 48 Studienteilnehmern, die im Zeitraum vom 16.09.2009 bis zum 13.05.2011 in die Studie eingeschlossen wurden. Drei Patienten wurden bei der statistischen Analyse nicht berücksichtigt, da bei einem Studienteilnehmer eine Reanimation und bei zwei anderen eine Retransfusion stattfanden, sodass in diesen Fällen ein Abbruchkriterium erfüllt war. Vier Mädchen und sechs Jungen erhielten je zweimal zu unterschiedlichen Zeitpunkten eine Erythrozytenkonzentratgabe, wurden zweimal in die Studie eingeschlossen und bei der statistischen Analyse wie zwei Studienteilnehmer gewertet. Die analysierten Erythrozytenkonzentratgaben wurden in 22 Fällen bei weiblichen und in 23 Fällen bei männlichen Patienten durchgeführt.

Auf den Transfusionszeitpunkt bezogen lag das mediane Lebensalter bei 5,0 Monaten, das mediane Körpergewicht betrug 5,0 kg und die mediane Körpergröße 62,5 cm. Von den 45 Studienteilnehmern hatten 22 Kinder einen zyanotischen Herzfehler. Die demographischen Daten der beiden randomisierten Gruppen sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Demographische Daten (angegeben mit Median und Interquartilsabstand oder absoluter Anzahl).

	Gruppe mit ungewaschenem EK (n=23)	Gruppe mit gewaschenem EK (n=22)
Geschlecht (m/f)	13 / 10	10 / 12
feminin (%)	43	55
Alter (Monate)		
Median	5,5	4,8
Interquartilsabstand	3,3 - 8,8	3,6 - 16,4
Körpergewicht (kg)		
Median	5,0	5,2
Interquartilsabstand	4,4 - 7,2	4,3 - 10,6
Körperlänge (cm)		
Median	62,5	63,0
Interquartilsabstand	58,5 - 70,3	59,5 - 87,0
Zyanose (ja/nein)	11 / 12	11 / 11
Zyanose (%)	48	50

3.2 Charakterisierung der transfundierten Erythrozytenkonzentrate

Zum Zeitpunkt der Transfusion lag das mediane Alter aller transfundierten Erythrozytenkonzentrate bei 8 Tagen und das mediane transfundierte Volumen betrug 100 mL, bzw. 17,8 mL/kg Körpergewicht. Die Charakterisierung der Erythrozytenkonzentrate innerhalb der randomisierten Gruppen sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Charakterisierung der transfundierten Erythrozytenkonzentrate (angegeben mit Median und Interquartilsabstand oder absoluter Anzahl).

	Gruppe mit ungewaschenem EK (n=23)	Gruppe mit gewaschenem EK (n=22)
Lagerungszeit (Tagen)		
Median	8	9
Interquartilsabstand	6 - 10	6 - 12
Blutgruppe (Anzahl)		
A	7	7
B	4	4
AB	1	0
0	11	11
Transfundiertes Volumen (mL)		
Median	100	110
Interquartilsabstand	75 - 150	75 - 193
Transfundiertes Volumen / Körpergewicht (mL/kg)		
Median	18,8	16,1
Interquartilsabstand	14,9 - 22,9	13,0 - 22,4

3.3 Ausgangsparameter vor Erythrozytenkonzentratgabe

3.3.1 Vitalparameter

Die Werte von systolischem und diastolischem Blutdruck, Herzfrequenz, Temperatur und Sauerstoffsättigung der beiden randomisierten Gruppen sind in Tabelle 5 abgebildet.

Tabelle 5: Vitalparameter der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe (angegeben mit Median und Interquartilsabstand).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK
Blutdruck systolisch (mmHg)	85 (78 - 98)	84 (75 - 96)
Blutdruck diastolisch (mmHg)	44 (39 - 49)	39 (33 - 44)
Herzfrequenz (bpm)	128 (120 - 136)	132 (119 - 151)
Temperatur (°C)	37,0 (36,7 - 37,3)	37,4 (37,1 - 37,5)
Sauerstoffsättigung (%)	96 (82 - 99)	85 (80 - 97)

3.3.2 Blutgasanalysen

In Tabelle 6 sind die in die beiden randomisierten Gruppen eingeteilten Ausgangswerte der Blutgasanalyse dargestellt.

Tabelle 6: Blutgasanalyse der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe (angegeben mit Median und Interquartilsabstand).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK
pH	7,403 (7,373 - 7,442)	7,419 (7,390 - 7,447)
Kalium (mmol/L)	3,6 (3,4 - 4,1)	4,0 (3,6 - 4,4)
Natrium (mmol/L)	136 (134 - 140)	136 (133 - 139)
Glucose (mg/dL)	110 (97 - 118)	107 (93 - 130)
Baseexcess (mmol/L)	4,4 (0,6 - 7,0)	3,6 (0,8 - 5,2)
Hämoglobin (g/dL)	10,7 (9,8 - 12,4)	11,7 (9,8 - 12,5)
Standardbicarbonat (mmol/L)	27,7 (24,1 - 29,7)	26,8 (24,7 - 28,1)
Sauerstoffsättigung (%)	63,5 (49,9 - 77,9)	60,3 (56,7 - 67,0)

3.3.3 Laborchemische Parameter

Die laborchemischen Parameter eingeteilt in die beiden randomisierten Gruppen sind in Tabelle 7 und Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 7: Laborchemische Parameter der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe (angegeben mit Median und Interquartilsabstand).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK
Leukozyten (K/ μ l)	10,1 (7,0 - 11,7)	9,9 (8,9 - 12,5)
Thrombozyten (M/ μ l)	259 (132 - 356)	266 (111 - 409)
Albumin g/dL	2,8 (2,5 - 3,1)	2,8 (2,5 - 2,9)
Anorganischer Phosphor (mmol/L)	1,4 (1,2 - 1,6)	1,3 (1,2 - 1,6)
Calcium (mmol/L)	2,2 (2,1 - 2,3)	2,3 (2,2 - 2,4)
Chlorid (mmol/L)	103 (98 - 106)	99 (97 - 104)
CK (U/L)	56 (29 - 243)	42 (23 - 273)
CK-MB (U/L)	47 (26 - 84)	24 (21 - 65)
CRP (mg/dL)	2,40 (0,79 - 3,40)	2,90 (1,38 - 7,25)
Glucose (mg/dL)	104 (91 - 112)	114 (94 - 147)
GPT (U/L)	15 (10 - 38)	16 (10 - 33)
Harnstoff (mg/dL)	37,6 (27,6 - 45,6)	27,1 (20,3 - 47,1)
Kalium (mmol/L)	3,8 (3,5 - 4,1)	3,9 (3,4 - 4,6)
Kreatinin (mg/dL)	0,45 (0,42 - 0,48)	0,44 (0,40 - 0,48)
LDH (U/L)	462 (344 - 715)	422 (334 - 639)
Magnesium (mmol/L)	0,95 (0,86 - 1,10)	0,87 (0,74 - 1,00)
Natrium (mmol/L)	140 (137 - 144)	139 (135 - 143)

Tabelle 8: Transfusionsparameter der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe (angegeben mit Median und Interquartilsabstand).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK
Hämoglobin (g/dL)		
Median	10,3	11,6
Interquartilsabstand	8,8 - 11,5	9,8 - 11,8
Hämatokrit (%)		
Median	30,6	32,8
Interquartilsabstand	26,5 - 35,7	28,8 - 35,6
Erythrozytenzahl (/pL)		
Median	3,5	3,7
Interquartilsabstand	2,9 - 4,1	3,3 - 3,9

Die Indikation zur Erythrozytenkonzentratgabe wurde aufgrund des klinischen Verlaufs der operierten Patienten gestellt. Es fällt auf, dass die Medianwerte von Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozytenzahl (fast) im Normbereich liegen. Ursächlich ist der zyanotische Herzfehler vieler Studienteilnehmer. Kinder mit zyanotischem Vitium benötigen aufgrund des erhöhten Anteils von desoxygeniertem Hämoglobin einen höheren Hämoglobinwert. Dieser ist für eine ausreichende Oxygenierung der Endorgane notwendig. Zur genauen Erklärung sind in Tabelle 9 die Ausgangswerte von

Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozytenzahl in Patienten mit und ohne zyanotischem Vitium unterteilt.

Tabelle 9: Vergleich der Transfusionsparameter vor EK-Gabe bei Patienten mit nicht-zyanotischem und zyanotischem Herzfehler (angegeben mit Median und Interquartilsabstand).

	Patienten mit nicht-zyanotischem Herzfehler	Patienten mit zyanotischem Herzfehler
Hämoglobin (g/dL)		
Median	9,4	11,7
Interquartilsabstand	8,2 - 10,3	11,5 - 12,0
Hämatokrit (%)		
Median	28,2	35,3
Interquartilsabstand	24,4 - 31,0	33,3 - 36,2
Erythrozytenzahl (/pL)		
Median	3,3	4,0
Interquartilsabstand	2,7 - 3,5	3,7 - 4,2

3.3.4 Zytokinkonzentrationsanalysen

3.3.4.1 Dry Blood Spots

In Tabelle 10 sind die in den Proben der Dry Blood Spots gemessenen Zytokinkonzentrationen innerhalb der beiden randomisierten Gruppen abgebildet. Alle anderen unter 2.4 aufgeführten Zytokine waren in den Proben nicht detektierbar.

Tabelle 10: Zytokinkonzentrationen gemessen in DBS der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe (angegeben mit Median und Interquartilsabstand).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK
IL-8 (pg/mL)	92 (54 - 147)	200 (101 - 471)
MCP-1 (pg/mL)	110 (66 - 357)	230 (96 - 472)
TARC (pg/mL)	156 (80 - 265)	123 (56 - 504)
GP-VI (pg/mL)	21520 (15123 - 35595)	30447 (19289 - 51576)

3.3.4.2 Instant Leukocyte Culture System

Die vor der Erythrozytenkonzentratgabe gemessenen Zytokinkonzentrationen innerhalb der beiden randomisierten Gruppen sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Zytokinkonzentrationen gemessen in ILCS der randomisierten Patientenkohorten vor EK-Gabe (angegeben mit Median und Interquartilsabstand).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK
IL-1 α (pg/mL)	56 (19 - 113)	81 (33 - 137)
IL-1 β (pg/mL)	508 (261 - 911)	1010 (676 - 2190)
IL-6 (pg/mL)	21200 (11682 - 24754)	30796 (17345 - 50624)
IL-8 (pg/mL)	21289 (12720 - 28548)	33750 (19208 - 57428)
IL-10 (pg/mL)	77 (52 - 163)	134 (56 - 188)
IL-17A (pg/mL)	62 (27 - 203)	106 (63 - 230)
IP-10 (pg/mL)	324 (206 - 685)	552 (261 - 848)
MCP-1 (pg/mL)	3717 (1405 - 7287)	6874 (3818 - 10787)
TARC (pg/mL)	106 (58 - 222)	131 (57 - 160)
INF γ (pg/mL)	23 (9 - 162)	70 (19 - 366)
TNF- α (pg/mL)	3720 (1464 - 7154)	5387 (3545 - 10402)
GP-VI (pg/mL)	35873 (27549 - 65139)	41883 (24531 - 69931)
PDGF AB/BB (pg/mL)	4825 (3860 - 10525)	7530 (4067 - 11469)

3.4 Wascheffekt auf die Erythrozytenkonzentrate mittels Autotransfusionssystem

Der Vergleich zwischen den Blutgasanalysen der ungewaschenen mit den gewaschenen Erythrozytenkonzentraten erbrachte signifikante Unterschiede in Bezug auf die Konzentrationen von Hämoglobin, Kalium, Natrium und Glucose. Hinsichtlich des pH-Werts zeigte sich dagegen keine Signifikanz (Tabelle 12). Nach dem Waschvorgang des Erythrozytenkonzentrats mittels Autotransfusionssystem wurden annähernd physiologische Konzentrationen von Kalium und Natrium gemessen. Dagegen zeigten die ungewaschenen Erythrozytenkonzentrate eine deutlich erhöhte Kaliumkonzentration und eine erniedrigte Natriumkonzentration. Die Glucosekonzentration der Erythrozytenkonzentrate konnte durch den Waschvorgang signifikant reduziert werden. In den gewaschenen Erythrozytenkonzentraten war die Hämoglobinkonzentration signifikant erniedrigt im Vergleich zu den ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten.

