

Aus der Frauenklinik und Poliklinik  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. med. Achim Wöckel

Klinikum Aschaffenburg-Alzenau  
Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe  
Chefarzt: Professor Dr. med. Prof. h.c. Dr. h.c. Alexander Tobias Teichmann

**Korrelation zwischen blutrheologischen Parametern und Blutkörper-  
Indizes von Erythrozyten bei  
gesunden Frauen vor elektiven gynäkologischen Eingriffen**

Inaugural - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Vorgelegt von

Attila Demirhan  
aus Hamburg,

Würzburg, Oktober 2016

Referent: Professor Dr. med. Georg-Friedrich von Tempelhoff

Korreferent: Professor Dr. med. Achim Wöckel

Dekan: Professor Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung:

Der Promovend ist Arzt

Widmung

Meiner Ehefrau

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Blutrheologische Besonderheiten	1
1.2 Fragestellung	11
2. Material und Methoden	12
2.1 Rekrutieren von gesunden Frauen und Blutentnahme	12
2.2 Labormethoden	13
2.2.1 Bestimmung der Zellzahlen und der Erythrozyten-Indizes	13
2.2.2 Messung der Erythrozytenverformbarkeit	13
2.2.3 Messung der Erythrozytenaggregation	16
2.2.4 Messung der Plasmaviskosität	17
2.3 Statistische Analyse	18
3. Ergebnisse	19
3.1 Patientinnencharakteristika	19
3.2 Blutrheologische Parameter	20
3.2.1 Präoperative Ergebnisse der blutrheologischen Parameter, des Blutbilds und der Erythrozyten-Indizes und deren Korrelationen mit Alter und BMI	20
3.2.2 Korrelationen der Erythrozytenverformbarkeit mit den Erythrozyten-Indizes	24
4. Diskussion	35
4.1 Einfluss des MCV auf die Verformbarkeit der Erythrozyten	35
4.2 Eisenmangelanämie	36
4.3 Hämoglobinopathien	37
4.4 Schwangerschaftsassozierte Erkrankungen	40
4.5 Adipositas	41
4.6 Diabetes mellitus	42
5. Zusammenfassung	44
6. Literaturverzeichnis	46

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ATP	Adenosintriphosphat
$\beta$	Beta
BMI	Body-Mass-Index
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
bzw.	beziehungsweise
$\text{Ca}^{2+}$	Kalzium
CRP	C-reaktives Protein
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celsius
$\delta$	Delta
d. h.	das heißt
dl	Deziliter
$\Delta p$	Druckdifferenz
E0	Erythrozytenaggregation im Stillstand
E1	Erythrozytenaggregation unter niedrigen Scherkräften
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
et al.	und andere
fl	Femtoliter ( $10^{-15}$ )
g	Gramm, relative Erdbeschleunigung
G	Strömungsleitwert
h	Stunde
$\eta$	Viskosität
Hb	Hämoglobin
HbC	Hämoglobin C
HbCC	Hämoglobin Genotyp bei HbC-Krankheit
HbS	Hämoglobin S
HbSC	Hämoglobin Genotyp bei HbSC-Krankheit
HbSS	Sichelzell-Anämie

HELLP	Hämolyse, erhöhte Leberwerte, Thrombozytopenie (engl. Hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count)
Hg	Quecksilber
Hkt	Hämatokrit
I	Volumenstromstärke
i. Allg.	im Allgemein
IUGR	intrauterine Wachstumsretardierung (engl. intrauterine growth restriction)
K <sup>+</sup>	Kalium
kDa	Kilodalton
KSPV	Kapillarschlauch-Plasmaviskosimeter
l	Gefäßlänge
Leu	Leukozyten
m <sup>2</sup>	Quadratmeter
MCH	Mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres korpuskuläres Volumen
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm <sup>2</sup>	Quadratmillimeter
mPa s	Millipascalsekunde
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
N	Patientenzahl
Na <sup>+</sup>	Natrium
pg	Pikogramm
π	Kreiszahl
Pv	Plasmaviskosität
p-Wert	Signifikanzwert
r	Gefäßradius, Korrelationskoeffizient

R	Strömungswiderstand
RBC	Erythrozyten unter ausgesetzten Scherkräften
RR	Blutdruck
s.	siehe
SA	Standardabweichung
SSD	Scherstress-Diffraktometer
s. u.	siehe unten
Th	Thalassämie
Thr	Thrombozyten
u.	und
U	Umdrehung
u. a.	unter anderem
WHO	Weltgesundheitsorganisation (engl. World Health Organisation)
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil

## 1. Einleitung

Blut ist aus physikalischer Sicht ein heterogenes Stoffgemisch bestehend aus einem wässrigen Milieu mit organischen Molekülen, Proteinen, Salzen sowie darin suspendierten Zellen, aufgrund dessen es eine nicht Newton'sche Flüssigkeit ist. Die Blutviskosität, die von den Umgebungsscherkräften, dem Hämatokrit, der Plasmaviskosität, den Erythrozyteninteraktionen bzw. deren biomechanischen Eigenschaften abhängt (1), bestimmt gemeinsam mit dem Blutdruck und der Morphologie der Gefäßwand den Blutfluss. Eine Erhöhung des Hämatokrits oder Verminderung der Strömungsgeschwindigkeit bzw. Scherkräfte in großkalibrigen Gefäßen resultiert in einer Zunahme der Viskosität (2), die ihrerseits den Blutfluss verlangsamt und sich ungünstig auf die nachgeschaltete Perfusionsdynamik in der Mikrozirkulation und insbesondere die Sauerstoffabgabe in das Gewebe auswirken kann (3).

### 1.1 Blutrheologische Besonderheiten

Der Anteil der roten Blutkörperchen am Blutvolumen wird als Hämatokrit bezeichnet, wobei die Erythrozyten 99 % des Gesamtvolumens aller Blutzellen ausmachen. Der mittlere Hämatokrit einer erwachsenen, gesunden Frau liegt bei 42 % gegenüber 47 % beim erwachsenen Mann. Aufgrund der besonderen Fließeigenschaften der roten Blutkörperchen und deren Verteilung findet sich in den einzelnen Organen eine erhebliche Variabilität des Hämatokrits. Zudem bestehen z. T. deutliche Unterschiede zwischen den Hämatokrit-Werten des venösen (relativ hoher Wert) und arteriellen Blutes (4), wobei insbesondere im Kapillarbereich abhängig vom Blutdruck, dem venösen Widerstand und kolloidosmotischen Druck des Blutplasmas eine ständige Flüssigkeitsabgabe in das Gewebe den Hämatokrit beeinflusst (5).

Zahlreiche *in vivo* Untersuchungen zeigen, dass der im mikrovaskulären Bereich gemessene Hämatokrit mit der Passage der größeren Mikrogefäße in Richtung der Kapillaren kontinuierlich abnimmt (6, 7, 8, 9). Hintergrund des Absinkens des Hämatokrits in der Mikrozirkulation auf weniger als die Hälfte der Werte in größeren



Gefäßen ist der 'Tunneleffekt', der durch die in den Kapillaren im Axialstrom schnell fließenden Blutkörperchen und dem sich relativ langsamen fortbewegenden Plasma im Bereich der Gefäßwand herrührt (10).

Unter dieser besonders niedrigen effektiven Viskosität elongieren die Blutkörperchen entsprechend dem Strömungsprofil maximal (Fahraeus-Lindqvist-Effekt; siehe weiter unten), sodass Blut besonders leicht durch das Kapillargebiet strömen kann und die Viskosität in diesen Bereichen annähernd das Niveau der Plasmaviskosität erreicht (11, 12). Daraus resultiert im kapillären Blutfluss ein gegenüber den Arteriolen in der Mikrozirkulation niedrigerer Hämatokrit (13).

Blutplasma zählt im Gegensatz zum Vollblut zu den Newton'schen Flüssigkeiten. Seine Viskosität bleibt unabhängig von den Blutflussbedingungen konstant und wird, als hochkonzentrierte Proteinlösung, im Wesentlichen vom Wassergehalt und den makromolekularen Bestandteilen des Blutes bestimmt (14, 15).

Der Normbereich der Plasmaviskosität liegt zwischen 1,10 und 1,34 mPa s bei 37 °C und nähert sich damit dem Wert des Wassers (1,0 mPa s bei 4 °C). Zwischen Plasmaviskosität und Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) besteht eine positive Korrelation, die aber weder vom Hämatokrit noch von der Erythrozytenaggregation abhängig ist (14, 15). Die Plasmaviskosität unterliegt diurnalen und alimentären Schwankungen bzw. steigt insbesondere nach Fett- und Protein-haltigen Mahlzeiten, wobei auch das Ausmaß der Hydrierung wesentlichen Einfluss auf diese nimmt (16). Entsprechend sollten Blutentnahmen unter streng standardisierten Bedingungen möglichst morgens am nüchternen, gut hydrierten Patienten vorgenommen werden. Eine Reihe von pathologischen Zuständen, wie z. B. bei Paraproteinämien oder Hyper-/Makroglobinämien (Morbus Waldenström), führen zu einer deutlichen Erhöhung der Plasmaviskosität, währenddessen Hämoglobinopathien diese in der Regel nicht verändern (14, 15). Der Einfluss von Proteinen auf die Plasmaviskosität hängt von ihrem Molekulargewicht und ihrer Molekularstruktur ab (14, 15). Es besteht eine enge Korrelation zwischen Plasmaviskosität und Körpergewicht, wohingegen nur eine geringe Abhängigkeit zum Alter, Geschlecht oder Nikotingenuss nachgewiesen werden konnte (17).

Der Strömungswiderstand des zirkulierenden Blutes wird hauptsächlich durch die vaskulär/morphologischen und rheologischen Eigenschaften bestimmt und ist gemäß Hagen-Poiseuille-Gesetz durch das Verhältnis von Druckdifferenz zur Volumenstromstärke definiert (s. Formel 1) (18), wobei der Strömungswiderstand vom Gefäßradius, der Gefäßlänge und Blutviskosität abhängt (s. Formel 2) (19, 20, 21, 22). Das Verhältnis zwischen Scherkraft und Schergeschwindigkeit korreliert invers mit der Viskosität des Blutes (23, 18). Druckausübung auf eine Flüssigkeit führt zur Verschiebung der Molekülschichten übereinander, wobei eine Schicht die andere verdrängt und diese sich mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten bewegen. Der Geschwindigkeitsgradient zwischen den Schichten ist die Schergeschwindigkeit und die, die Verschiebung bewirkende Kraft zwischen den Schichten, die Scherkraft (24). Die Plasmaviskosität ist eine intrinsische Eigenschaft der Flüssigkeit, welche die Fließgeschwindigkeit für diese treibende Kraft definiert. Da aber das Plasma eine Newton'sche Flüssigkeit ist und sich aus sehr kleinen Partikeln zusammensetzt, wird die Plasmaviskosität von der Schergeschwindigkeit nicht beeinflusst, sodass auch bei einer Erhöhung der Schergeschwindigkeit die Viskosität des zellfreien Blutes konstant bleibt (25, 22). Im Gegensatz dazu wird die Viskosität des Vollblutes entsprechend einer nicht Newton'schen Flüssigkeit von der Schergeschwindigkeit sehr wohl beeinflusst (26).

Formel 1: Hagen-Poiseuille-Gesetz

$$I = \frac{\Delta p}{R} = G \cdot \Delta p$$

(I: Volumenstromstärke,  $\Delta p$ : Druckdifferenz, R: Strömungswiderstand, G: Strömungsleitwert)

Formel 2: Berechnung des Strömungswiderstands

$$R = \frac{8 \cdot l \cdot \eta}{\pi \cdot r^4}$$

(R: Strömungswiderstand, l: Länge, r: Radius,  $\eta$ : Viskosität,  $\pi$ : Kreiszahl)

Die Erythrozytenaggregation ist eine theoretische Größe, die im fließenden Blut physiologischerweise nicht zur Vollendung kommt und beschreibt die Neigung der Erythrozyten bei ausreichend niedrigen Scherkräften eine lockere Anhaftung der bikonkaven scheibenförmigen Zellen von Angesicht zu Angesicht einzugehen. Diese Zellanreihung bezeichnet man auch als „Rouleaux-Form“ (27), deren Ausbildung von der makromolekularen Zusammensetzung des Suspensionsmediums abhängt, bzw. die Molekülgröße, -Form und -Konzentration des makromolekularen Inhalts das Ausmaß der Aggregation beeinflussen (27). Das Ausmaß der Erythrozytenaggregation ist von den lokalen Scherkräften abhängig und reversibel, sodass Erythrozytenansammlungen in Gegenwart steigender Scherkräfte aus kleineren Formationen wieder vollständig dissoziieren können. Bei den hämorheologischen Messungen spielt die Bestimmung der Aggregationsneigung menschlicher roter Blutkörperchen eine große Rolle für die Einschätzung der Viskosität in der Mikrozirkulation, in Hinblick auf die Flussdynamik bzw. den Strömungswiderstand des Blutes (28). Eine hohe Erythrozytenaggregation wurde bei zahlreichen Krankheitszuständen, u. a. Diabetes mellitus, Thrombose, Myokardinfarkt, vaskulären Erkrankungen und hämatologischen Pathologien aber auch bei gynäkologisch-onkologischen Patientinnen sowie in Gegenwart schwerer geburtshilflicher Erkrankungen festgestellt (29).

Unter verschiedenen pathologischen aber auch physiologischen Bedingungen wie beispielsweise Schwangerschaft konnte eine positive Korrelation zwischen erhöhten plasmatischen Fibrinogen-Konzentrationen aber auch anderen makromolekularen Plasmaproteinen und einer gesteigerten Erythrozytenaggregation festgestellt werden (30, 31). Die Erythrozytenaggregation wird auch durch nicht proteinhaltige Makromoleküle, wie beispielsweise Stärkelösungen mit hohem Molekulargewicht, und andere Polymere

induziert (32). Zwischen Erythrozyten-Aggregationsneigung und der Vollblutviskosität besteht eine lineare Beziehung, wobei in Bereichen niedriger Scherkräfte mehr Zellen in der dreidimensionalen Rouleaux-Form gehalten werden (27). Dabei ist zu berücksichtigen, dass gemäß den Arbeiten von Whittaker und Winton die Blutviskosität *in vivo* sich deutlich von den *in vitro* ermittelten Werten unterscheiden kann (33).

Martini et al. aber auch Fahraeus und Lindqvist (34, 35) beschrieben erstmals eine *scheinbare* signifikante Erniedrigung der Viskosität des Blutes in Gefäßen mit einem Durchmesser von weniger als 500  $\mu\text{m}$ . In diesen Bereichen bewegen sich die Erythrozyten im Axialstrom, wodurch es in den zellarmen Randzonen zu einer deutlichen Abnahme der Viskosität kommt. Die in Gefäßen mit abnehmenden Durchmessern einhergehende Viskositätserniedrigung des Blutes wird auch als Fahraeus-Lindqvist-Effekt bezeichnet (34, 35). Das Ausmaß der scheinbaren Viskosität steigt jedoch auch mit der Zahl der suspendierten Zellen und der Plasmaviskosität (4).

Zahlreiche Arbeiten haben belegt, dass die Erythrozytenaggregation die axialen Erythrozytenansammlungen *in vitro* und *in vivo* begünstigen (36, 37, 38, 39). In den Untersuchungen von Cokelet und Goldsmith konnte durch eine experimentell erhöhte Erythrozytenaggregation eine verstärkte axiale Erythrozytenansammlung erreicht werden, welche mit einem verminderten Strömungswiderstand einherging (40). Dieses resultiert aus einer veränderten Blutzusammensetzung in den Randschichten der Gefäße, bei der es durch die Erythrozytenansammlungen im zentralen Flussbereich zur Verminderung des Hämatokrits und einer relativen Erhöhung der Viskosität nahe der Gefäßwand kommt. Die axiale Anordnung der Erythrozytenansammlung ist auch für eine Verminderung des Hämatokrits in den Mikrogefäßen verantwortlich (41, 42).

Genauere Kenntnisse der Geometrie der roten Blutkörperchen sind für die Interpretation der Verformbarkeit, der Lebensdauer, des osmotischen Widerstands und der Sauerstoffaufnahme der Erythrozyten von großer Bedeutung (43). Die Geometrie der roten Blutkörperchen wird vom Zellvolumen, der Membranoberfläche, dem Zelldurchmesser und der Zelldichte bestimmt, aus denen sich Quotienten berechnen lassen. Diese Quotienten umfassen den Oberflächen-Index (das Oberflächenverhältnis des Erythrozyten zu einer volumenäquivalenten Kugel) und den Schwellgrad (das Verhältnis der Osmose bedingten Anschwellung und maximal erreichbaren Volumen

zum tatsächlichen Volumen des Erythrozyten) (44). Die Erythrozyten-Indizes lassen sich aus der Erythrozytenzahl, der Hämoglobinkonzentration und dem Hämatokrit berechnen. Das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV) ist das mittlere Zellvolumen der gezählten roten Blutkörperchen und wird aus der Zahl der Erythrozyten und dem Hämatokrit ermittelt ( $MCV = \text{Hämatokrit} \times 1000 / \text{Erythrozytenzahl}$ ; Referenzbereich: 81 und 99 fl). Beim mittleren korpuskulären Hämoglobin (MCH) wird das Verhältnis der Hämoglobinkonzentration zur Erythrozytenzahl berechnet ( $MCH = \text{Hämoglobin} \times 10 / \text{Erythrozytenzahl}$ ; Referenzbereich: 26,0 und 34,0 pg). Die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) wird aus dem Hämatokrit und dem Hämoglobin bestimmt ( $MCHC = \text{Hämoglobin} / \text{Hämatokrit}$ ; Referenzbereich: 31,8 und 34,7 g/dl). (45, 46).

In der Ruhephase haben rote Blutkörperchen eine bikonkave, scheibenförmige Form mit einem Durchmesser von ca. 7,5  $\mu\text{m}$  und ein mittleres Zellvolumen (MCV) von ca. 90 fl. Mit einer durchschnittlichen Oberfläche von ungefähr 140  $\mu\text{m}^2$  ist dieses rund 44 % größer als das Minimum von 97  $\mu\text{m}^2$ , das zum Umschließen eines Bereiches dieses Volumens erforderlich ist. Dieser Überschuss an Oberfläche ist eine wesentliche Voraussetzung, die den Erythrozyten bei konstanter Oberfläche und konstantem Zellvolumen, unter einer Vielzahl von physiologischen Bedingungen, eine uniaxiale Verformung erlaubt. Dies gilt im besonderen Maße für die Erythrozytenverformung beim Durchwandern enger Kapillargefäße oder bei der Passage durch die schmalen Spalten der Milzsinusoide (1). Die Geometrie der Erythrozyten variiert mit dem Alter der Zelle. Während des Alterns der Erythrozyten *in vivo* verlieren die menschlichen roten Blutkörperchen Membranfragmente und Wasser. Dies führt zur Volumenminderung und Erhöhung der Dichte (47, 48). Altersabhängige Verminderungen der Erythrozytenverformbarkeiten wurden bei erhöhter Viskosität (49), gestörter Filtrierbarkeit (50), verminderter Elongation unter Einwirkung hoher Scherkräfte (51, 52) und in Gegenwart eines erhöhten Blutdruckes beobachtet. Ebenso ist ein erhöhter Aspirationsdruck für die Gewinnung der gealterten, rigiden Erythrozyten mittels Mikropipette für die Messung der Erythrozytenverformbarkeit notwendig (53, 54). Die Milz hat die Funktion eines Porenfilters, für dessen Passage die Erythrozyten eine extreme Verformung aufbringen müssen. Es wird vermutet, dass die

Rigidität der älteren roten Blutkörperchen letztendlich für deren Abbau verantwortlich ist (55) und die aufgrund ihrer Rigidität an der Passage gehinderten Erythrozyten von Makrophagen phagozytiert werden.

Die Flusseigenschaften der Erythrozyten werden auch von der Konzentration und den physikochemischen Eigenschaften des Hämoglobins beeinflusst. Bei einer normalen mittleren korpuskulären Hämoglobinkonzentration (MCHC) von 32 g/dl beträgt die Viskosität der intrazellulären Flüssigkeit circa 7 mPa s, wobei diese allerdings keine elastischen Eigenschaften aufweist. Die intrazelluläre Flüssigkeitsviskosität steigt nicht linear mit Erhöhung des MCHC (1), wobei es zu einer annähernd vierfachen Erhöhung bei einem MCHC-Wert von 40 g/dl kommt (1).

Anatomisch ist der Erythrozyt in das Zytoskelett und in die aus einer Lipiddoppelschicht zusammengesetzten Zellmembran unterteilt (56). Phospholipide und Cholesterin machen den größten Anteil in der Lipiddoppelschicht aus, wobei die Phospholipidmembranen amphipatisch sind; d. h. jedes Blatt hat einen hydrophilen (auf den inneren zytoplasmatischen und den extrazellulären Oberflächen) und einen hydrophoben Bereich (zwischen den beiden Blättern der Doppelschicht). Die Phospholipide sind dabei asymmetrisch in den Doppelschichten verteilt, wohingegen die äußere Hälfte der Doppelschicht Sphingomyelin, Glykolipide und Phosphatidylcholin enthält und die innere Hälfte (die dem Zytoplasma zugewandte Seite) aus Phosphatidylinositol, Phosphatidylserin und Phosphatidylethanolamin besteht (56, 57). Das Cholesterin ist im Bereich der Lipide durchwegs gleichmäßig verteilt, welches der Membran Flexibilität und Stabilität verleiht. Die Hauptproteine der Doppelschicht sind das Band 3 und das Glycophorin (57). Das Band 3 ist das meistvorhandene Protein in der Erythrozytenmembran und dient auch als Protein-Anker für lösliche zytoplasmatische Proteine und Bestandteile des Zytoskeletts mit der Membran (58).

Mithilfe von Proteolyse und Gensequenzierungen konnte gezeigt werden, dass das Band 3 aus zwei strukturell verschiedenen Bereichen zusammengesetzt ist (59, 60): Dem Amino-Terminal-Bereich, der zytosolisch ist und ein Molekulargewicht von 43 kDa aufweist, und dem Carboxyl-Terminal-Bereich mit einem Molekulargewicht von 52 kDa, welcher die Plasmamembran mehrfach umfasst (61, 62). Der zytosolische Bereich

enthält Verbindungen zwischen Zytoskelett und glykolytischen Enzymen, während der Membranbereich einen Aniontransport auch noch nach dem Abbau des zytoplasmatischen Bereiches zulässt (63, 64, 65).