Tabelle 12: Vergleich der Blutgasanalysen ungewaschener und gewaschener Erythrozytenkonzentrate (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	ungewaschene EK	gewaschene EK	p-Wert
pH			
Median	6,648	6,671	0,286
Interquartilsabstand	6,617 - 6,690	6,630 - 6,727	
Hämoglobin (g/dL)			
Median	19,9	16,7	< 0,001
Interquartilsabstand	19,0 - 20,5	16,0 - 16,9	
Kalium (mmol/L)			
Median	14,4	0,8	< 0,001
Interquartilsabstand	11,6 - 16,3	0,7 - 0,9	
Natrium (mmol/L)			
Median	97	147	< 0,001
Interquartilsabstand	95 - 100	146 - 148	
Glucose (mg/dL)			
Median	403	48	< 0,001
Interquartilsabstand	387 - 425	26 - 69	

3.5 Einfluss der Transfusion von ungewaschenen und gewaschenen Erythrozytenkonzentraten

Um den Einfluss einer Erythrozytenkonzentratgabe auf den Körper und insbesondere das Immunsystem zu untersuchen, wurden die Werte vor und nach Erythrozytenkonzentratgabe verglichen. In der statistischen Auswertung wurden die beiden Patientenkohorten, die ein ungewaschenes bzw. gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielten, beim Vergleich der Werte vor und nach Erythrozytenkonzentratgabe unabhängig voneinander analysiert.

3.5.1 Vitalparameter

In Bezug auf systolischen und diastolischen Blutdruck, Herzfrequenz, Körpertemperatur und Sauerstoffsättigung wurden in der Patientenkohorte, die ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Werten vor und 24 Stunden nach der Erythrozytenkonzentratgabe nachgewiesen (Tabelle 13).

Tabelle 13: Vitalparameter der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	vor EK-Gabe	24h nach EK-Gabe	p-Wert
Blutdruck systolisch (mmHg)	85 (78 - 98)	96 (85 - 107)	0,088
Blutdruck diastolisch (mmHg)	44 (39 - 49)	50 (39 - 54)	0,069
Herzfrequenz (bpm)	128 (120 - 136)	122 (117 - 133)	0,051
Temperatur (°C)	37,0 (36,7 - 37,3)	37,2 (36,9 - 37,4)	0,320
Sauerstoffsättigung (%)	96 (82 - 99)	95 (86 - 98)	0,087

In der Patientenkohorte, die ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, war der diastolische Blutdruck nach der Erythrozytenkonzentratgabe signifikant erhöht ($p=0,001$). In Bezug auf systolischen Blutdruck, Herzfrequenz, Körpertemperatur und Sauerstoffsättigung waren keine signifikanten Unterschiede nachweisbar (Tabelle 14).

Tabelle 14: Vitalparameter der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	vor EK-Gabe	24h nach EK-Gabe	p-Wert
Blutdruck systolisch (mmHg)	84 (75 - 96)	91 (86 - 98)	0,089
Blutdruck diastolisch (mmHg)	39 (33 - 44)	43 (37 - 51)	0,001
Herzfrequenz (bpm)	132 (119 - 151)	125 (119 - 139)	0,067
Temperatur (°C)	37,4 (37,1 - 37,5)	37,1 (36,9 - 37,5)	0,458
Sauerstoffsättigung (%)	85 (80 - 97)	89 (80 - 98)	0,537

3.5.2 Blutgasanalysen

Aus Blutentnahmen der Studienteilnehmer vor und sechs Stunden nach der Erythrozytenkonzentratgabe wurden Blutgasanalysen durchgeführt.

Nach der Erythrozytenkonzentratgabe zeigte sich in der mit einem ungewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte im Vergleich zu den Ausgangswerten ein signifikanter Anstieg von Hämoglobin ($p=0,001$) und der Sauerstoffsättigung ($p=0,019$). Des Weiteren ließ sich ein signifikanter Unterschied der Natriumkonzentration beobachten ($p=0,019$). Tabelle 15 zeigt die Werte der Kohorte, die ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, vor und sechs Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe.

Tabelle 15: Blutgasanalyse der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 6h nach EK-Gabe (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	vor EK-Gabe	6h nach EK-Gabe	p-Wert
pH	7,403 (7,373 - 7,442)	7,418 (7,392 - 7,454)	0,185
Kalium (mmol/L)	3,6 (3,4 - 4,1)	3,7 (3,3 - 3,8)	0,190
Natrium (mmol/L)	136 (134 - 140)	135 (133 - 138)	0,019
Glucose (mg/dL)	110 (97 - 118)	103 (92 - 121)	0,695
Baseexcess (mmol/L)	4,4 (0,6 - 7,0)	4,7 (0,6 - 8,1)	0,525
Hämoglobin (g/dL)	10,7 (9,8 - 12,4)	13,8 (12,5 - 14,6)	0,001
Standardbicarbonat (mmol/L)	27,7 (24,1 - 29,7)	27,4 (24,3 - 30,2)	0,421
Sauerstoffsättigung (%)	63,5 (49,9 - 77,9)	69,0 (58,8 - 78,9)	0,019

Die Patientenkohorte, die ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, wies nach der Erythrozytenkonzentratgabe ebenfalls einen signifikanten Anstieg von Hämoglobin ($p < 0,001$) und der Sauerstoffsättigung ($p = 0,019$) auf. Des Weiteren ließ sich ein signifikanter Unterschied des Standardbicarbonats ($p = 0,028$) beobachten. In Bezug auf die anderen Werte der Blutgasanalyse zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Werten vor und sechs Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe (Tabelle 16).

Tabelle 16: Blutgasanalyse der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 6h nach EK-Gabe (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	vor EK-Gabe	6h nach EK-Gabe	p-Wert
pH	7,419 (7,390 - 7,447)	7,407 (7,385 - 7,437)	0,363
Kalium (mmol/L)	4,0 (3,6 - 4,4)	3,9 (3,5 - 4,2)	0,295
Natrium (mmol/L)	136 (133 - 139)	135 (132 - 137)	0,155
Glucose (mg/dL)	107 (93 - 130)	108 (94 - 133)	0,858
Baseexcess (mmol/L)	3,6 (0,8 - 5,2)	2,6 (0,5 - 5,1)	0,060
Hämoglobin (g/dL)	11,7 (9,8 - 12,5)	14,4 (12,9 - 14,8)	$< 0,001$
Standardbicarbonat (mmol/L)	26,8 (24,7 - 28,1)	25,7 (24,2 - 27,2)	0,028
Sauerstoffsättigung (%)	60,3 (56,7 - 67,0)	74,1 (58,9 - 80,3)	0,011

3.5.3 Laborchemische Parameter

Die laborchemischen Parameter der transfusionspflichtigen Patienten wurden vor und 24 Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe gemessen.

Bei den Studienteilnehmern, die ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielten, waren 24 Stunden nach der Erythrozytenkonzentratgabe die Creatinkinase ($p = 0,007$) und das CRP ($p = 0,042$) signifikant erniedrigt, während Albumin ($p = 0,007$) und Calcium ($p = 0,001$) signifikant erhöht waren. Bei den anderen in Tabelle 17 aufgeführten

laborchemischen Parametern ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Werten vor und 24 Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe.

Tabelle 17: Laborchemische Parameter der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	vor EK-Gabe	24h nach EK-Gabe	p-Wert
Leukozyten (K/ μ l)	10,1 (7,0 - 11,7)	9,0 (7,4 - 11,6)	0,795
Thrombozyten (M/ μ l)	259 (132 - 356)	240 (154 - 326)	0,408
Albumin g/dL	2,8 (2,5 - 3,1)	2,9 (2,6 - 3,3)	0,007
Anorganischer Phosphor (mmol/L)	1,4 (1,2 - 1,6)	1,4 (1,1 - 1,5)	0,079
Calcium (mmol/L)	2,2 (2,1 - 2,3)	2,4 (2,2 - 2,4)	0,001
Chlorid (mmol/L)	103 (98 - 106)	100 (96 - 105)	0,249
CK (U/L)	56 (29 - 243)	46 (29 - 170)	0,007
CK-MB (U/L)	47 (26 - 84)	45 (22 - 125)	0,376
CRP (mg/dL)	2,40 (0,79 - 3,40)	1,50 (0,80 - 3,23)	0,042
Glucose (mg/dL)	104 (91 - 112)	111 (89 - 117)	0,904
GPT (U/L)	15 (10 - 38)	16 (10 - 37)	0,683
Harnstoff (mg/dL)	37,6 (27,6 - 45,6)	30,6 (22,0 - 46,1)	0,063
Kalium (mmol/L)	3,8 (3,5 - 4,1)	4,0 (3,8 - 4,3)	0,398
Kreatinin (mg/dL)	0,45 (0,42 - 0,48)	0,46 (0,40 - 0,49)	0,073
LDH (U/L)	462 (344 - 715)	482 (355 - 825)	0,286
Magnesium (mmol/L)	0,95 (0,86 - 1,10)	0,93 (0,83 - 1,08)	0,537
Natrium (mmol/L)	140 (137 - 144)	139 (136 - 142)	0,182

Nach der Erythrozytenkonzentratgabe zeigte sich in der mit einem gewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte im Vergleich zu den Ausgangswerten ebenfalls eine signifikante Reduktion des CRP ($p=0,003$) sowie der Leukozyten ($p=0,049$) und Thrombozyten ($p=0,016$). Bei den anderen in Tabelle 18 aufgeführten laborchemischen Parametern waren keine signifikanten Unterschiede nachweisbar.

Tabelle 18: Laborchemische Parameter der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	vor EK-Gabe	24h nach EK-Gabe	p-Wert
Leukozyten (K/ μ l)	9,9 (8,9 - 12,5)	9,3 (7,6 - 11,4)	0,049
Thrombozyten (M/ μ l)	266 (111 - 409)	228 (139 - 330)	0,016
Albumin g/dL	2,8 (2,5 - 2,9)	2,8 (2,5 - 2,9)	0,498
Anorganischer Phosphor (mmol/L)	1,3 (1,2 - 1,6)	1,4 (1,1 - 1,7)	0,913
Calcium (mmol/L)	2,3 (2,2 - 2,4)	2,4 (2,2 - 2,5)	0,368
Chlorid (mmol/L)	99 (97 - 104)	101 (96 - 104)	0,776
CK (U/L)	42 (23 - 273)	43 (23 - 148)	0,356
CK-MB (U/L)	24 (21 - 65)	30 (23 - 45)	0,589
CRP (mg/dL)	2,90 (1,38 - 7,25)	2,10 (1,23 - 5,73)	0,003
Glucose (mg/dL)	114 (94 - 147)	101 (95 - 141)	0,627
GPT (U/L)	16 (10 - 33)	16 (10 - 34)	0,801
Harnstoff (mg/dL)	27,1 (20,3 - 47,1)	29,3 (19,2 - 49,7)	0,795
Kalium (mmol/L)	3,9 (3,4 - 4,6)	4,1 (3,7 - 4,4)	0,776
Kreatinin (mg/dL)	0,44 (0,40 - 0,48)	0,40 (0,36 - 0,46)	0,210
LDH (U/L)	422 (334 - 639)	456 (344 - 613)	0,651
Magnesium (mmol/L)	0,87 (0,74 - 1,00)	0,86 (0,79 - 1,00)	0,360
Natrium (mmol/L)	139 (135 - 143)	139 (134 - 144)	0,925

In der Patientenkohorte, die mit einem ungewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelt wurde, waren 24 Stunden nach der Transfusion des Erythrozytenkonzentrats Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozytenzahl signifikant erhöht (Abbildung 3).