Das Spektrin wird durch Ankyrin und Band 4.1 an das Band 3 gebunden. Diese Interaktionen mit den Zytoskelettproteinen machen das Band 3 unerlässlich für die Aufrechterhaltung der Zellform und deren Festigkeit (66). Des Weiteren stellt das Protein Verbindungen zum Hämoglobin, zu Hemichromen (eine Form von Methämoglobin) und Enzymen her (58). Als Antigen spielt das Band 3-Protein auch eine Rolle beim Abbau alternder oder beschädigter Erythrozyten (67, 68).

Band 3 aber auch Spektrin (bestehend aus den Untereinheiten  $\alpha$  und  $\beta$ ) gehen innerhalb des Membranskeletts Bindungen untereinander in Form von Tetrameren ein, welche wiederum mit den kurzen Fasern des Aktins verbunden sind und ein stabil/elastisches Netzwerk an der inneren Oberfläche der Doppelschicht formen (57). Die Spektrin-Aktin-Bindung wird durch das 80 kDa Band 4.1-Protein stabilisiert (69) und stellt hierüber Verbindungen zwischen dem Zytoskelett und der Plasmamembran in den Erythrozyten her (70). Das Membranskelett-Netzwerk wird durch zahlreiche horizontale Interaktionen zwischen dem Spektrin-Aktin-Netzwerk und Protein 4.1, Adducin, Tropomyosin, Tropomodulin, Dematin und dem Protein p55 stabilisiert (71). Das Protein 4.1 ist auch für die vertikalen Verbindungen zwischen dem Zellmembranskelett der Erythrozyten und dem Protein Band 3 (72) oder dem Glykophorin C verantwortlich (73). Diese Interaktionen gewährleisten den Erhalt der bikonkaven, scheibenförmigen Form des Erythrozyten einschließlich der mechanischen Membraneigenschaften (74, 75, 76) (Abb. 1).

Die durchschnittliche Lebensdauer der Erythrozyten beträgt 120 Tage, währenddessen diese den gesamten Kreislauf über 100.000-mal durchfließen (77). Aufgrund ihrer bemerkenswerten Verformbarkeit verlieren die roten Blutkörperchen trotz Aussetzung erheblicher äußerer Scherkräfte und passiver mechanischer Verformung ihre Elastizität nicht, sodass die Erythrozyten bei Nachlassen dieser Kräfte ihre normale morphologische Ausgangsform wieder annehmen (78).

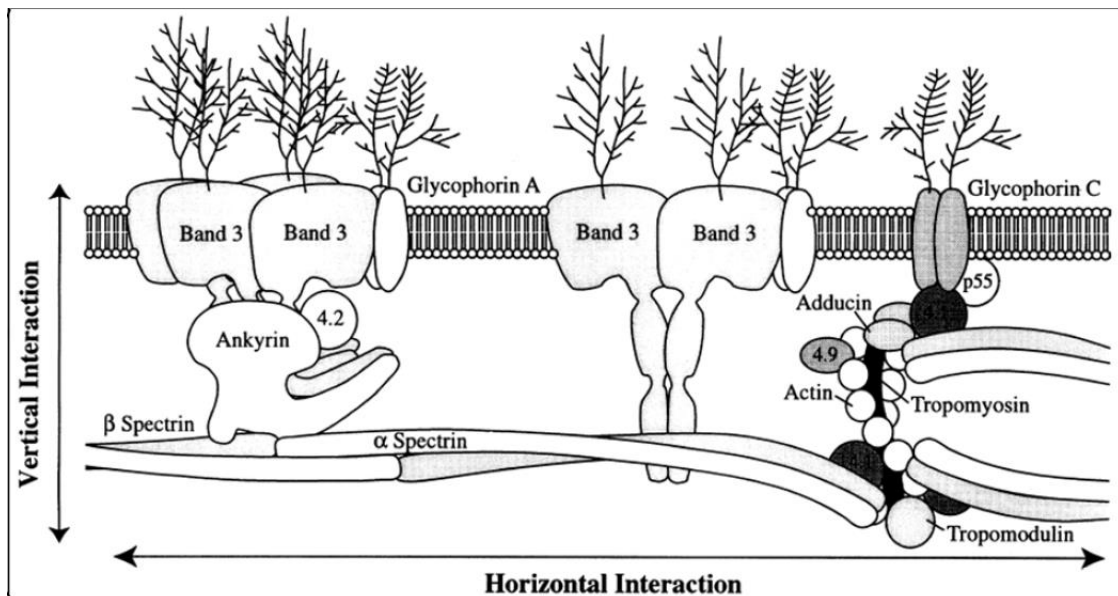


Abb. 1: Schematische Darstellung des Erythrozyten-Membranskelett-Netzwerk-Modells mit vertikalen und horizontalen Interaktionen (76).

Diese Verformbarkeitseigenschaften der Erythrozyten in Abhängigkeit der auf diese einwirkenden formverändernden Kräfte sind nicht nur eine Voraussetzung für die Aufrechterhaltung des Blutflusses in der Mikrozirkulation bei der Passage kapillarer Gefäße von weniger als 4  $\mu\text{m}$  Durchmesser, sondern auch eine Schutzfunktion gegen das mechanische „Zerschellen“ der Zellen in Bereichen hoher Scherkräfte (79). Das Ausmaß der Erythrozytenverformung im fließenden Blut wird durch die auf sie einwirkenden Scherkräfte bestimmt. Dabei können extreme Scherkräfte, wie sie in der Mikrozirkulation bzw. in den Milzsinusoiden vorgefunden werden, insbesondere aber auch in Gegenwart verschiedener pathologischer Zustände, wie beispielsweise Metabolisches Syndrom, Diabetes mellitus (80, 81), Eisenmangel-Anämie (82), Hämoglobinopathien (z. B. Sichelzellanämie und HbC-Krankheit) (83, 84), Prä-Eklampsie/HELLP-Syndrom (85) und Autoimmunerkrankungen, zu irreversiblen plastischen Veränderungen der Zellmembran führen.

Die Außenseite der Zelle ist unter physiologischen Konditionen den deformierenden Kräften aus überwiegend fließenden Scherkräften ausgesetzt. Der Ursprung der Kräfte



kann aber auch die Zelle selbst sein, beispielsweise durch Anschwellen des Erythrozyten in Gegenwart eines hypotonen Mediums oder aufgrund der faserigen Polymerketten-Bildung bei den desoxygenierten Erythrozyten und Sichelzellanämie (1). Die Verformbarkeit der roten Blutkörperchen hängt von der Geometrie, den rheologischen Eigenschaften, der intrazellulären Flüssigkeit und den rheologischen Besonderheiten der Erythrozytenmembran sowie den Interaktionen dieser Faktoren ab (86). Die Lipidzusammensetzung der Erythrozytenmembran (87) und Interaktionen zwischen intrazellulärem ATP, Kalzium und Kalium und der Lipidmembran bzw. den Membranproteinen (88) bestimmen gleichermaßen die Verformbarkeit der Erythrozyten wie auch das aus Spektrin und Aktin bestehende hexagonale Netzwerk des Zytoskeletts. Eine Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration sowie Erniedrigung der ATP- und Kaliumkonzentration vermindert die Erythrozytenverformbarkeit und Membranelastizität bei alternden Erythrozyten (1, 89, 90, 91). Entsprechende Hinweise liefern die Arbeiten von Kiefer und Snyder sowie Romero und Romero, die eine Zunahme der intrazellulären Kalziumkonzentration bei alternden Erythrozyten nachweisen konnten (92, 93). Die intrazelluläre Kalzium-Akkumulation resultiert auch in einer veränderten Zellmorphologie und einer Minderung des Zellvolumens, welche ihrerseits zur zellulären Rigidität und Hämolyse führen (93). Als Ergebnis einer reduzierten Funktion der ATP-abhängigen Kalziumpumpe liegt die intrazelluläre Kalziumkonzentration bei älteren gegenüber jungen Erythrozyten vierfach höher (93).

## 1.2 Fragestellung

Die in der Literatur publizierten Untersuchungen zu blutrheologischen Parametern bei gesunden Probanden basieren fast ausschließlich auf kleinen Fallzahlen die als Kontrollgruppe zur Gegenüberstellung oder Veranschaulichung von Abweichungen bei pathologischen Bedingungen unter Einsatz unterschiedlicher und in der Regel nicht vergleichbarer Messmethoden ohne Geschlechtsspezifische Trennung der Einzelparameterergebnisse herangezogen wurden. Für die Beurteilung pathologischer Veränderungen ist es indes durchaus relevant Abhängigkeiten der rheologischen Einzelparameter unter normalen physiologischen Bedingungen einzuschätzen bzw. zu berücksichtigen.

Die vorliegende Untersuchung quantifiziert Zusammenhänge zwischen den blutrheologischen Parametern und den Erythrozyten-Indizes bei gesunden Frauen mittleren Alters vor elektiven gynäkologischen Eingriffen. Es erfolgte ferner eine systematische Aufarbeitung physiologischer Korrelationen zwischen den rheologischen Parametern untereinander in Abhängigkeit des Alters und des BMI der Probandinnen. Die für die Untersuchungen herangezogene weibliche Klientel gesunder Frauen mittleren Alters vor elektiven gynäkologischen Eingriffen erscheint besonders geeignet, da mit der hierdurch getroffenen Eingrenzung ein schneller Zugriff auf eine größere Zahl vergleichbarer Probanden gleichen Geschlechts im klinischen Alltag für die statistische Erhebung gewährleistet ist. Methodisch ist die zeitgleiche morgendliche Blutprobengewinnung mit der ohnehin routinemäßigen Laborabnahme im Vorfeld der Operation für die Probandinnen weniger belastend und zur Eingrenzung diurnaler Ergebnisschwankungen optimal. Zudem gewährleistet die postoperative Überwachung eine weitere Sicherheit in der Einschätzung des Gesundheitsstatus der Teilnehmenden bezüglich bestehender Infektionen, die potentiell Einfluss auf die rheologischen Ergebnisse haben können.

Unter den blutrheologischen Parametern liegt ein besonderes Augenmerk auf der Erythrozytenverformbarkeit zu der vergleichsweise wenige Untersuchungen bisher publiziert wurden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Rekrutieren von gesunden Frauen und Blutentnahme

Während eines sechsmonatigen Erfassungszeitraumes von Juni 2014 bis Dezember 2014 wurden konsekutiv Frauen mit einem geplanten gynäkologischen Elektiveingriff in der gynäkologischen Abteilung zur Teilnahme an dieser Querschnitts-Anwendungsbeobachtung gebeten. Im Rahmen des Aufklärungsgesprächs wurde insbesondere darauf hingewiesen, dass die Ergebnisse weder diagnostische noch therapeutische Konsequenzen nach sich ziehen bzw. dass bis auf Basisdaten (Patientencharakteristika) keine weitergehende Datenerfassung erfolgt. Die Teilnahme an der hämorheologischen Untersuchung setzte eine schriftliche Einverständniserklärung der Patientinnen voraus. In anonymisierter Form erfolgte die Datenerfassung zunächst mittels Fragebogen und zur Vorbereitung für die statistischen Auswertungen später digital (Microsoft Excel 10).

In der vorliegenden Untersuchung sollte ein Zusammenhang zwischen blutrheologischen Parametern und den Blutkörperchen-Indizes unter physiologischen Normalbedingungen bei gesunden Probandinnen geklärt werden. Frauen mit bekannter Schwangerschaft, malignen, infektiösen oder chronischen Erkrankung, mit extremen BMI ( $<16$ ;  $>40$  kg/m<sup>2</sup>) oder unter Dauermedikation wurden von der Studie ausgeschlossen, da unter diesen Bedingungen eine für die Fragestellung unerwünschte Beeinflussung der rheologischen Parameter in entsprechenden Studien beobachtet wurde. Hierbei konnten insgesamt 286 gesunde Patientinnen in diese Untersuchung aufgenommen werden. Die elektiven operativen Eingriffe umfassten die Hysterektomie, minimalinvasive Eingriffe am Vulvovaginal- und Uterusbereich, sowie laparoskopische Maßnahmen zur Diagnostik und Therapie nicht infektiöser benignen Grunderkrankungen wie beispielsweise Chromopertubationen, Adhäsioleisen, benigne blande Zysten. Patientinnen mit endgültiger Diagnose einer umfangreichen Endometriose oder einer Infektion wurden von der Studie ausgeschlossen.

Die Blutentnahmen für die hämorheologischen Bestimmungen per Punktion der Cubitalvene erfolgten gemeinsam mit den präoperativen Routineblutuntersuchungen

zwischen 8.00 Uhr und 10.00 Uhr morgens am Tag vor dem geplanten Elektiveingriff und nach einer Nahrungskarenz von sechs Stunden. Für die Messung der blutrheologischen Parameter und der roten Blutkörperchen-Indizes wurde das Blut mittels EDTA-K3-Vacutainer entnommen. Alle blutrheologischen Messungen erfolgten innerhalb von zwei Stunden nach Blutentnahme in dem der gynäkologischen Abteilung direkt angeschlossenen hämorheologischen/hämostaseologischen Labor.

## 2.2 Labormethoden

### 2.2.1 Bestimmung der Zellzahlen und der Erythrozyten-Indizes

Die Bestimmung des Routinelabors einschließlich der Erythrozyten-Indizes erfolgte im Zentrallabor. Bestimmt wurden die Erythrozyten-, Leukozyten- und Thrombozyten-Zahlen, sowie Hämoglobinkonzentration (Hb), Hämatokrit (Hkt), C-reaktives Protein (CRP) und Erythrozyten-Indizes [mittleres Erythrozytenvolumen (MCV), mittleres korpuskuläres Hämoglobin (MCH), mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC)] mithilfe des Advia 2120i Hämatologie-Systems mit Autoslide (Siemens, Deutschland). Die Messungen erlaubten eine vollständige Differenzierung der Erythrozyten mittels objektiver, einheitlicher Beurteilung der Erythrozytenmorphologie und Darstellung aller Retikulozyten-Indizes. Dieses Verfahren beruht auf direkten Messungen, nicht auf Berechnungen.

Sämtliche hämorheologischen Untersuchungen wurden in dem der gynäkologischen Abteilung angeschlossenen Labor für Hämostaseologie und Hämorheologie durchgeführt.

### 2.2.2 Messung der Erythrozytenverformbarkeit

Das RHEODYN SSD dient zur vollautomatischen Bestimmung der Dynamik von scherinduzierter Erythrozytenelongation unter physikalischen Bedingungen. Während die roten Blutkörperchen den Scherkräften im Blutfluss und an den Gefäßwänden

ausgesetzt werden, sind die Erythrozyten in der Mikrozirkulation elongiert. Diese Bedingungen werden vom Rheodyn SSD simuliert.

Die Laserdiffraktometrie bzw. Laserektzytometrie wird aufgrund ihrer Präzision, Sensitivität und ihrer einfachen Bedienbarkeit von vielen Autoren als Methode der ersten Wahl für die Messung der Erythrozytenverformbarkeit eingesetzt (94).

Aufgrund der hohen Präzision bei niedrigem messtechnischen Aufwand und einer geringen Störanfälligkeit (Beimischung von anderen Blutzellen), kommt in unseren Untersuchungen zur Bestimmung der Erythrozytenverformbarkeit, die Ektzytometrie-Technik mittels Rheodyn Scherstress-Diffraktometer (Rheodyn SSD; Myrenne GmbH, Deutschland, Abb. 2) zum Einsatz (95).

Die Ektzytometrie-Technik erfasst auch bei moderater Verformbarkeitsminderung sensible Veränderungen sowohl der gesamten Erythrozytenpopulation als auch Subpopulationen rigider Erythrozyten. Die Empfindlichkeit des Laserdiffraktometers Rheodyn SSD wurde durch die Behandlung von normalen Erythrozyten mit steigenden Konzentrationen von Glutaraldehyd, durch die Mischung von normalen Erythrozyten mit steigenden Anteilen von rigiden Erythrozyten in Prozent und durch die Dichtentrennung von normalen Erythrozyten geprüft.

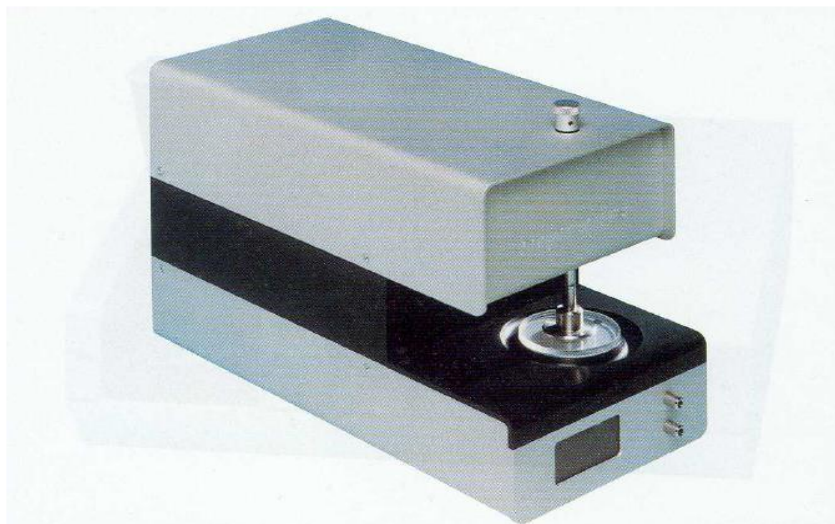


Abb. 2: Rheodyn SSD (Myrenne GmbH, Deutschland)

Für den Ablauf der Messung wird nur eine geringe Blutprobenmenge von 30  $\mu$ l antikoaguliertem Vollblut mittels einer Spritze in die Messkammer gegeben, die dort in einer 2 ml Dextran-Lösung 24 mPa s gelöst wird.

In einem Spalt zwischen zwei planparallelen Platten (eine rotierende und eine stationäre Platte) werden bei der Rotation der oberen Platte, die in der viskosen Flüssigkeit suspendierten Erythrozyten vollautomatisiert bei insgesamt sechs Geschwindigkeiten langsam steigenden Scherkräften ausgesetzt (niedrige Scherkräfte: 1,2 und 3,0 Pascal; moderate Scherkräfte: 6,0 und 12,0 Pascal; hohe Scherkräfte: 30,0 und 60,0 Pascal). Die hierdurch erzeugte Elongation der Zellen wird als Diffraktionsbild eines Laserstrahles mit elektrooptischen Sensoren gemessen (Abb. 3) und die Messwerte einem Rechner zur Berechnung der Elongationen zugeführt bzw. die Ergebnisse als prozentuale Veränderungen wiedergegeben. Eine größere prozentuale Abweichung korrespondiert mit einer erhöhten Verformbarkeit der roten Blutkörperchen (96, 97). Es wurden jeweils zwei Messungen durchgeführt und der zweite Wert berücksichtigt.

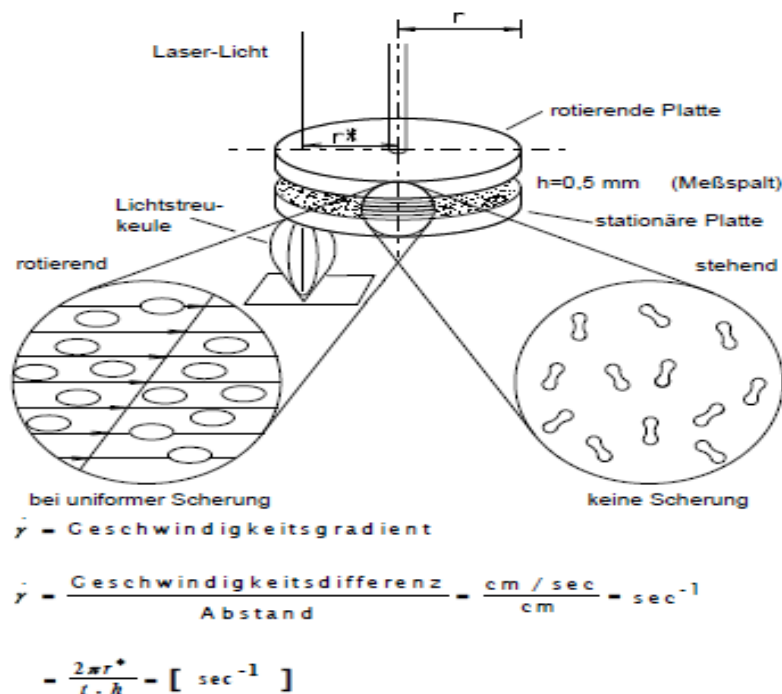


Abb. 3: Das Messprinzip des Rheodyn SSD (Myrenne GmbH, Deutschland)

### 2.2.3 Messung der Erythrozytenaggregation

Für die Bestimmung der Erythrozytenaggregation kam das photometrische Mikroaggregometer von Schmid-Schönbein et al. zum Einsatz (98). Die durchschnittliche Erythrozytenaggregation wurde anhand der mit einem Photosensor gemessenen Lichttransmission bestimmt, sowohl bei Stillstand der Probe (*stase*) als auch bei niedrigen Scherkräften von  $3 \text{ s}^{-1}$  (*low shear*). Dabei erhöht sich die Lichttransmission proportional mit zunehmender Erythrozytenaggregat-Bildung. Nach Umrechnung der Ergebnisse mithilfe einer integrierten Software wurden diese mit einer willkürlich festgelegten Einheit ( $\text{s}^{-1}$ ) wiedergegeben. Zur Vorbereitung der Messung wurde die Blutprobe in einem EDTA-Röhrchen 10 Minuten bei 3000 U/min (SERVOspin Labor Tisch-Zentrifuge) zentrifugiert und anschließend eine Erythrozytensuspension im autologen Plasma entsprechend eines Hämatokritniveaus von 45 % hergestellt. 20  $\mu\text{L}$  dieser Probe gelangten in das Myrenne Aggregometer 1 zur Messung (Myrenne, Roetgen, Deutschland) (Abb. 4).