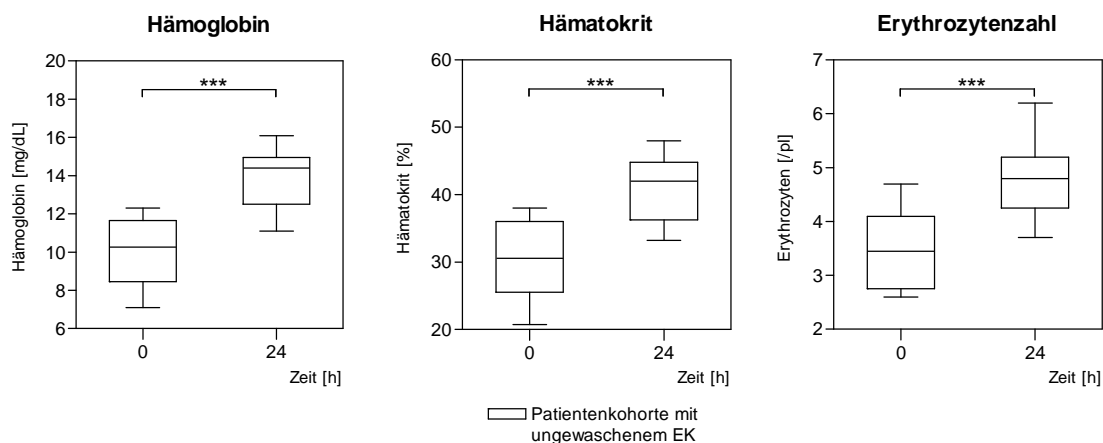


Abbildung 3: Transfusionsparameter in der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24 Stunden nach EK-Gabe. Signifikanter Anstieg von Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozytenzahl nach 24 Stunden. Die Graphiken zeigen Median, Interquartilsabstand sowie Minimal- und Maximalwerte. *** < 0,001, ** < 0,01 und * < 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

Der mediane Hämoglobinwert stieg von 10,3 mg/dL (Interquartilsabstand 8,8 - 11,5) auf 14,4 mg/dL (Interquartilsabstand 12,6 - 14,9), der Hämatokrit von 30,6% (Interquartilsabstand 26,5 - 35,7), auf 42,1% (Interquartilsabstand 36,8 - 44,5) und die

Erythrozyten von 3,5/pL (Interquartilsabstand 2,9 - 4,1) auf 4,8/pL (Interquartilsabstand 4,3 - 5,2).

Die mit einem gewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelte Patientenkohorte wies 24 Stunden nach der Erythrozytenkonzentratgabe ebenfalls einen signifikanten Anstieg von Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozytenzahl auf (Abbildung 4).

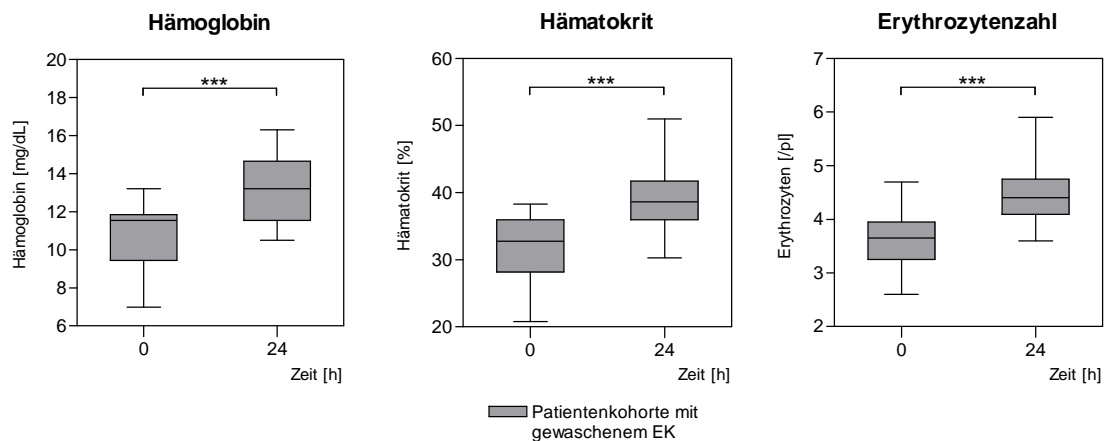


Abbildung 4: Transfusionsparameter in der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24 Stunden nach EK-Gabe. Signifikanter Anstieg von Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozytenzahl nach 24 Stunden. Die Graphiken zeigen Median, Interquartilsabstand sowie Minimal- und Maximalwerte. *** $< 0,001$, ** $< 0,01$ und * $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant gewertet.

Der mediane Hämoglobinwert stieg von 11,6 mg/dL (Interquartilsabstand 9,8 - 11,8) auf 13,2 mg/dL (Interquartilsabstand 11,8 - 14,4), der Hämatokrit von 32,8% (Interquartilsabstand 28,8 - 35,6) auf 38,7% (Interquartilsabstand 36,1 - 41,1) und die Erythrozytenzahl von 3,7/pL (Interquartilsabstand 3,3 - 3,9) auf 4,4/pL (Interquartilsabstand 4,1 - 4,7).

3.5.4 Zytokinkonzentrationsanalysen

3.5.4.1 Dry Blood Spots

In der Patientenkohorte, die ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, zeigten sich in der Zytokinkonzentrationsanalyse aus den Proben der Dry Blood Spots signifikante Unterschiede zwischen den Werten vor und nach Erythrozytenkonzentratgabe. Die Zytokine MCP-1 ($p=0,004$) und TARC ($p=0,043$) waren nach der Erythrozytenkonzentratgabe signifikant erhöht (Abbildung 5). Bei IL-8 und GP-VI zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 19).

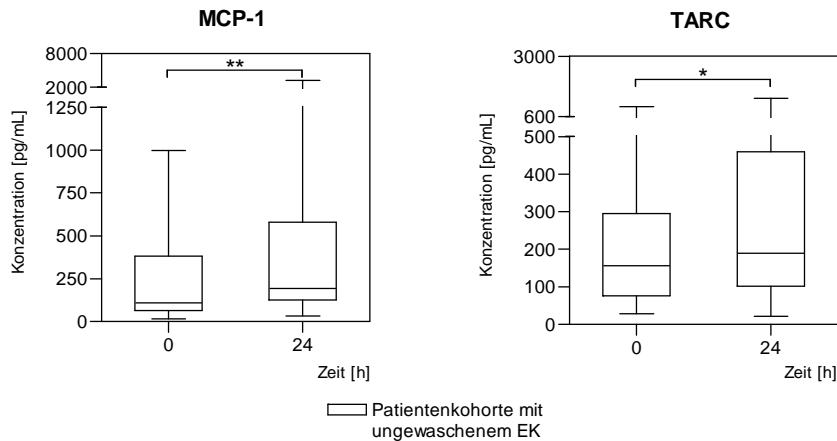


Abbildung 5: MCP-1 und TARC gemessen in DBS der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe. Signifikanter Anstieg von MCP-1 und TARC nach 24 Stunden. Die Graphiken zeigen Median, Interquartilsabstand sowie Minimal- und Maximalwerte. *** < 0,001, ** < 0,01 und * < 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

Tabelle 19: Zytokinkonzentrationen gemessen in DBS der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	vor EK-Gabe	24h nach EK-Gabe	p-Wert
IL-8 (pg/mL)	92 (54 - 147)	104 (40 - 139)	0,709
GP-VI (pg/mL)	21520 (15123 - 35595)	25795 (20681 - 38343)	0,263

Bei dem Vergleich der Zytokinkonzentrationen in der Patientenkohorte, die ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, zeigte sich eine signifikante Reduktion von IL-8 ($p=0,013$) nach der Erythrozytenkonzentratgabe (Abbildung 6). Bei MCP-1, TARC und GP-VI zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Werten vor und nach Erythrozytenkonzentratgabe (Tabelle 20).

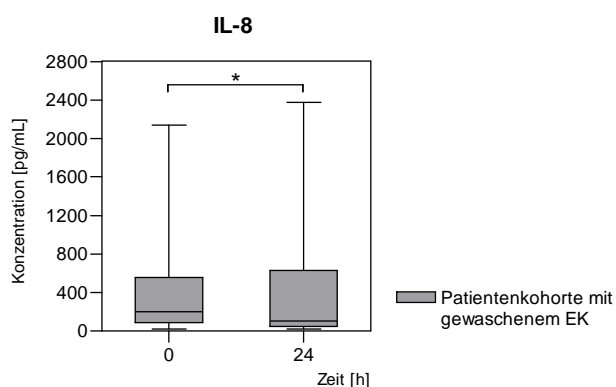


Abbildung 6: IL-8 gemessen in DBS der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe. Signifikanter Anstieg von IL-8 nach 24 Stunden. Die Graphiken zeigen Median, Interquartilsabstand sowie Minimal- und Maximalwerte. *** < 0,001, ** < 0,01 und * < 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

Tabelle 20: Zytokinkonzentrationen gemessen in DBS der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	vor EK-Gabe	24h nach EK-Gabe	p-Wert
MCP-1 (pg/mL)	230 (96 - 472)	281 (122 - 516)	0,125
TARC (pg/mL)	123 (56 - 504)	218 (60 - 360)	0,084
GP-VI (pg/mL)	30447 (19289 - 51576)	23379 (10297 - 38743)	0,063

3.5.4.2 Instant Leukocyte Culture System

In der Patientenkohorte, die ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, zeigten sich bei dem Vergleich der Zytokinkonzentrationen aus den Proben des ILCS ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den Werten vor und nach Erythrozytenkonzentratgabe. Nach der Bluttransfusion waren die Zytokine IL-1 α ($p=0,008$), IL-6 ($p=0,002$), IL-8 ($p=0,005$) und MCP-1 ($p<0,001$) signifikant erhöht (Abbildung 7). Bei den anderen in Tabelle 21 aufgeführten Zytokinen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