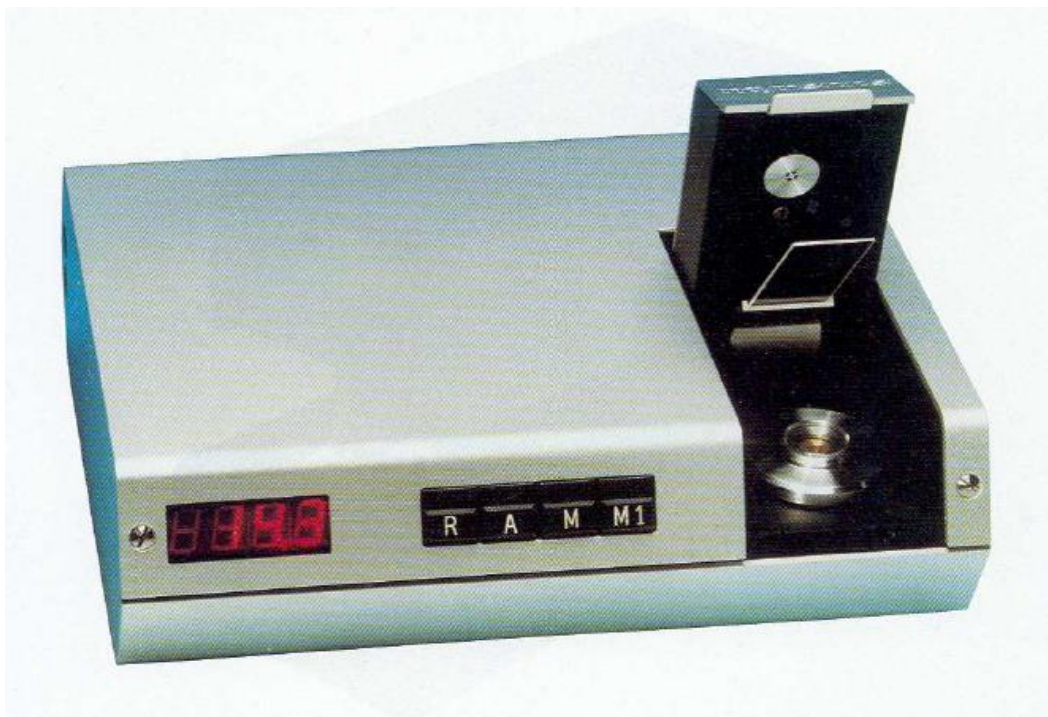


Abb. 4: Myrenne Aggregometer 1 (Myrenne, Roetgen, Deutschland)

#### 2.2.4 Messung der Plasmaviskosität

Die Plasmaviskosität wurde mittels Kapillarschlauch-Plasmaviskosimeter KSPV 1 (Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) gemessen. Die Viskosität wird aus der gemessenen Ausflusszeit der Flüssigkeit bei bekannter Geometrie des Kapillarschlauchs gemessen. Zentrale Einheit des Gerätes ist die Messkapillare aus Polyurethan, deren Durchmesserschwankung auf 0,01 mm begrenzt ist. Im thermostatierten System wird die Messkapillare des Plasmas auf 37 °C konstant erwärmt und die Plasmafließgeschwindigkeit zwischen zwei Lichtschranken bestimmt. Aus bekannter Messstrecke und gemessener Zeit wird nach dem Hagen-Poiseuille'schen Gesetz die Plasmaviskosität berechnet.

Die Messung wurde zweimal mit jeweils neuem Schlauch durchgeführt und hieraus der Mittelwert gebildet. Messmethode und Durchführung der Qualitätskontrolle erfolgten gemäß Anleitung von Jung et al. (99).

Zur Bestimmung der Plasmaviskosität wurden EDTA-Vakutainer 20 Minuten bei 3000 U/min in der SERVOspin Labor Tisch-Zentrifuge zentrifugiert und die mittlere Schicht des Plasmaanteils für die Messung im Kapillarschlauch-Viskosimeter-System (KSPV 1 Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) bei 37 °C (Jung et al.) verwendet (100).



### 2.3 Statistische Analyse

Die deskriptive Analyse beinhaltet die Berechnung der Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichungen, den Interquartil-Bereich und die 95. Perzentile. Die Berechnung der Korrelation verschiedener Parameter erfolgte mittels zweiseitiger Pearsons-Korrelation. Ein p-Wert kleiner als 0,05 wurde als statistisch signifikant bewertet. Das festgelegte Konfidenzintervall in allen Tests betrug 95 %. Sämtliche statistischen Analysen erfolgten mithilfe der Freeware PSPP-Projekt Version 0.7.9, Februar 2012. Die Auswertungen wurden am 22.10.2015 im Institut für Klinische Epidemiologie und Biometrie der Julius-Maximilians-Universität Würzburg zur Beurteilung vorgelegt.

Für die Erhebung wurde eine Unbedenklichkeitsbescheinigung von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg am 14.07.2015 eingeholt (20150714 01).

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Patientinnencharakteristika

Innerhalb eines Zeitraums von 7 Monaten (Juni 2014 bis Dezember 2014) konnten insgesamt 286 gesunde Frauen (Alter:  $48,5 \pm 17,6$  Jahre; BMI:  $25,5 \pm 5,2$  kg/m<sup>2</sup>) unter Berücksichtigung der Ausschlusskriterien für die Teilnahme in unserer prospektiven Erhebung rekrutiert werden. Alle Frauen unterzogen sich eines gynäkologischen Elektiveingriffs zur Behandlung benignen, nichtinfektiöser Erkrankungen mit überwiegend eintägigem stationären oder ambulanten Aufenthalt. Häufigster Eingriff in 58 % der Fälle war eine Hysteroskopie/Kürettage und/oder Pelviskopie, sowie in 26 % der Eingriffe ein Lokaleingriff am äußeren Genital und der Zervix bzw. in 16 % der Fälle eine Hysterektomie. Die Patientinnen-Charakteristika sind in Tabelle 1 präsentiert. Das durchschnittliche Alter aller Frauen betrug 48,5 Jahren und der BMI lag bei 25,5 kg/m<sup>2</sup>.

Tabelle 1  
Patientinnencharakteristika bei 286 Frauen mit geplanter gynäkologischer  
Elektivoperation  
Mittelwert, 25 %-75 %-Interquartile und Standardabweichung (SA)

	<b>N</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>25 %-75 %- Interquartile</b>	<b>SA</b>
<b>Alter (j)</b>	286	48,54	46,50-50,59	17,578
<b>Gewicht (kg)</b>	282	70,6	68,82-72,37	15,124
<b>Größe (cm)</b>	283	166,46	165,76-167,16	6,018
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	282	25,46	24,85-26,07	5,211

BMI = Body-Mass-Index

## 3.2 Blutrheologische Parameter

### 3.2.1 Präoperative Ergebnisse der blutrheologischen Parameter, des Blutbilds und der Erythrozyten-Indizes und deren Korrelationen mit Alter und BMI

Die präoperativen Ergebnisse der blutrheologischen Parameter (Tabelle 2) und des Blutbilds sind einschließlich der Erythrozyten-Indizes (Tabelle 3) separat aufgezeigt.

Plasmaviskosität und Erythrozytenaggregation sowohl in *stase* als auch unter *low shear* Bedingungen wiesen eine statistisch signifikant positive Korrelation zum Alter und BMI der Patientinnen auf. Im Gegensatz hierzu korrelierte die Erythrozytenverformbarkeit nur mit dem Alter der Patientinnen statistisch signifikant.

Tabelle 2

Die präoperativen Ergebnisse der blutrheologischen Parameter  
 Deskriptive Statistiken der blutrheologischen Parameter: Mittelwert, 25 %-75 %-  
 Interquartile und Standardabweichung (SA)

	<b>N</b>	<b>Durchschnitt</b>	<b>25 %-75 %- Interquartile</b>	<b>SA</b>
<b>Pv</b> (mPa s)	283	1,17	1,16-1,19	0,12
<b>E0</b>	282	12,7	11,9-13,4	6,3
<b>E1</b>	282	17,9	17,1-18,8	7,3
<b>RBC 1,2</b> (%)	285	11,3	11,0-11,6	2,9
<b>RBC 3,0</b> (%)	285	22,9	22,5-23,3	3,4
<b>RBC 6,0</b> (%)	285	30,9	30,6-31,3	3,1
<b>RBC 12</b> (%)	285	37,2	36,8-37,6	3,0
<b>RBC 30</b> (%)	285	43,6	43,2-44,0	3,2
<b>RBC 60</b> (%)	285	47,1	46,7-47,5	3,4

Pv = Plasmaviskosität, E0 = Erythrozytenaggregation *in stase*,

E1 = Erythrozytenaggregation *low shear*,

RBC = Erythrozytenverformbarkeit bei Scherkräften 1,2, 3,0, 6,0, 30,0 und 60,0 Pascal

Wie in Tabelle 2 dargestellt lag der Mittelwert für die Plasmaviskosität bei 1,18 mPa s, und die durchschnittlichen Ergebnisse der Erythrozytenverformbarkeit in Gegenwart niedriger und hoher Scherkräfte zwischen 11,3 % und 47,1 %.

Tabelle 3

Die präoperativen Ergebnisse des Blutbildes und der Erythrozyten-Indizes  
 Deskriptive Statistiken der hämatologischen Parameter: Mittelwert, 25 %-75 %-  
 Interquartile und Standardabweichung (SA)

	<b>N</b>	<b>Durchschnitt</b>	<b>25 %-75 %- Interquartile</b>	<b>SA</b>
<b>Hb</b> (g/dl)	277	13,2	13,0-13,4	1,4
<b>Hkt</b> (%)	277	39,3	38,8-39,7	3,9
<b>Leu</b> (/μl)	277	7820	7492-8146	2770
<b>Thr</b> (/μl)	276	281080	271834-290325	78022
<b>MCV</b> (fl)	277	90	89-90	6
<b>MCHC</b> (g/dl)	277	34	34-34	1
<b>MCH</b> (pg)	277	30	30-31	2

Hb = Hämoglobin, Hkt = Hämatokrit, MCV = mittleres Erythrozytenvolumen  
 MCHC = mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration, MCH = mittleres  
 korpuskuläres Hämoglobin, Leu = Leukozyten, Thr = Thrombozyten.

Eine statistisch signifikante Korrelation konnte weder für die Plasmaviskosität, die Erythrozytenaggregation (*stase; low shear*) noch für die roten Blutkörperchen-Indizes nachgewiesen werden. Demgegenüber bestand zwischen MCV ( $r = 0,233$ ;  $p < 0,001$ ) und MCH ( $r = 0,156$ ;  $p = 0,009$ ) und dem Alter der Probandinnen eine statistisch signifikant positive und für MCHC und Alter ( $r = -0,114$ ;  $p = 0,059$ ) eine statistisch signifikant inverse Korrelation. Keiner der Erythrozyten-Indizes zeigte eine statistisch signifikante Korrelation mit dem BMI (Tabelle 5).

Tabelle 4

Korrelation zwischen den bluttheologischen Parametern, den Erythrozyten-Indizes, dem Alter und BMI

	<b>Pv</b>	<b>E0</b>	<b>E1</b>	<b>RBC 1,2</b>	<b>RBC 3,0</b>	<b>RBC 6,0</b>	<b>RBC 12,0</b>	<b>RBC 30</b>	<b>RBC 60</b>
<b>Alter</b>									
N	283	282	282	285	285	285	285	285	285
R	0,165	0,131	0,185	0,046	0,132	0,145	0,158	0,147	0,131
P	0,005*	0,028*	0,002*	0,443	0,026*	0,014*	0,007*	0,013*	0,027
<b>BMI</b>									
N	279	278	281	281	281	281	281	281	281
R	0,144	0,182	0,224	0,012	0,047	0,096	0,113	0,094	0,075
P	0,016*	0,002*	0,001*	0,846	0,435	0,110	0,058	0,115	0,213
<b>MCV</b>									
N	274	273	273	276	276	276	276	276	276
R	-0,013	-0,082	-0,054	0,128	0,198	0,209	0,214	0,197	0,160
P	0,832	0,179	0,371	0,034*	0,001*	0,0001*	0,0001*	0,001*	0,008*
<b>MCH</b>									
N	274	273	273	276	276	276	276	276	276
R	-0,033	-0,078	-0,022	0,108	0,183	0,201	0,198	0,161	0,122
P	0,583	0,201	0,712	0,073	0,002*	0,001*	0,001*	0,008*	0,043*
<b>MCHC</b>									
N	274	273	273	276	276	276	276	276	276
R	-0,086	-0,038	0,038	-0,145	-0,160	-0,155	-0,176	-0,200	-0,202
P	0,157	0,533	0,527	0,016*	0,008*	0,010*	0,003*	0,001*	0,001*

\* statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

Tabelle 5

Korrelation zwischen den Erythrozyten-Indizes, dem Alter und dem BMI

	<b>MCV</b>	<b>MCH</b>	<b>MCHC</b>
<b>Alter</b>			
N	277	277	277
R	0,233	0,156	-0,114
P	0,000*	0,009*	0,059
<b>Gewicht (kg)</b>			
N	273	273	273
R	0,058	0,036	0,057
P	0,336	0,549	0,34
<b>Größe (cm)</b>			
N	274	274	274
R	-0,037	0,001	0,041
P	0,542	0,989	0,501
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>			
N	273	273	273
R	0,073	0,034	0,037
P	0,228	0,571	0,541

\* statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

### 3.2.2 Korrelationen der Erythrozytenverformbarkeit mit den Erythrozyten-Indizes

Die Erythrozytenverformbarkeit korrelierte positiv und statistisch signifikant mit MCV und MCH bzw. invers mit dem MCHC unter allen ausgesetzten Scherkräften. Die höchste Korrelation zwischen MCV und Erythrozytenverformbarkeit wurde in Gegenwart moderater Scherkräfte bei 6,0 Pascal ( $r = 0,209$ ;  $p = 0,001$ ) und 12,0 Pascal ( $r = 0,214$ ;  $p = 0,001$ ) gemessen, wie in Abb. 6 A-F dargestellt.

Eine ähnliche Assoziation zeigte sich zwischen dem MCH und der

Erythrozytenverformbarkeit, wobei wiederum unter moderaten Scherkräften von 6,0 Pascal ( $r = 0,201$ ;  $p = 0,001$ ) sowie 12,0 Pascal ( $r = 0,198$ ;  $p = 0,001$ ) der Korrelationskoeffizient am höchsten war (Abb. 7 A-F). Im Gegensatz dazu zeigte sich mit zunehmender MCHC eine Verminderung der Erythrozytenverformbarkeit (Abb. 8 A-F) mit dem höchsten negativen Korrelationskoeffizienten in Gegenwart hoher Scherkräfte von 30 Pascal ( $r = -0,20$ ;  $p = 0,001$ ) bzw. 60 Pascal ( $r = 0,202$ ;  $p = 0,001$ ). Zwischen der Hämoglobinkonzentration (Wertebereich:  $r = -0,046$  bis  $-0,04$ ), dem Hämatokrit (Wertebereich:  $r = -0,06$  bis  $-0,001$ ), den Thrombozyten- (Wertebereich:  $r = -0,072$  bis  $-0,018$ ) und den Leukozyten-Zahlen (Wertebereich:  $r = -0,106$  bis  $-0,048$ ) bestand eine statistisch nicht signifikante Korrelation mit der Erythrozytenverformbarkeit ( $p > 0,05$ ) unter allen Scherkräfte-Bedingungen.

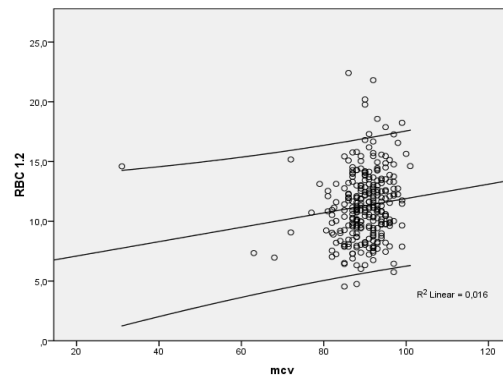
Eine zusammenfassende Übersicht aller Korrelations-Koeffizienten, einschließlich der p-Werte ist in Tabelle 4 dargestellt.

Auf eine Subgruppenanalyse und die Bildung von Altersklassen mit einer Untergliederung beispielsweise in 10-Jahres-Intervalle oder Gewichtsklassen, wurde verzichtet, da in diesem Fall extrem kleine Untergruppierungen miteinander verglichen worden wären.

In Streudiagrammen der Abbildungen 6 A bis F ist jeweils die Erythrozytenverformbarkeit, jeweils unter den entsprechenden Scherkräftebedingungen, über das mittlere korpuskuläre Volumen aufgetragen. Die einzelnen Datenpunkte werden durch offene Kreise eingezeichnet, die als Punktwolke den Trend aufzeigen. Die mittlere durchgezogene Linie stellt die Regressionsgerade dar und die obere und untere durchgezogene Linie grenzen das 95 %-Konfidenzintervall ein. Der ermittelte Korrelationskoeffizient  $r$  und die dazugehörigen p-Werte sind entsprechend angegeben. Die Abbildungen 7 A bis F stellen in gleicher Weise die Korrelationen zwischen MCH und der Erythrozytenverformbarkeit sowie die Abbildungen 8 A bis F die Korrelationen zwischen MCHC und der Erythrozytenverformbarkeit dar.

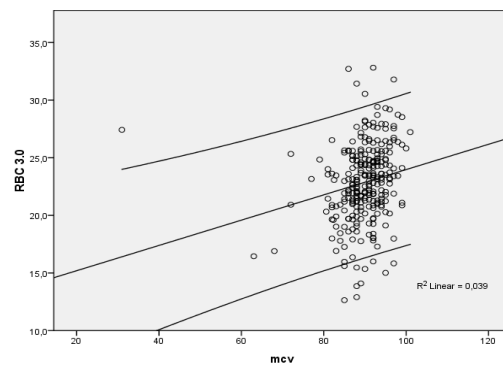


Abb. 6 A



$$r = 0,128, p = 0,034^*$$

Abb. 6 B



$$r = 0,198, p = 0,001^*$$

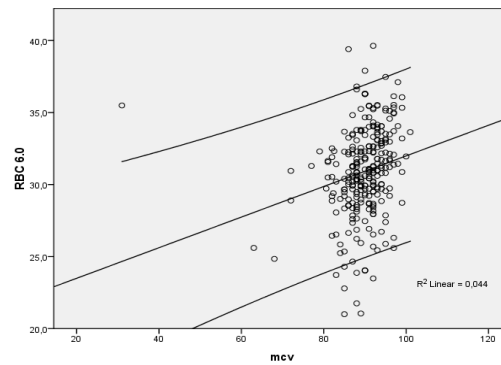
Abb. 6 A u. B: Korrelation zwischen MCV und Erythrozytenverformbarkeit bei niedrigen Scherkräften (1,2 und 3,0 Pascal).

Korrelationskoeffizient; 95 %-Konfidenzintervall.

\*Statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

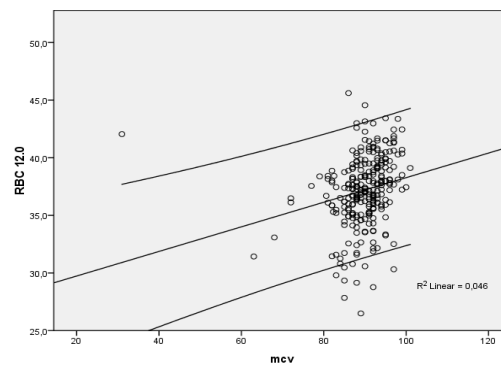
Bei niedrigen Scherkräften (1,2 und 3,0 Pascal). zeigt sich, wie in der Abb. 6 A-B dargestellt, eine statistisch signifikante Korrelation zwischen MCV und der Erythrozytenverformbarkeit.

Abb. 6 C



$$r = 0,209, p = 0,001^*$$

Abb. 6 D



$$r = 0,214, p = 0,001^*$$

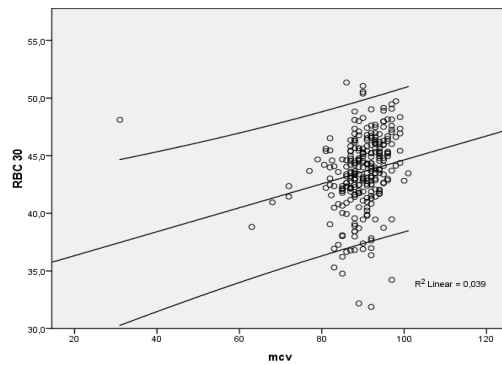
Abb. 6 C u. D: Korrelation zwischen MCV und Erythrozytenverformbarkeit bei moderaten Scherkräften (6,0 und 12,0 Pascal).

Korrelationskoeffizient; 95 %-Konfidenzintervall.

\*Statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

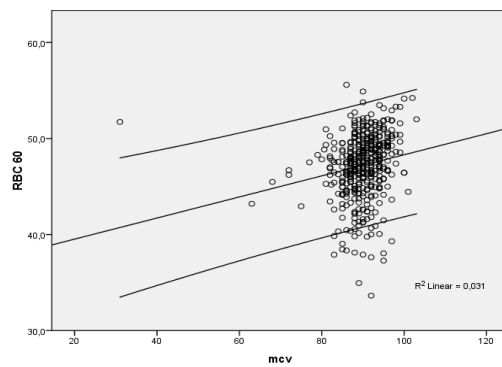
Unter Aussetzung moderater Scherkräfte (6,0 und 12,0 Pascal) bestand eine statistisch signifikante Korrelation zwischen MCV und der Erythrozytenverformbarkeit, wobei der Korrelations-Koeffizient im Vergleich zu den Ergebnissen unter niedriger und hoher Scherbelastung hier am höchsten lag (Abb. 6 C und D).