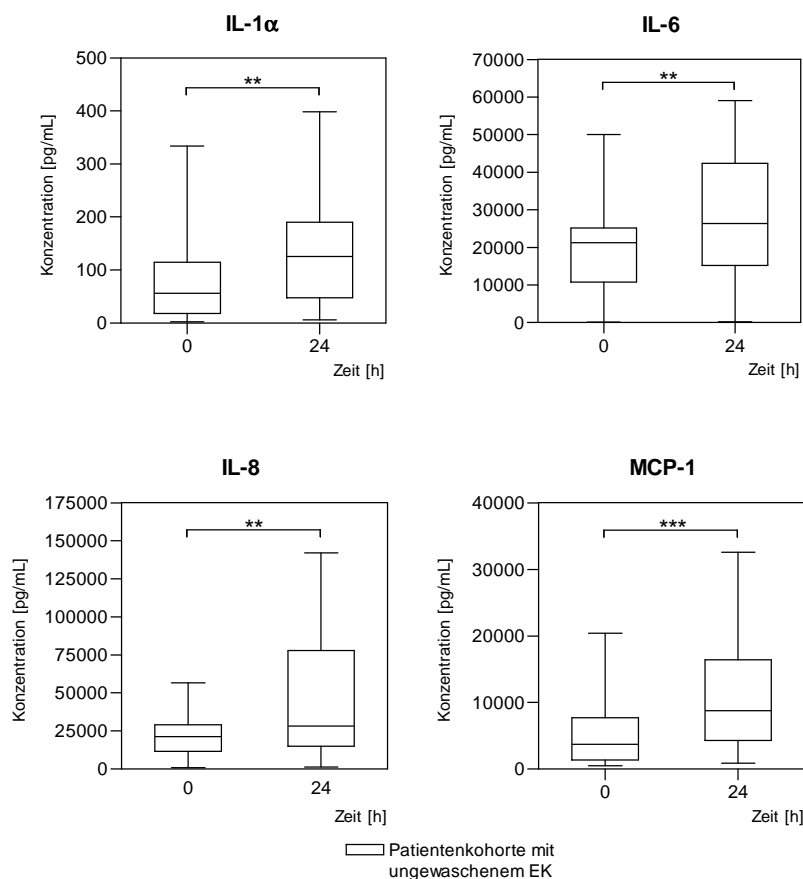


Abbildung 7: IL-1 α , IL-6, IL-8 und MCP-1 gemessen in ILCS der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe. Signifikanter Anstieg von IL-1 α , IL-6, IL-8 und MCP-1 nach 24 Stunden. Die Graphiken zeigen Median, Interquartilsabstand sowie Minimal- und Maximalwerte. *** < 0,001, ** < 0,01 und * < 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

Tabelle 21: Zytokinkonzentrationen gemessen in ILCS der Kohorte behandelt mit ungewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	vor EK-Gabe	24h nach EK-Gabe	p-Wert
IL-1 β (pg/mL)	508 (261 - 911)	790 (427 - 1444)	0,100
IL-10 (pg/mL)	77 (52 - 163)	115 (75 - 154)	0,108
IL-17A (pg/mL)	62 (27 - 203)	154 (27 - 214)	0,398
IP-10 (pg/mL)	324 (206 - 685)	339 (257 - 496)	0,794
TARC (pg/mL)	106 (58 - 222)	116 (71 - 168)	0,520
INF γ (pg/mL)	23 (9 - 162)	43 (14 - 288)	0,100
TNF- α (pg/mL)	3720 (1464 - 7154)	3787 (2095 - 8190)	0,526
GP-VI (pg/mL)	35873 (27549 - 65139)	43492 (28433 - 68772)	0,986
PDGF AB/BB (pg/mL)	4825 (3860 - 10525)	6830 (4700 - 9296)	0,765

In der Patientenkohorte, die ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Zytokinkonzentrationen vor und nach Erythrozytenkonzentratgabe (Tabelle 22).

Tabelle 22: Zytokinkonzentrationen gemessen in ILCS der Kohorte behandelt mit gewaschenem EK vor und 24h nach EK-Gabe (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	vor EK-Gabe	24h nach EK-Gabe	p-Wert
IL-1 α (pg/mL)	81 (33 - 137)	112 (75 - 181)	0,082
IL-1 β (pg/mL)	1010 (676 - 2190)	1663 (900 - 2683)	0,223
IL-6 (pg/mL)	30796 (17345 - 50624)	32991 (20261 - 50000)	0,794
IL-8 (pg/mL)	33750 (19208 - 57428)	32457 (20077 - 69766)	0,592
IL-10 (pg/mL)	134 (56 - 188)	131 (68 - 180)	0,673
IL-17A (pg/mL)	106 (63 - 230)	106 (60 - 220)	0,795
IP-10 (pg/mL)	552 (261 - 848)	761 (283 - 1942)	0,765
MCP-1 (pg/mL)	6874 (3818 - 10787)	7067 (6254 - 9804)	0,223
TARC (pg/mL)	131 (57 - 160)	116 (43 - 191)	0,837
INF γ (pg/mL)	70 (19 - 366)	76 (24 - 311)	0,487
TNF- α (pg/mL)	5387 (3545 - 10402)	4518 (2222 - 12100)	0,733
GP-VI (pg/mL)	41883 (24531 - 69931)	36296 (24475 - 75165)	0,709
PDGF AB/BB (pg/mL)	7530 (4067 - 11469)	6428 (3151 - 10014)	0,306

3.6 Vergleich der randomisierten Patientenkohorten behandelt mit ungewaschenen vs gewaschenen Erythrozytenkonzentraten

3.6.1 Vitalparameter

Bei dem Vergleich der beiden randomisierten Gruppen zeigten sich 24 Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf systolischen und diastolischen Blutdruck, Herzfrequenz, Körpertemperatur und Sauerstoffsättigung (Tabelle 23).

Tabelle 23: Vergleich der Vitalparameter 24h nach EK-Gabe zwischen den beiden randomisierten Gruppen (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK	p-Wert
Blutdruck systolisch (mmHg)	96 (85 - 107)	91 (86 - 98)	0,517
Blutdruck diastolisch (mmHg)	50 (39 - 54)	43 (37 - 51)	0,345
Herzfrequenz (bpm)	122 (117 - 133)	125 (119 - 139)	0,363
Temperatur (°C)	37,2 (36,9 - 37,4)	37,1 (36,9 - 37,5)	0,875
Sauerstoffsättigung (%)	95 (86 - 98)	89 (80 - 98)	0,295

3.6.2 Blutgasanalysen

Bei den Werten aus der Blutgasanalyse sechs Stunden nach Beginn der Erythrozytenkonzentratgabe ergaben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen der Patientenkohorte, die ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, und der Patientenkohorte, die ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt (Tabelle 24).

Tabelle 24: Vergleich der Blutgasanalysen 6h nach EK-Gabe zwischen den beiden randomisierten Gruppen (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK	p-Wert
pH	7,418 (7,392 - 7,454)	7,407 (7,385 - 7,437)	0,442
Kalium (mmol/L)	3,7 (3,3 - 3,8)	3,9 (3,5 - 4,2)	0,123
Natrium (mmol/L)	135 (133 - 138)	135 (132 - 137)	0,613
Glucose (mg/dL)	103 (92 - 121)	108 (94 - 133)	0,571
Baseexcess (mmol/L)	4,7 (0,6 - 8,1)	2,6 (0,5 - 5,1)	0,222
Hämoglobin (g/dL)	13,8 (12,5 - 14,6)	14,4 (12,9 - 14,8)	0,413
Standardbicarbonat (mmol/L)	27,4 (24,3 - 30,2)	25,7 (24,2 - 27,2)	0,208
Sauerstoffsättigung (%)	69,0 (58,8 - 78,9)	74,1 (58,9 - 80,3)	0,840

3.6.3 Laborchemische Parameter

Bei dem Vergleich der in Tabelle 25 aufgeführten laborchemischen Parameter wurden zwischen den beiden randomisierten Gruppen 24 Stunden nach Erythrozytengabe keine signifikanten Unterschiede beobachtet.

Tabelle 25: Vergleich der laborchemischen Parameter 24h nach EK-Gabe zwischen den beiden randomisierten Gruppen (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK	p-Wert
Leukozyten (K/ μ l)	9,0 (7,4 - 11,6)	9,3 (7,6 - 11,4)	0,656
Thrombozyten (M/ μ l)	240 (154 - 326)	228 (139 - 330)	0,888
Albumin g/dL	2,9 (2,6 - 3,3)	2,8 (2,5 - 2,9)	0,090
Anorganischer Phosphor (mmol/L)	1,4 (1,1 - 1,5)	1,4 (1,1 - 1,7)	0,673
Calcium (mmol/L)	2,4 (2,2 - 2,4)	2,4 (2,2 - 2,5)	0,892
Chlorid (mmol/L)	100 (96 - 105)	101 (96 - 104)	0,817
CK (U/L)	46 (29 - 170)	43 (23 - 148)	0,766
CK-MB (U/L)	45 (22 - 125)	30 (23 - 45)	0,261
CRP (mg/dL)	1,50 (0,80 - 3,23)	2,10 (1,23 - 5,73)	0,130
Glucose (mg/dL)	111 (89 - 117)	101 (95 - 141)	0,555
GPT (U/L)	16 (10 - 37)	16 (10 - 34)	0,920
Harnstoff (mg/dL)	30,6 (22,0 - 46,1)	29,3 (19,2 - 49,7)	0,846
Kalium (mmol/L)	4,0 (3,8 - 4,3)	4,1 (3,7 - 4,4)	0,709
Kreatinin (mg/dL)	0,46 (0,40 - 0,49)	0,40 (0,36 - 0,46)	0,184
LDH (U/L)	482 (355 - 825)	456 (344 - 613)	0,725
Magnesium (mmol/L)	0,93 (0,83 - 1,08)	0,86 (0,79 - 1,00)	0,436
Natrium (mmol/L)	139 (136 - 142)	139 (134 - 144)	0,861

Auch bei Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozytenzahl zeigten sich nach der Erythrozytenkonzentratgabe keine signifikanten Unterschiede zwischen der Patientenkohorte behandelt mit gewaschenem und der Patientenkohorte behandelt mit ungewaschenen Erythrozytenkonzentrat (Tabelle 26).

Tabelle 26: Vergleich der Transfusionsparameter 24h nach EK-Gabe zwischen den beiden randomisierten Gruppen (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK	p-Wert
Hämoglobin (mg/dL)	14,4 (12,6 - 14,9)	13,2 (11,8 - 14,4)	0,192
Hämatokrit (%)	42,1 (36,8 - 44,5)	38,7 (36,1 - 41,1)	0,152
Erythrozyten (/pL)	4,8 (4,3 - 5,2)	4,4 (4,1 - 4,7)	0,102

3.6.4 Zytokinkonzentrationsanalysen

3.6.4.1 Dry Blood Spots

Vor und 24 Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe wurden Blutstropfen auf Filterkarten gesammelt. Diese wurden anschließend analysiert. Die 24 Stundenwerte der einzelnen Proben wurden jeweils in Relation zu dem Ausgangswert vor der Transfusion gesetzt und als relative Änderung in % angegeben. Bei dem Vergleich der relativen Änderungen zwischen den beiden randomisierten Gruppen ergaben sich

signifikante Unterschiede bei den Zytokinen MCP-1 und GP-VI. Die Patientenkohorte, die ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, hatte einen signifikant niedrigeren Anstieg der Zytokinkonzentrationen von MCP-1 ($p=0,017$) und GP-VI ($p=0,009$) im Vergleich zu der Patientenkohorte, welche ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt (Abbildung 8). Bei den Zytokinen IL-8 und TARC zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 27).

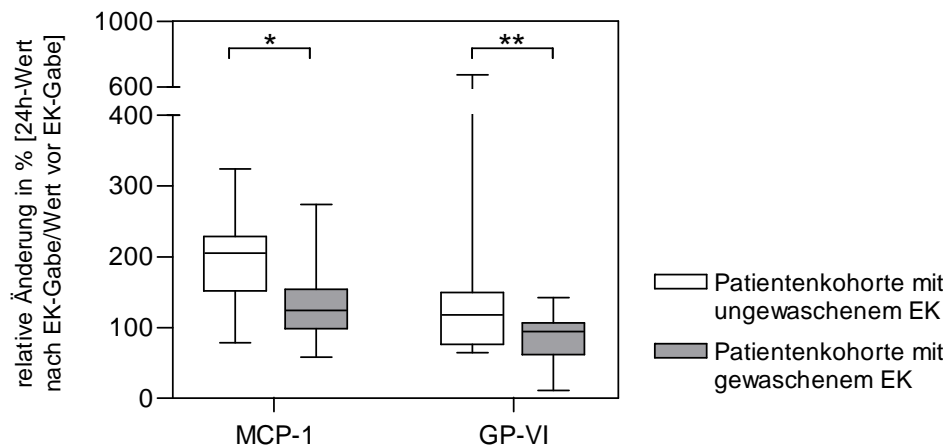


Abbildung 8: Vergleich der relativen Änderung von MCP-1 und GP-VI gemessen in DBS zwischen den beiden randomisierten Gruppen (gewaschene versus ungewaschene Erythrozytenkonzentrate). Signifikante Reduktion des prozentualen Anstiegs von MCP-1 und GP-VI im Patientenkollektiv, welches ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, verglichen mit dem Patientenkollektiv, das ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt. Die Graphik zeigt Median, Interquartilsabstand sowie Minimal- und Maximalwerte.*** $< 0,001$, ** $< 0,01$ und * $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant gewertet.

Tabelle 27: Vergleich der relativen Änderung der Zytokinkonzentrationen gemessen in DBS zwischen den beiden randomisierten Gruppen (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK	p-Wert
Relative Änderung IL-8 (%)	85 (63 - 139)	122 (88 - 154)	0,274
Relative Änderung TARC (%)	81 (61 - 97)	91 (66 - 116)	0,103

3.6.4.2 Instant Leukocyte Culture System

Die Zytokinkonzentrationen der Probevolumina aus dem Instant Leukocyte Culture System wurden ebenfalls vor und 24 Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe gemessen. Dabei zeigten sich bei dem Vergleich der relativen Änderung signifikante Unterschiede zwischen den beiden randomisierten Patientenkohorten bei den Zytokinen IL-6, IL-8 und MCP-1. Die Patientenkohorte, die ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, hatte einen signifikant niedrigeren Anstieg der Zytokinkonzentrationen von IL-6 ($p=0,016$), IL-8 ($p=0,044$) und MCP-1 ($p=0,001$) im

Vergleich zu der Patientenkohorte, welche ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt (Abbildung 9). Bei den restlichen Zytokinen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 28).

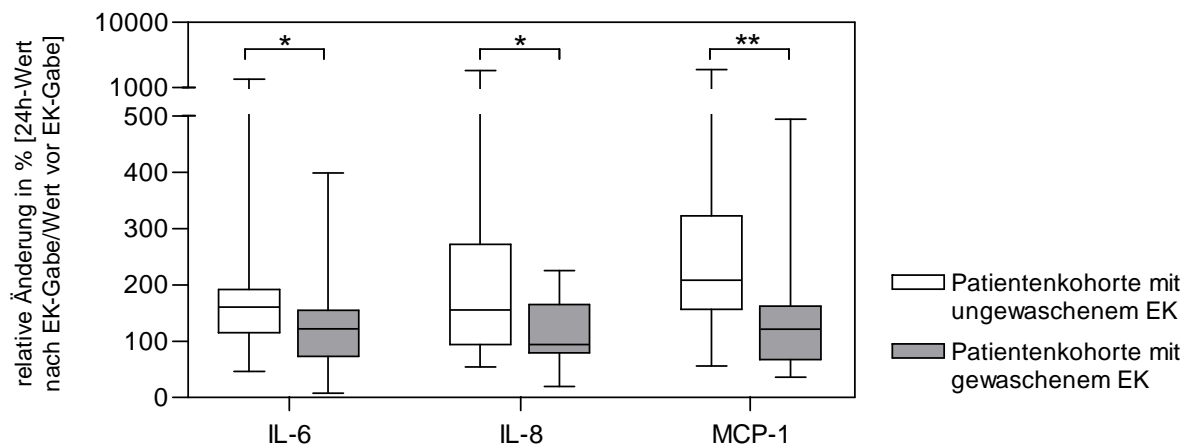


Abbildung 9: Vergleich der relativen Änderung von IL-6, IL-8 und MCP-1 gemessen in ILCS zwischen den beiden randomisierten Gruppen (gewaschene versus ungewaschene Erythrozytenkonzentrate). Signifikante Reduktion des prozentualen Anstiegs von IL-6, IL-8 und MCP-1 im Patientenkollektiv, welches ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, verglichen mit dem Patientenkollektiv, das ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt. Die Graphik zeigt Median, Interquartilsabstand sowie Minimal- und Maximalwerte. *** < 0,001, ** < 0,01 und * < 0,05 wurde als statistisch signifikant gewertet.

Tabelle 28: Vergleich der relativen Änderung der Zytokinkonzentrationen gemessen in ILCS zwischen den beiden randomisierten Gruppen (angegeben mit Median, Interquartilsabstand und p-Wert).

	Gruppe mit ungewaschenem EK	Gruppe mit gewaschenem EK	p-Wert
Relative Änderung IL-1 α (%)	156 (88 - 274)	181 (89 - 230)	0,743
Relative Änderung IL-1 β (%)	124 (95 - 254)	163 (78 - 234)	0,940
Relative Änderung IL-10 (%)	122 (101 - 294)	108 (61 - 202)	0,237
Relative Änderung IL-17A (%)	138 (80 - 241)	109 (80 - 148)	0,284
Relative Änderung IP-10 (%)	112 (69 - 200)	105 (77 - 173)	0,835
Relative Änderung TARC (%)	108 (75 - 130)	95 (77 - 121)	0,839
Relative Änderung INF γ (%)	164 (82 - 258)	123 (56 - 206)	0,351
Relative Änderung TNF- α (%)	107 (77 - 189)	123 (58 - 184)	0,650
Relative Änderung GP-VI (%)	104 (83 - 121)	101 (70 - 120)	0,697
Relative Änderung PDGFAB/BB (%)	91 (84 - 131)	90 (70 - 112)	0,450

4 Diskussion

Bluttransfusionen sind im klinischen Alltag insbesondere bei schwerkranken Patienten häufig notwendig. Bei großen operativen Eingriffen, nach Traumata sowie bei hämatoonkologischen Erkrankungen ist die Erythrozytenkonzentratgabe oft unvermeidbar.⁵ Andererseits führen Bluttransfusionen zu immunologischen Veränderungen³⁹⁻⁴¹ und haben einen negativen Effekt in Bezug auf Morbidität und Mortalität sowohl bei kritisch kranken adulten Patienten¹⁰ als auch bei pädiatrischen Patienten^{11, 12, 36, 42}.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, bei Kindern mit angeborenem Herzfehler die klinische Auswirkung und immunologische Reaktion durch die Gabe von Erythrozytenkonzentraten zu untersuchen und einen Unterschied zwischen der Transfusion von ungewaschenen und gewaschenen Erythrozytenkonzentraten zu analysieren.

4.1 Wascheffekt auf die Erythrozytenkonzentrate mittels Autotransfusionssystem

Nach dem Waschvorgang der Erythrozytenkonzentrate waren deutliche Veränderungen in der Zusammensetzung der Erythrozytenkonzentrate zu sehen. Dabei konnten in den gewaschenen Erythrozytenkonzentraten die vor allem bei länger gelagerten Konserven deutlich erhöhten Kalium- und Glucosekonzentrationen gesenkt werden. Durch den Waschvorgang sank jedoch auch die Hämoglobinkonzentration im Erythrozytenkonzentrat. Dies lässt sich zum einen durch die Entfernung von Zelldebris erklären, zum anderen wird ein kleiner Teil der Erythrozyten zerstört und zusätzlich entsteht ein leichter Verdünnungseffekt durch das Waschen mit Kochsalzlösung. Letzteres führte auch zu einem Anstieg der Natriumkonzentration innerhalb des physiologischen Bereiches.

In der aktuellen Literatur findet sich eine Studie von de Vroege et al.⁶⁰, die die Veränderungen innerhalb des Erythrozytenkonzentrats durch einen Waschvorgang untersucht hat. Analog zu der vorliegenden Studie waren in den gewaschenen Erythrozytenkonzentraten die Konzentrationen von Kalium und Glucose signifikant erniedrigt und die von Natrium erhöht. Die Hämoglobinkonzentration in der Studie von de Vroege et al. war in den gewaschenen Erythrozytenkonzentraten nicht erniedrigt,

aber es gab einen Hämoglobinverlust von 15%. Das entspricht der um ca. 16% gesunkenen Hämoglobinkonzentration in der vorliegenden Studie, die durch den bei kleineren Blutvolumina größer ausfallenden Verdünnungseffekt bedingt wird.

In der vorliegenden Studie wurde die Kaliumkonzentration bei den Kindern durch die Gabe eines einzelnen Erythrozytenkonzentrats nicht gesteigert, jedoch können ungewaschene Erythrozytenkonzentrate insbesondere bei der Transfusion von mehreren Erythrozytenkonzentraten zu einer Hyperkaliämie führen, die kardiale Arrhythmien bis hin zu Kammerflimmern auszulösen vermag.⁶⁵

4.2 Einfluss der Transfusion von ungewaschenen und gewaschenen Erythrozytenkonzentraten

Das mediane transfundierte Volumen in der mit einem ungewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte lag bei 100 mL und in der mit einem gewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte bei 110 mL. Durch die Transfusion stiegen Hämoglobinwert, Hämatokrit und Erythrozytenzahl in beiden randomisierten Patientenkohorten signifikant an. Bei den Vitalparametern zeigten sich in der Patientenkohorte, die ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, keine signifikanten Unterschiede vor und nach der Erythrozytenkonzentratgabe. In der mit einem gewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte war lediglich der diastolische Blutdruck nach der Transfusion erhöht, bei den übrigen gemessenen Vitalparametern konnte kein signifikanter Unterschied bei dem Vergleich der Werte vor und nach Erythrozytenkonzentratgabe beobachtet werden. In beiden Gruppen zeigte sich eine Tendenz zu höheren systolischen und diastolischen Blutdruckwerten und einer gesenkten Herzfrequenzrate im Sinne eines Ausgleichs von Volumendefiziten bei den Patienten. In den venösen Blutgasanalysen zeigten sich in beiden randomisierten Gruppen durch die Erythrozytenkonzentratgabe ebenfalls ein signifikanter Hämoglobinanstieg sowie ein signifikanter Anstieg der Sauerstoffsättigung. Des Weiteren wurde in der mit einem ungewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte eine Reduktion der Natriumkonzentration und in der mit einem gewaschenen Erythrozytenkonzentrat behandelten Patientenkohorte eine Reduktion des Standardbicarbonats beobachtet, die beide klinisch nicht relevant sind.

Bei den laborchemischen Parametern war nach der Erythrozytenkonzentratgabe in beiden randomisierten Gruppen der CRP-Wert erniedrigt. Zusätzlich wurde in der

Patientenkohorte, die ein ungewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, eine Reduktion der Creatinkinase sowie ein dezenter Anstieg des Albumins und des Gesamtcalciums beobachtet und in der Patientenkohorte, die ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, ein Abfall der Leukozyten und Thrombozyten. Da Creatinkinase, CRP, Thrombozyten und Leukozyten während und nach operativen Eingriffen ansteigen und im Zeitraum von Tagen wieder abfallen⁶⁶⁻⁶⁹, ist die Reduktion der Parameter nach 24 Stunden am ehesten im Sinne des postoperativen klinischen Verlaufs zu werten. Eine Veränderung des Albumins und des Gesamtcalciums durch Bluttransfusionen sind bisher nicht beschrieben und der minimale Anstieg in der vorliegenden Studie ohne klinische Relevanz.