Abb. 6 E



$$r = 0,197, p = 0,001^*$$

Abb. 6 F

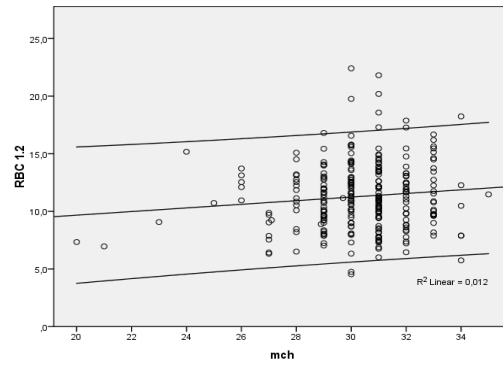


$$r = 0,160, p = 0,008^*$$

Abb. 6 E u. F: Korrelation zwischen MCV und Erythrozytenverformbarkeit bei hohen Scherkräften (30,0 und 60,0 Pascal).  
Korrelationskoeffizient; 95 %-Konfidenzintervall  
\*Statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

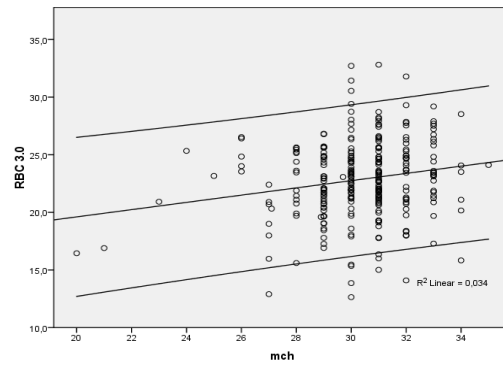
Auch unter Einwirkung hoher Scherkräfte (30 und 60 Pascal) wurde eine statistisch signifikante Korrelation zwischen MCV und der Erythrozytenverformbarkeit ermittelt (Abb. 6 E und F).

Abb. 7 A



$$r = 0,108, p = 0,073$$

Abb. 7 B



$$r = 0,183, p = 0,002^*$$

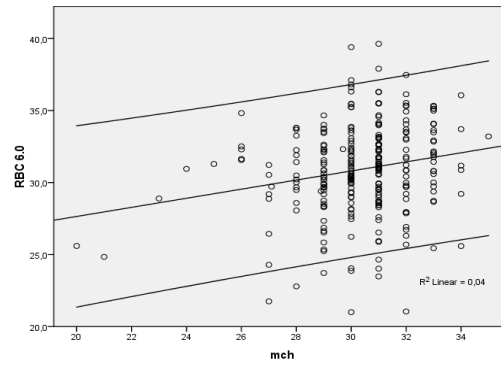
Abb. 7 A u. B: Korrelation zwischen MCH und Erythrozytenverformbarkeit bei niedrigen Scherkräften (1,2 und 3,0 Pascal).

Korrelationskoeffizient; 95 %-Konfidenzintervall.

\*Statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

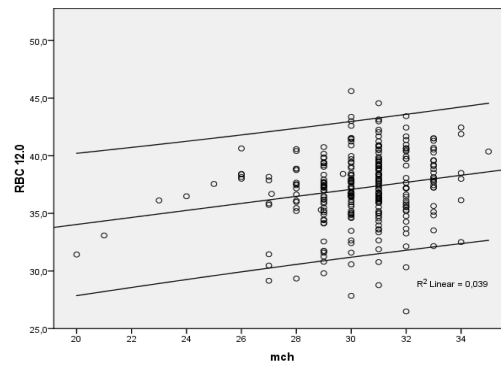
Unter Einwirkung niedriger Scherkräfte (1,2 und 3,0 Pascal) wurde eine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem MCH und der Erythrozytenverformbarkeit beobachtet (Abb. 7 A und B).

Abb. 7 C



$$r = 0,201, p = 0,001^*$$

Abb. 7 D

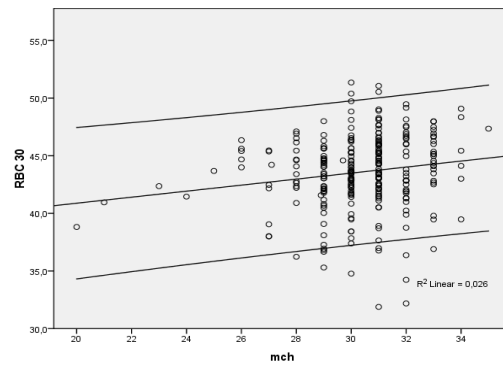


$$r = 0,198, p = 0,001^*$$

Abb. 7 C u. D: Korrelation zwischen MCH und Erythrozytenverformbarkeit bei moderaten Scherkräften (6,0 und 12,0 Pascal).  
Korrelationskoeffizient; 95 %-Konfidenzintervall.  
\*Statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

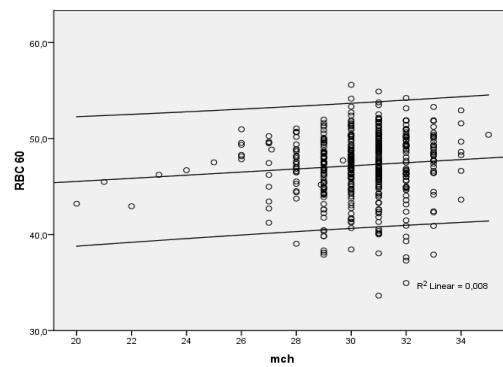
Wiederum unter moderaten Scherkräfte-Bedingungen (6,0 und 12,0 Pascal) zeigte sich die höchste Korrelation zwischen MCH und der Erythrozytenverformbarkeit (Abb. 7 C und D).

Abb. 7 E



$$r = 0,161, p = 0,008^*$$

Abb. 7 F

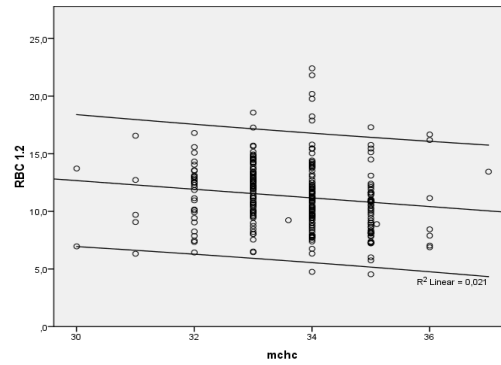


$$r = 0,122, p = 0,043^*$$

Abb. 7 E u. F: Korrelation zwischen MCH und Erythrozytenverformbarkeit bei hohen Scherkräften (30,0 und 60,0 Pascal).  
Korrelationskoeffizient; 95 %-Konfidenzintervall.  
\*Statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

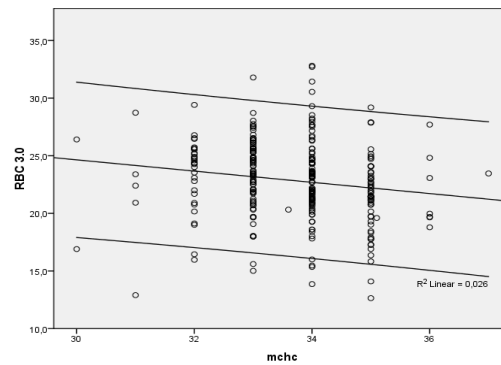
Analog zu den Ergebnissen unter niedrigeren Scherbelastungen konnte auch bei Aussetzung hoher Scherkräfte (30 und 60 Pascal) eine statistisch signifikante Korrelation zwischen MCH und der Erythrozytenverformbarkeit nachgewiesen werden (Abb. 7 E und F).

Abb. 8 A



$$r = -0,145, p = 0,016^*$$

Abb. 8 B

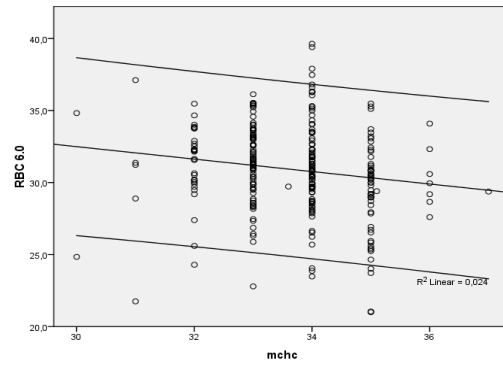


$$r = -0,160, p = 0,008^*$$

Abb. 8 A u. B: Korrelation zwischen MCHC und Erythrozytenverformbarkeit bei niedrigen Scherkräften (1,2 und 3,0 Pascal).  
Korrelationskoeffizient; 95 %-Konfidenzintervall.  
\*Statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

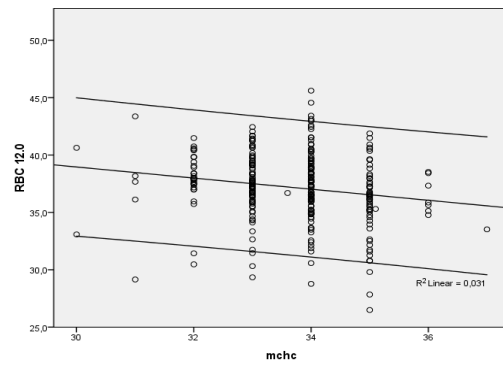
Im Gegensatz zu den positiven Korrelationen für MCH bzw. MCV und der Erythrozytenverformbarkeit bestand mit steigender Scherbelastung eine stetig zunehmende inverse Korrelation zwischen MCHC und der Erythrozytenverformbarkeit (Abb. 8 A bis F).

Abb. 8 C



$$r = -0,155, p = 0,010^*$$

Abb. 8 D

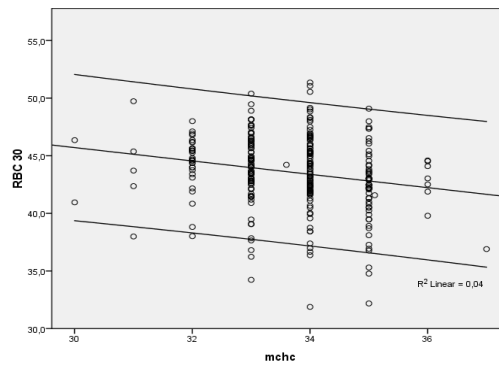


$$r = -0,176, p = 0,003^*$$

Abb. 8 C u. D: Korrelation zwischen MCHC und Erythrozytenverformbarkeit bei moderaten Scherkräften (6,0 und 12,0 Pascal).  
Korrelationskoeffizient; 95 %-Konfidenzintervall.  
\*Statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

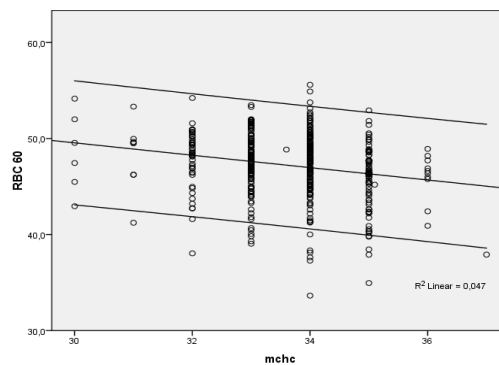


Abb. 8 E



$$r = -0,200, p = 0,001^*$$

Abb. 8 F



$$r = -0.202, p = 0.001^*$$

Abb. 8 E u. F: Korrelation zwischen MCHC und Erythrozytenverformbarkeit bei hohen Scherkräften (30,0 und 60,0 Pascal).

Korrelationskoeffizient; 95 %-Konfidenzintervall.

\*Statistisch signifikanter p-Wert ( $p < 0,05$ )

Bei den Abbildungen 6 bis 7 wurde bei zunehmendem MCV und auch MCH eine Verbesserung der Erythrozytenverformbarkeit ermittelt. Im Gegensatz dazu zeigen die Abbildungen 8 A bis F mit Erhöhung des MCHC eine Verminderung der Verformbarkeit der roten Blutkörperchen.