In der aktuellen Literatur gibt es kaum vergleichbare pädiatrische Studien. In zwei Studien wurden Unterschiede in den laborchemischen Parametern vor und nach Erythrozytenkonzentratgabe untersucht, jedoch bestand das Patientenkollektiv in beiden Studien aus Frühgeborenen. Dani et al.⁷⁰ und Abdelghaffar et al.⁷¹ beobachteten nach der Bluttransfusion einen Anstieg des pH-Werts und des Sauerstoffpartialdrucks, eine Abnahme der freien Calciumkonzentration, sowie einen Anstieg der Kaliumkonzentration, bzw. einen Zusammenhang zwischen Kaliumgehalt des Erythrozytenkonzentrats und Anstieg der Kaliumkonzentration im Blut der Frühgeborenen. In der vorliegenden Studie kam es zu keinem signifikanten Anstieg des pH-Wertes, allerdings lag der mediane pH-Wert sowohl vor als auch nach Erythrozytenkonzentratgabe im Normbereich, während in den Studien von Dani und Abdelghaffar der mediane pH-Wert vor der Erythrozytenkonzentratgabe erniedrigt war. Generell kommt es durch die Erythrozytenkonzentratgabe insbesondere bei Massentransfusionen eher zu einer azidotischen Veränderung und nicht zu einem Anstieg des pH-Werts. Die Kinder in der vorliegenden Studie waren bei der Gabe von nur einem Erythrozytenkonzentrat in der Lage, dies zu puffern und den pH stabil zu halten.

Trotz erhöhter Kaliumkonzentrationen in den transfundierten Erythrozytenkonzentraten zeigte sich in der vorliegenden Studie kein signifikanter Anstieg der Kaliumkonzentration im Blut der Patienten nach der Bluttransfusion. Es ist jedoch zu beachten, dass es sich bei den Studienteilnehmern um Patienten mit intensivmedizinischer Therapie handelt, deren Kaliumkonzentration im Blut durch die intravenöse Gabe von Furosemid und Kalium modifiziert wurde. Der Anstieg des

Sauerstoffpartialdrucks in der Literatur korreliert mit dem Anstieg der Sauerstoffsättigung in der vorliegenden Studie. Somit war die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten effektiv, um die Sauerstofftransportkapazität im Blut zu erhöhen und bestehende Anämien zu behandeln.

Während sich durch die Erythrozytenkonzentratgabe klinisch keine Effekte im Sinne einer Entzündungsreaktion abbildeten, zeigte sich bei dem Vergleich der Zytokinkonzentrationen vor und nach der Bluttransfusion eine proinflammatorische Reaktion.

Während sich in der Patientenkohorte, die ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielt, außer einem leichten Abfall von IL-8 in den Dry Blood Spots keine signifikanten Unterschiede 24 Stunden nach der Erythrozytenkonzentratgabe zeigten, konnten bei dem Vergleich der Zytokinkonzentrationen vor und 24 Stunden nach der Transfusion signifikante Veränderungen beobachtet werden. In der Analyse der Dry Blood Spots waren nach der Erythrozytenkonzentratgabe die Zytokine TARC und MCP-1 erhöht und bei den Instant Leukocyte Culture Systemen ebenfalls MCP-1 sowie IL-1 α , IL-6 und IL-8. Die Interleukine IL-1 α und IL-6 sowie die Chemokine IL-8, MCP-1 und TARC sind Mediatoren des unspezifischen Immunsystems und wirken proinflammatorisch. Zytokine vermögen die Inflammationsreaktion sensitiver als Leukozyten oder das CRP abzubilden, da sie schneller synthetisiert werden und schnell hohe Spitzenwerte erreichen, aber gleichzeitig bei Halbwertszeiten im Minutenbereich auch zügig wieder abgebaut werden. So kommt es zum Beispiel bei operativen Eingriffen schon während der Operation zu einem Anstieg der Zytokinkonzentrationen, die postoperativ innerhalb von einem Tag wieder abfallen.⁷²⁻⁷⁴

Andere aktuelle Studien konnten ebenfalls einen immunmodulatorischen Effekt durch die Gabe von Erythrozytenkonzentraten nachweisen. Senay et al.⁷⁵ publizierten, dass die intraoperative Erythrozytenkonzentratgabe bei erwachsenen Patienten, die unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine operiert wurden, zu erhöhten Konzentrationen von IL-6 und TNF- α im Sinne einer proinflammatorischen Reaktion führt. Keir et al.⁴² beobachteten bei Frühgeborenen ebenfalls eine Proinflammation durch die Bluttransfusion. Nach der Erythrozytenkonzentratgabe waren neben IL-1 β und TNF- α auch IL-8 und MCP-1 wie in der vorliegenden Studie angestiegen.

Es bleibt allerdings bis heute weiterhin unklar, was genau diesen proinflammatorischen Effekt bei der Erythrozytenkonzentratgabe auslöst. Jedoch könnte dieser Effekt dafür verantwortlich sein, dass die Gabe von Erythrozytenkonzentraten ein Risikofaktor für erhöhte Morbidität und Mortalität ist. Insbesondere für IL-6 und auch IL-8 ist in der Literatur mehrfach die Korrelation zwischen erhöhten postoperativen Werten und erhöhter Morbidität und Mortalität beschrieben. Appachi et al.⁷⁶ sahen bei Neugeborenen nach herzchirurgischen Eingriffen unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der inflammatorischen Antwort und dem postoperativen Verlauf sowie der Mortalität. Höhere IL-6-Konzentrationen nach dem operativen Eingriff korrelierten mit längeren Intubationszeiten, längeren Intensivliegezeiten und erhöhter Mortalität. Auch Hauser et al.⁷⁷ fanden bei Kindern einen Zusammenhang zwischen höheren IL-6-Werten nach Operationen unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine und erhöhter Morbidität sowie Mortalität. Zudem zeigten Hövels-Gürich et al.⁷⁸, dass Neugeborene, die nach einer arteriellen Switch-Operation höhere IL-6 und IL-8-Konzentrationen aufwiesen, vermehrt myokardiale Dysfunktionen entwickelten. In einer Studie von Gessler et al.⁷⁹ korrelierten erhöhte IL-6 sowie IL-8-Konzentrationen nach Operationen unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine mit erhöhtem Katecholaminbedarf und längeren Beatmungszeiten.

In der Patientenkohorte der vorliegenden Studie sind proinflammatorische Reaktionen durch die Erythrozytenkonzentratgabe nachweisbar, die jedoch bei der Transfusion von nur einem Erythrozytenkonzentrat und innerhalb der kurzen Nachbeobachtungszeit von 24 Stunden nach der Transfusion keine klinischen Veränderungen der Patienten zeigen. Allerdings haben Studien gezeigt, dass immunologische Veränderungen auf Zellebene eine Auswirkung auf den klinischen Verlauf haben.

4.3 Vergleich der randomisierten Patientenkohorten mit ungewaschenen vs gewaschenen Erythrozytenkonzentraten

Ziel dieser randomisierten Studie war es, zu untersuchen, inwiefern gewaschene Erythrozytenkonzentrate im Vergleich zu ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten die Immunreaktion der Patienten verändern. Bei den Vitalparametern, venösen Blutgasanalysen und laborchemischen Parametern nach der Erythrozytenkonzentratgabe wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden randomisierten Gruppen festgestellt.

Es ist erwähnenswert, dass der Waschvorgang der Erythrozytenkonzentrate zu einem Hämoglobinverlust innerhalb der Konserve geführt hat. Jedoch zeigte sich zwischen den beiden randomisierten Gruppen kein signifikanter Unterschied der Hämoglobinkonzentration und des Hämatokrits nach der Erythrozytenkonzentratgabe. Es scheint, dass durch den Waschvorgang insbesondere die älteren, nicht mehr voll funktionstüchtigen Erythrozyten eliminiert werden, die nach der Transfusion von ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten in der Milz der Patienten phagozytiert werden. So lässt es sich erklären, dass trotz niedriger Hämoglobinkonzentration in den gewaschenen Erythrozytenkonzentraten nach 6 bzw. 24 Stunden keine Unterschiede in Bezug auf die Transfusionsparameter zwischen den beiden randomisierten Kohorten beobachtet werden konnten.

Die Zytokinkonzentrationen im Blut der Studienteilnehmer zeigten bereits vor der Erythrozytenkonzentratgabe eine große Variabilität und spiegeln die individuelle klinische Situation der Kinder wieder. Die Patientenkohorte ist sehr heterogen in Bezug auf Krankheitsbild und Krankheitsverlauf und damit auch in der Aktivierung ihres Immunsystems. Um die immunologische Reaktion auf die Erythrozytenkonzentratgabe vergleichen zu können, wurde die prozentuale Veränderung der Werte vor und nach der Bluttransfusion analysiert. Es konnte gezeigt werden, dass die Transfusion von gewaschen im Vergleich zu ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten einen geringeren Anstieg der proinflammatorischen Zytokinen bei den Kindern bewirkt.

In der Zytokinkonzentrationsanalyse aus den Dry Blood Spots stellte sich ein reduzierter Anstieg von MCP-1 und GP-VI in der Patientenkohorte, die ein gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhalten hat, dar. GP-VI ist ein Glykoprotein, das als thrombozytärer Kollagenrezeptor im Gerinnungsprozess eine Rolle spielt. Es bindet an Kollagenfasern und induziert eine Thrombozytenaktivierung und -aggregation.⁸⁰ In der Analyse der Instant Leukocyte Culture Systeme zeigte sich, dass der Waschvorgang von Erythrozytenkonzentraten zu einem geringeren Anstieg von IL-6, IL-8 und MCP-1 führt.

Cholette et al.⁸¹ untersuchten in einer prospektiven Studie einen möglichen Unterschied der Inflammationsreaktion durch Transfusion von gewaschenen versus ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten bei Kindern während herzchirurgischer Operationen unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine. Analog zu der vorliegenden Studie zeigte sich postoperativ eine geringere Inflammationsreaktion bei den Kindern, die ein

gewaschenes Erythrozytenkonzentrat erhielten: IL-6, das Verhältnis IL-6:IL10 und CRP waren erniedrigt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sowie der Studie von Cholette et al. zeigen, dass das Waschen von Erythrozytenkonzentraten die proinflammatorische Immunreaktion der Kinder nach Erythrozytenkonzentratgabe abschwächt. In Anbetracht der Tatsache, dass die Ausprägung der Proinflammation nach herzchirurgischen Eingriffen mit Morbidität und Mortalität korreliert⁷⁶⁻⁷⁹, könnten auch die erhöhten Zytokinkonzentrationen nach der Transfusion ein Hinweis auf den Einfluss der Erythrozytenkonzentratgabe auf das klinische Outcome sein. Möglicherweise hat die abgeschwächte Proinflammation nach der Transfusion von gewaschenen Erythrozytenkonzentraten einen positiven Einfluss auf den klinischen Verlauf.

4.4 Methodendiskussion

Die vorliegende Studie ist eine prospektive randomisierte pädiatrische Studie, in der der Effekt der Transfusion von ungewaschenen und mittels Autotransfusionssystem gewaschenen Erythrozytenkonzentraten auf die klinische und immunologische Reaktion der Patienten untersucht wurde. In der Literatur gibt es wenig vergleichbare pädiatrische Studien in der Größenordnung, die prospektiv randomisiert durchgeführt wurden.

Hervorzuheben ist, dass durch Luminex-Technologie aus kleinen Blutvolumina viele verschiedene immunologische Parameter bestimmt werden konnten. Dies war insbesondere bei dem geringen Körpergewicht und dem damit verbundenen kleinen Blutvolumen der Studienteilnehmer von großem Interesse. Ein weiterer hervorzuhebender Punkt ist die Anwendung von zwei verschiedenen Methoden zur Zytokinbestimmung. In einer simultanen Analyse wurden zum einen die zum Abnahmezeitpunkt im Vollblut vorhandenen Zytokinkonzentrationen (Methode der Dry Blood Spots) und zum anderen die durch LPS stimulierten Zytokinkonzentrationen des Vollbluts in vitro (Methode der Instant Leukocyte Culture Systems) gemessen.

Als Limitation dieser Studie ist zunächst die geringe Anzahl an Patienten zu nennen. Dies liegt zum einen daran, dass die Indikation zur Erythrozytenkonzentratgabe insbesondere bei pädiatrischen Patienten eng gestellt wird und dadurch nur ein kleines Patientengut zur Verfügung stand, zum anderen waren die Ein- und Ausschlusskriterien

eng definiert, sodass viele Patienten von vornherein nicht in die Studie aufgenommen werden konnten.

Die Blutabnahmen erfolgten direkt vor und 24 Stunden nach Erythrozytenkonzentratgabe. Um die Inflammationsreaktion genauer abzubilden, könnten Zytokinkonzentrationen zusätzlich zu anderen Zeitpunkten untersucht werden. Die Vitalparameter wurden ebenfalls vor der Erythrozytenkonzentratgabe und dann erst wieder nach 24 Stunden dokumentiert. Zur genaueren Analyse der klinischen Reaktion auf die Erythrozytenkonzentratgabe wäre eine Dokumentation der Vitalparameter in kürzeren Zeitintervallen während und direkt nach der Transfusion sinnvoll. Des Weiteren wurde in dieser Studie der klinische Langzeitverlauf in Bezug auf Morbidität und Mortalität nicht nachbeobachtet.

4.5 Fazit und Ausblick

Die vorliegende Studie ist eine prospektive randomisierte pädiatrische Studie, in der der Einfluss der Erythrozytenkonzentratgabe und der Effekt des Waschvorgangs von einem Erythrozytenkonzentrat vor der Transfusion auf die klinische und immunologische Reaktion der Patienten untersucht wurde. In der aktuellen Literatur gibt es wenige vergleichbare Studien.

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die Transfusion von einem Erythrozytenkonzentrat immunologische Veränderungen im Sinne einer proinflammatorischen Reaktion auslöst. Durch einen Waschvorgang des Erythrozytenkonzentrats mittels Autotransfusionssystem kann der Anstieg von proinflammatorischen Zytokinen bei den Kindern reduziert werden. Da in der Literatur mehrfach der Zusammenhang zwischen erhöhten proinflammatorischen Zytokinkonzentrationen im postoperativen Verlauf und erhöhter Morbidität und Mortalität beschrieben ist und die Erythrozytenkonzentratgabe als unabhängiger Risikofaktor für postoperative Komplikationen und Mortalität identifiziert wurde, können die hier beschriebenen proinflammatorischen Veränderungen Auswirkung auf den klinischen Verlauf der Kinder haben.

Die Patienten der vorliegenden Studie erhielten innerhalb des untersuchten Zeitraums jeweils ein Erythrozytenkonzentrat. Die beschriebenen proinflammatorischen Veränderungen können insbesondere bei der Gabe von mehreren Erythrozytenkonzentraten oder Massentransfusionen verstärkt werden und einen direkten Einfluss auf den klinischen Verlauf haben. Inwiefern genau sich diese

immunologischen Veränderungen auf die Morbidität und Mortalität auswirken, und ob die Transfusion von gewaschenen im Vergleich zu ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten das klinische Outcome positiv beeinflussen, bedarf weiterer Studien, die anhand eines größeren Patientenkollektivs den Krankheitsverlauf der Patienten vor allem auch nach der Gabe von mehreren Erythrozytenkonzentraten detaillierter und über einen längeren Zeitraum untersuchen.

5 Literaturverzeichnis

1. Blundell J. Some account of a case of obstinate vomiting in which an attempt was made to prolong life by the injection of blood into the veins. *Med Chir Trans* 1819;10(Pt 2):296-311.
2. Landsteiner K. Ueber Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wien Klin Wochenschr* 1901;14:1132-4.
3. Cohn EJ. The separation of blood into fractions of therapeutic value. *Ann Intern Med* 1947;26:341-52.
4. Dodd RY. Current risk for transfusion transmitted infections. *Curr Opin Hematol* 2007;14:671-6.
5. Blood safety. Key global facts and figures in 2011. Based on WHO Global Database on Blood Safety (GDBS) 2008. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2011. (Accessed May 5, 2012, at http://www.who.int/worldblooddonorday/media/blood_safety_factsheet_2011.pdf).
6. Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, et al. The CRIT Study: Anemia and blood transfusion in the critically ill--current clinical practice in the United States. *Crit Care Med* 2004;32:39-52.
7. Bateman ST, Lacroix J, Boven K, et al. Anemia, blood loss, and blood transfusions in North American children in the intensive care unit. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178:26-33.
8. Morris KP, Naqvi N, Davies P, Smith M, Lee PW. A new formula for blood transfusion volume in the critically ill. *Arch Dis Child* 2005;90:724-8.
9. Slonim AD, Joseph JG, Turenne WM, Sharangpani A, Luban NL. Blood transfusions in children: a multi-institutional analysis of practices and complications. *Transfusion* 2008;48:73-80.
10. Marik PE, Corwin HL. Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: a systematic review of the literature. *Crit Care Med* 2008;36:2667-74.
11. Kneyber MC, Hersi MI, Twisk JW, Markhorst DG, Plotz FB. Red blood cell transfusion in critically ill children is independently associated with increased mortality. *Intensive Care Med* 2007;33:1414-22.
12. Goodman AM, Pollack MM, Patel KM, Luban NL. Pediatric red blood cell transfusions increase resource use. *J Pediatr* 2003;142:123-7.
13. Valieva OA, Strandjord TP, Mayock DE, Juul SE. Effects of transfusions in extremely low birth weight infants: a retrospective study. *J Pediatr* 2009;155:331-37 e1.
14. Debeir J, Noel L, Aullen J, et al. The French haemovigilance system. *Vox Sang* 1999;77:77-81.
15. Gilliss BM, Looney MR, Gropper MA. Reducing noninfectious risks of blood transfusion. *Anesthesiology* 2011;115:635-49.
16. Opelz G, Sengar DP, Mickey MR, Terasaki PI. Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. *Transplant Proc* 1973;5:253-9.
17. Gantt CL. Red blood cells for cancer patients. *Lancet* 1981;2:363.
18. Chung M, Steinmetz OK, Gordon PH. Perioperative blood transfusion and outcome after resection for colorectal carcinoma. *Br J Surg* 1993;80:427-32.
19. Triulzi DJ, Vanek K, Ryan DH, Blumberg N. A clinical and immunologic study of blood transfusion and postoperative bacterial infection in spinal surgery. *Transfusion* 1992;32:517-24.
20. Chelemer SB, Prato BS, Cox PM, Jr., O'Connor GT, Morton JR. Association of bacterial infection and red blood cell transfusion after coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg* 2002;73:138-42.

21. Claridge JA, Sawyer RG, Schulman AM, McLemore EC, Young JS. Blood transfusions correlate with infections in trauma patients in a dose-dependent manner. *Am Surg* 2002;68:566-72.
22. Vamvakas EC, Blajchman MA. Deleterious clinical effects of transfusion-associated immunomodulation: fact or fiction? *Blood* 2001;97:1180-95.
23. Bilgin YM, van de Watering LM, Brand A. Clinical effects of leucoreduction of blood transfusions. *Neth J Med* 2011;69:441-50.
24. Vamvakas EC. White-blood-cell-containing allogeneic blood transfusion and postoperative infection or mortality: an updated meta-analysis. *Vox Sang* 2007;92:224-32.
25. Kleinman S, Chan P, Robillard P. Risks associated with transfusion of cellular blood components in Canada. *Transfus Med Rev* 2003;17:120-62.
26. King KE, Shirey RS, Thoman SK, Bensen-Kennedy D, Tanz WS, Ness PM. Universal leukoreduction decreases the incidence of febrile nonhemolytic transfusion reactions to RBCs. *Transfusion* 2004;44:25-9.
27. Yazer MH, Podlosky L, Clarke G, Nahirniak SM. The effect of prestorage WBC reduction on the rates of febrile nonhemolytic transfusion reactions to platelet concentrates and RBC. *Transfusion* 2004;44:10-5.
28. Hendrickson JE, Hillyer CD. Noninfectious serious hazards of transfusion. *Anesth Analg* 2009;108:759-69.
29. Toy P, Popovsky MA, Abraham E, et al. Transfusion-related acute lung injury: definition and review. *Crit Care Med* 2005;33:721-6.
30. Silliman CC, Ambruso DR, Boshkov LK. Transfusion-related acute lung injury. *Blood* 2005;105:2266-73.
31. Popovsky MA. Transfusion-Related Acute Lung Injury: Incidence, Pathogenesis and the Role of Multicomponent Apheresis in Its Prevention. *Transfus Med Hemother* 2008;35:76-9.
32. Sandler SG, Mallory D, Malamut D, Eckrich R. IgA anaphylactic transfusion reactions. *Transfus Med Rev* 1995;9:1-8.
33. Take H, Tamura J, Sawamura M, et al. Severe anaphylactic transfusion reaction associated with HLA-incompatible platelets. *Br J Haematol* 1993;83:673-4.
34. Lambin P, Le Pennec PY, Hauptmann G, Desaint O, Habibi B, Salmon C. Adverse transfusion reactions associated with a precipitating anti-C4 antibody of anti-Rodgers specificity. *Vox Sang* 1984;47:242-9.
35. Thaler M, Shamiss A, Orgad S, et al. The role of blood from HLA-homozygous donors in fatal transfusion-associated graft-versus-host disease after open-heart surgery. *N Engl J Med* 1989;321:25-8.
36. Miyaji K, Miyamoto T, Kohira S, et al. The influences of red blood cell transfusion on perioperative inflammatory responses using a miniaturized biocompatible bypass with an asanguineous prime. *Int Heart J* 2009;50:581-9.
37. Heinrich PC, Schaper F, Timmermann A, Martens AS, Lehmann U. Endokrine Funktionen II: Zytokine. In: Löffler G, Petrides PE, Hrsg. *Biochemie & Pathobiochemie*. 7. Aufl. Heidelberg, Deutschland: Springer Medizin Verlag, 2003:814-816.
38. Urner M, Herrmann IK, Buddeberg F, et al. Effects of blood products on inflammatory response in endothelial cells in vitro. *PLoS One* 2012;7:e33403.
39. Lee JS, Sperry JL, Ochoa JB, et al. Persistence of elevated plasma CXCL8 concentrations following red blood cell transfusion in a trauma cohort. *Shock* 2012;37:373-7.

40. Milasiene V, Stratilatovas E, Characiejus D, Kazbariene B, Norkiene V. TGF-beta1 and TNF-alpha after red blood cell transfusion in colorectal cancer patients. *Exp Oncol* 2007;29:67-70.
41. Ydy LR, Shhessarenko N, de Aguilar-Nascimento JE. Effect of perioperative allogeneic red blood cell transfusion on the immune-inflammatory response after colorectal cancer resection. *World J Surg* 2007;31:2044-51.
42. Keir AK, McPhee AJ, Andersen CC, Stark MJ. Plasma cytokines and markers of endothelial activation increase after packed red blood cell transfusion in the preterm infant. *Pediatr Res* 2012.
43. Tinmouth A, Fergusson D, Yee IC, Hebert PC. Clinical consequences of red cell storage in the critically ill. *Transfusion* 2006;46:2014-27.
44. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie). Aufgestellt gemäß §§ 12a u. 18 Transfusionsgesetz. Berlin, Deutschland: Vorstand der Bundesärztekammer im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich-Institut, 2010. (Accessed May 5, 2012, at <http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/RiliHaemotherapie2010.pdf>).
45. Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components, 16th Edition. Strasbourg, France: European Committee on Blood Transfusion, 2010. (Accessed May 5, 2012, at http://www.edqm.eu/medias/fichiers/List_of_Contents_Blood_Guide_16th_Edition_2010.pdf).
46. Hogman CF, Meryman HT. Red blood cells intended for transfusion: quality criteria revisited. *Transfusion* 2006;46:137-42.
47. Scott KL, Lecak J, Acker JP. Biopreservation of red blood cells: past, present, and future. *Transfus Med Rev* 2005;19:127-42.
48. Pavenski K, Saidenberg E, Lavoie M, Tokessy M, Branch DR. Red blood cell storage lesions and related transfusion issues: a Canadian Blood Services research and development symposium. *Transfus Med Rev* 2012;26:68-84.
49. Belizaire RM, Makley AT, Campion EM, et al. Resuscitation with washed aged packed red blood cell units decreases the proinflammatory response in mice after hemorrhage. *J Trauma Acute Care Surg* 2012;73:S128-33.
50. Benson DD, Beck AW, Burdine MS, Brekken R, Silliman CC, Barnett CC, Jr. Accumulation of pro-cancer cytokines in the plasma fraction of stored packed red cells. *J Gastrointest Surg* 2012;16:460-8.
51. Koch CG, Li L, Sessler DI, et al. Duration of red-cell storage and complications after cardiac surgery. *N Engl J Med* 2008;358:1229-39.
52. Offner PJ, Moore EE, Biffl WL, Johnson JL, Silliman CC. Increased rate of infection associated with transfusion of old blood after severe injury. *Arch Surg* 2002;137:711-6; discussion 6-7.
53. Wang D, Sun J, Solomon SB, Klein HG, Natanson C. Transfusion of older stored blood and risk of death: a meta-analysis. *Transfusion*.
54. Gauvin F, Spinella PC, Lacroix J, et al. Association between length of storage of transfused red blood cells and multiple organ dysfunction syndrome in pediatric intensive care patients. *Transfusion* 2010;50:1902-13.
55. Karam O, Tucci M, Bateman ST, et al. Association between length of storage of red blood cell units and outcome of critically ill children: a prospective observational study. *Crit Care* 2010;14:R57.
56. Ranucci M, Carlucci C, Isgro G, et al. Duration of red blood cell storage and outcomes in pediatric cardiac surgery: an association found for pump prime blood. *Crit Care* 2009;13:R207.

57. Hendrickson JE, Hod EA, Hudson KE, Spitalnik SL, Zimring JC. Transfusion of fresh murine red blood cells reverses adverse effects of older stored red blood cells. *Transfusion* 2011;51:2695-702.
58. Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. Berlin, Deutschland: Vorstand der Bundesärztekammer auf Empfehlung des Wissenschaftlichen Beirats, 2008. (Accessed May 5, 2012, at http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/Querschnittsleitlinie_Gesamtdokument-deutsch_07032011.pdf).
59. Klein HG, Spahn DR, Carson JL. Red blood cell transfusion in clinical practice. *Lancet* 2007;370:415-26.
60. de Vroege R, Wildevuur WR, Muradin JA, Graves D, van Oeveren W. Washing of stored red blood cells by an autotransfusion device before transfusion. *Vox Sang* 2007;92:130-5.
61. Pirog KA, Stabinsky Y, Goldman R. Cytokines. In: Stabinsky Y, Goldman R, eds. *Cytokine Index*. 2nd ed. Rocky Hill, New Jersey, USA: PeproTech Inc., 2006:82-195.. .
62. Schmolz M, Hurst TL, Bailey DM, et al. Validation of a new highly standardised, lab-independent whole-blood leukocyte function assay for clinical trials (ILCS). *Exp Gerontol* 2004;39:667-71.
63. xMAP® Technology. Austin, TX, USA: Luminex. (Accessed August 5, 2012, at <http://www.luminexcorp.com/TechnologiesScience/xMAPTechnology/>).
64. Multiplexe Analytik mit Bead-basierten Assays. Heidelberg, Deutschland: PROGEN Biotechnik. (Accessed August 5, 2012, at http://media.progen.de/multiplex-technology/multiplex-analysis-bead-based-assays_de.pdf).
65. Buntain SG, Pabari M. Massive transfusion and hyperkalaemic cardiac arrest in craniofacial surgery in a child. *Anaesth Intensive Care* 1999;27:530-3.
66. Brdar R, Bukva B, Nikolic D, et al. Evaluation of inflammatory markers after orthopedic surgical intervention in children. *Ann Ital Chir*;84:117-21.
67. Csendes A, Burgos AM, Roizblatt D, Garay C, Bezama P. Inflammatory response measured by body temperature, C-reactive protein and white blood cell count 1, 3, and 5 days after laparotomic or laparoscopic gastric bypass surgery. *Obes Surg* 2009;19:890-3.
68. Martinek J, Ryska O, Filipkova T, et al. Natural orifice transluminal endoscopic surgery vs laparoscopic ovariectomy: complications and inflammatory response. *World J Gastroenterol* 2012;18:3558-64.
69. Moreschini O, Greggi G, Giordano MC, Nocente M, Margheritini F. Postoperative physiopathological analysis of inflammatory parameters in patients undergoing hip or knee arthroplasty. *Int J Tissue React* 2001;23:151-4.
70. Dani C, Perugi S, Benuzzi A, et al. Effects of red blood cell transfusions during the first week of life on acid-base, glucose, and electrolytes in preterm neonates. *Transfusion* 2008;48:2302-7.
71. Abdelghaffar S, Mansi Y, Ibrahim R, Mohamed D. Red blood transfusion in preterm infants: changes in glucose, electrolytes and acid base balance. *Asian J Transfus Sci* 2012;6:36-41.
72. Xia WF, Liu Y, Zhou QS, Tang QZ, Zou HD. Comparison of the effects of propofol and midazolam on inflammation and oxidase stress in children with congenital heart disease undergoing cardiac surgery. *Yonsei Med J* 2011;52:326-32.
73. Karu I, Tahepold P, Ruusalepp A, Zilmer K, Zilmer M, Starkopf J. Effects of 60 minutes of hyperoxia followed by normoxia before coronary artery bypass grafting on the inflammatory response profile and myocardial injury. *J Negat Results Biomed* 2012;11:14.

74. Kvarnstrom A, Swartling T, Kurlberg G, Bengtson JP, Bengtsson A. Pro-inflammatory cytokine release in rectal surgery: comparison between laparoscopic and open surgical techniques. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2013;61:407-11.
75. Senay S, Toraman F, Gunaydin S, Kilercik M, Karabulut H, Alhan C. The impact of allogenic red cell transfusion and coated bypass circuit on the inflammatory response during cardiopulmonary bypass: a randomized study. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2009;8:93-9.
76. Appachi E, Mossad E, Mee RB, Bokesch P. Perioperative serum interleukins in neonates with hypoplastic left-heart syndrome and transposition of the great arteries. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2007;21:184-90.
77. Hauser GJ, Ben-Ari J, Colvin MP, et al. Interleukin-6 levels in serum and lung lavage fluid of children undergoing open heart surgery correlate with postoperative morbidity. *Intensive Care Med* 1998;24:481-6.
78. Hovels-Gurich HH, Vazquez-Jimenez JF, Silvestri A, et al. Production of proinflammatory cytokines and myocardial dysfunction after arterial switch operation in neonates with transposition of the great arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;124:811-20.
79. Gessler P, Pfenninger J, Pfammatter JP, Carrel T, Baenziger O, Dahinden C. Plasma levels of interleukin-8 and expression of interleukin-8 receptors on circulating neutrophils and monocytes after cardiopulmonary bypass in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:718-25.
80. Jung SM, Tsuji K, Moroi M. Glycoprotein (GP) VI dimer as a major collagen-binding site of native platelets: direct evidence obtained with dimeric GPVI-specific Fabs. *J Thromb Haemost* 2009;7:1347-55.
81. Cholette JM, Henrichs KF, Alfieris GM, et al. Washing red blood cells and platelets transfused in cardiac surgery reduces postoperative inflammation and number of transfusions: Results of a prospective, randomized, controlled clinical trial. *Pediatr Crit Care Med* 2012.

6 Eidesstattliche Versicherung / Anteilserklärung

„Ich, Ulrike Christine Busch, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Vergleich zwischen ungewaschenen und gewaschenen Erythrozytenkonzentraten: eine pädiatrische prospektive randomisierte Studie“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE (www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

Berlin, den 13.08.2014

Anteilserklärung an erfolgter Publikation:

Vortragspräsentation: O. Miera, Bericht Gerd-Killian Preis 2010: Transfusion von gewaschenen und ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten: eine pädiatrische prospektive randomisierte Studie. *45. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Kardiologie e.V., Weimar, November 2013*

eigener Beitrag: Statistische Analyse, Erstellung der Graphiken und Tabellen

7 Lebenslauf

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

8 Publikationsliste

Vortragspräsentation

Bericht Gerd-Killian Preis 2010: Transfusion von gewaschenen und ungewaschenen Erythrozytenkonzentraten: eine pädiatrische prospektive randomisierte Studie. O. Miera
45. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Kardiologie e.V., Weimar, November 2013

9 Danksagung

Zum Gelingen dieser Arbeit haben viele Menschen auf unterschiedliche Weise beigetragen. Ganz besonders danken möchte ich meiner Doktormutter Frau Priv.Doz. Dr. med. Katharina Schmitt und dem Betreuer meiner Arbeit, Herrn Dr. med. Oliver Miera, für die Heranführung an das Thema, ihre kontinuierliche Hilfsbereitschaft und die umfassende fachliche und persönliche Betreuung.

Wertvolle Unterstützung erhielt ich auch von Frau Dr. med. Sonja Wollersheim, die mir mit inhaltlichen Anregungen und konstruktiver Kritik sehr geholfen hat. Zu danken habe ich auch den Stationsärzten der Klinik für Angeborene Herzfehler und Kinderkardiologie im DHZB für ihre Hilfe bei der Patientenrekrutierung und der Durchführung der Studie. Bei statistischen Fragestellungen konnte ich mich dankenswerterweise an Frau Julia Stein aus dem DHZB wenden.

Nicht zuletzt sei allen Patienten und ihren Eltern gedankt, die an der Studie teilgenommen und diese so ermöglicht haben.

Herzlich danke ich meinem Lebenspartner Robert Pleyer für sein Verständnis und seine große moralische Unterstützung.

Ein großer Dank gilt schließlich meinen Eltern Elke und Wolfram Busch und meinen Freunden, ohne deren unermüdliche Unterstützung in jeder Weise diese Arbeit nicht entstanden wäre.