## 4. Diskussion

Die Ergebnisse unserer Untersuchung bei gesunden Frauen mittleren Alters und normal bis moderat erhöhtem Körpergewicht/BMI weisen insbesondere in Bereichen hoher Schubspannungen auf eine deutliche von den Indizes der roten Blutkörperchen MCV, MCH und MCHC bestehende Abhängigkeit der Erythrozytenverformbarkeit hin. Mit zunehmendem Alter der Frauen entwickelt sich auch in der Einzelbetrachtung der blutrheologischen Parameter eine tendenzielle Viskositätssteigerung, während der BMI nur teilweise Einfluss auf die Ergebnisse hatte. Die Dynamik der Viskosität ist in Bereichen hoher Scherkräfte am deutlichsten und hängt gemäß unseren Ergebnissen unter den einzelnen rheologischen Parametern vor allem von der Verformbarkeit der Erythrozyten ab. Das Ausmaß der Verformbarkeit roter Blutkörperchen wird von den auf sie einwirkenden Scherkräften bestimmt und ist bei großen MCV in Bereichen moderater und insbesondere hoher Scherkräften, wie sie *in vivo* beispielsweise in der Strombahn der Milzsinusoide vorliegen, am größten. Veränderungen des MCV und des MCH bei gesunden Frauen mit physiologischerweise vorwiegend normochromen Zellen verhalten sich proportional zueinander. Damit erklärt sich auch, dass unabhängig von den auf diese einwirkenden Scherkräften, ein höheres MCH keine negative Auswirkung auf die Verformbarkeit der Erythrozyten erkennen lässt. Gleichwohl hat die zytoplasmatische Viskosität, welche vorwiegend aus der Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten resultiert, Einfluss auf deren Rigidität. Dabei ist das Ausmaß der Rigidität - im Gegensatz zu MCV und MCH - bei hohem MCHC in Gegenwart hoher Scherkräfte am höchsten.

### 4.1 Einfluss des MCV auf die Verformbarkeit der Erythrozyten

Obschon größere MCV die Verformbarkeitseigenschaften roter Blutkörperchen eindeutig begünstigen, ist diesem Zusammenhang *in vivo* beim Passieren kleinster Kapillaren auch Grenzen gesetzt, wie dies bei Krankheitsbildern mit begleitender Makrozytose und resultierenden Mikrozirkulationsstörungen zu beobachten ist. Die Diagnose der Makrozytose ist *per definitionem* bei einem MCV von mehr als 100 fl

zustellen und wird in der Literatur mit einer durchschnittlichen Prävalenz von ungefähr 3 % beschrieben (101). Sie kann verschiedene Krankheitsverläufe, wie beispielsweise die aplastische oder megaloblastäre Anämie, Nieren- oder Lebererkrankungen, Alkoholismus, Hypothyreose begleiten und wird auch im Zusammenhang mit der Einnahme verschiedener Medikamente (z. B. Methotrexat oder Pyrimethamin) beobachtet (102).

Vaya et al. ermittelten bei hundertvierzehn Patienten mit Makrozytose und einem Zellvolumen von mindestens 97 fl (Bereich:  $115,9 \pm 5,2$  fl) unter moderaten und hohen Schubspannungen bzw. bei 12, 30 und 60 Pascal signifikant höhere Dehnungs-Indizes der roten Blutkörperchen gegenüber hundertfünfzehn normozytotischen gesunden Probanden einer Kontrollgruppe (101).

Chmiels et al. ektazytometrische Untersuchungen zur Erythrozytenverformbarkeit konnten bei Patienten mit Verschlussikterus und begleitender Makrozytose ( $n = 7$ ) im Vergleich zu einer aus vierundzwanzig gesunden Probanden bestehenden Kontrollgruppe ebenfalls höhere Erythrozyten-Dehnungs-Indizes belegen (103).

Die in mehreren Untersuchungen nachgewiesene Verformbarkeitsbesserung der Erythrozyten bei Makrozytose *in vitro* darf nicht als Hinweis einer Flussverbesserung im Bereich der Mikrozirkulation *in vivo* gewertet werden. Entsprechende Hinweise liefern ektazytometrische Untersuchungen bei HIV-Patienten. Kim et al. ermittelten bei sechsundvierzig HIV-infizierten Patienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe ( $n = 44$ ) eine signifikante Verminderung der durchschnittlichen Deformabilität der Erythrozyten, die unabhängig von einer begleitenden immunsuppressiven Therapie war (104). Ergänzende Untersuchungen von Engstrom et al. bei zweiundzwanzig HIV-positiven Patienten ergaben dabei einen signifikanten Zusammenhang zwischen Makrozytose und Beeinträchtigung des kapillaren Blutflusses (105).

#### 4.2 Eisenmangelanämie

Der von uns beobachtete günstige Einfluss einer niedrigen MCHC und der damit einhergehenden Verminderung der zytoplasmatischen Viskosität auf die Verformbarkeit

der Erythrozyten ist unter pathologischen Bedingungen begrenzt bis hin disparat, wie Untersuchungen bei Patienten mit Anämie zeigen. In weiteren Untersuchungen der spanischen Arbeitsgruppe unter Vaya (82) wurde mithilfe der auch in unserer Untersuchung eingesetzten Shear-Stress-Ektazytometrie bei 50 Patienten mit laborchemisch gesicherter Eisenmangel-Anämie im Vergleich zu einer Alters- und Geschlechts-gematchten gesunden Kontrollgruppe eine signifikant verminderte Erythrozytenverformbarkeit festgestellt. In Gegenwart moderater und hoher Schubspannungen lagen bei Eisenmangel-Anämie-Patienten die Dehnungs-Indizes der roten Blutkörperchen signifikant niedriger gegenüber den korrespondierenden Ergebnissen der gesunden Kontrollgruppe. Aufgrund der in der Literatur beschriebenen relativ hohen Standardabweichungen der Verformbarkeitsergebnisse unter Aussetzung niedriger Scherkräfte bei 1,2 und 3,0 Pascal, verzichtete die Arbeitsgruppe im Gegensatz zu unserem Vorgehen auf deren Darstellung. Leider wurden auch keine entsprechenden Korrelationsanalysen zwischen Erythrozyten-Indizes und der Erythrozytenverformbarkeit in dieser Studie durchgeführt und obgleich anämische Patienten signifikant niedrigere MCV- aber auch MCHC-Werte hatten, bleibt unklar, inwiefern und in welchem Umfang die einzelnen Indizes zur reduzierten Erythrozytenverformbarkeit bei Patienten mit einer Eisenmangel-Anämie tatsächlich beitragen.

#### 4.3 Hämoglobinopathien

Die in unserer Erhebung beobachtete altersabhängige Verformbarkeitsänderung mit Ausbildung tendenziell rigider Erythrozyten, betraf alle untersuchten Scherkraft-Bereiche. Die Rigidität als Folge eines verminderten MCVs spielt vermutlich auch für die Filterung und Elimination älterer Erythrozyten in der Milz eine gewichtige Rolle. Entsprechende Hinweise finden sich in den Untersuchungen von Bosch et al. (106), die mittels Zellfluss-Zentrifugation aus den Blutproben gesunder Probanden (n = 5) eine Fraktion älterer Erythrozyten gewannen und diese sich im Vergleich zu jüngeren Erythrozyten durch eine höhere MCHC, einem kleineren MCV und eine ektazytometrisch ermittelte reduzierte Verformbarkeit auszeichneten. Die

Rigiditätszunahme älterer Erythrozyten ist nach Romero und Romero auch mit höheren intrazellulären Kalziumkonzentrationen gegenüber jungen Erythrozyten verbunden (1, 89, 90, 91), welche sich mit einer verminderten Funktion der ATP-abhängigen Kalziumpumpe erklären ließen (93). Hämoglobinopathien, wie beispielsweise die Sichelzellenanämie (83, 84, 107) oder Thalassämie (108) gehen mit einer deutlichen Einschränkung der Erythrozytenverformbarkeit bzw. erhöhten –Rigidität einher. Dabei ist die reduzierte Verformbarkeit weniger das Ergebnis der Anämie selbst, sondern vielmehr Ausdruck einer verminderten Viskoelastizität, wie beispielsweise durch Bildung rigider Fasern des Hämoglobin S (HbS), die eine Deformation und Schädigung des Zytoskeletts und der Membran bei der Sichelzellenanämie nach sich zieht. Das Krankheitsbild der Sichelzellenanämie wird durch die Rigidität der Erythrozyten, der Adhäsion zwischen multiplen Zelltypen und Blutkomponenten (Sichel-Erythrozyten, Endothelzellen, adhären Leukozyten und möglicherweise Thrombozyten) sowie der lokalen Mikroumgebung (niedrige Sauerstoffsättigung und Azidose) geprägt. In Gegenwart eines niedrigen Sauerstoff-Partialdrucks ( $pO_2$ ) polymerisiert das intrazelluläre HbS und bedingt die Ausbildung der typischen und verformbarkeits-eingeschränkten Sichelzell-Morphologie der Erythrozyten (109). Zwischen verzögerten Durchgangszeiten der Erythrozyten in der Mikrozirkulation und dem Ausmaß der HbS-Polymerisation besteht ein unmittelbarer Zusammenhang, bei dem die Rigidität der Sichel-Erythrozyten letztendlich zu einer Stauung und peripheren Gefäßwiderstandserhöhung führt (110) und dies in der Summe mit dem Schweregrad der Erkrankung in hohem Maße korreliert (111). Entsprechende Hinweise liefern wiederum die Untersuchungen von Vaya et al. bei Patienten mit Sichelzellenanämie ( $n = 11$ ), die im Kontrollgruppen-Vergleich ektazytometrisch ermittelt signifikant niedrigere Werte für die Dehnungs-Indizes bei den moderaten und hohen Schubspannungen ausgesetzten Erythrozyten vorfanden (112). Während bei der Sichelzell-Anämie eine Hypoxie und Azidose zur Polymerisation des HbS führt, kristallisiert und aggregiert das intrazelluläre Hämoglobin C (HbC) in Gegenwart einer hohen Sauerstoffsättigung (107). Damit einher geht auch eine Verformbarkeitsminderung, die bei homozygoten (HbCC) Genträgern eine vergleichsweise milde hämolytische Anämie verursacht. Gemäß den Untersuchungen von Lemonne et al. scheint das Ausmaß der rheologischen

Abweichungen allerdings nicht maßgeblich für den Schweregrad der Erkrankung zu sein, da bei homozygoten HbC-Gen-Trägern (n = 7) eine deutlicher ausgeprägte hyperchrome Mikrozytose und gesteigerte Erythrozytenaggregation im Vergleich zu Patienten mit einer klinisch gravierenderen kombinierten HbSC-Sichelzell-Anämie (n = 82) und gesunden Probanden (n = 150) nachweisbar war. Darüber hinaus ermittelte diese Arbeitsgruppe mithilfe der Ektazytometrie-Technik im Vergleich zu den vorgenannten Gruppen aber auch Patienten mit HbSS-Sichelzell-Anämie (n = 97) eine signifikant geringere Erythrozytenverformbarkeit bei HbCC-Trägern, wobei die Ergebnisse allerdings nur unter hohen Scherkräften bzw. bei 30 Pascal durchgeführt wurden. Obgleich der in der Summe ungünstigeren blutrheologischen Ergebnissen bei HbCC-Gen-Trägern gegenüber Sichelzell-Erkrankten, beschränkt sich die klinische Manifestation bei Ersteren i. Allg. auf eine leichte hämolytische Anämie und Splenomegalie. Nach Auffassung der Autoren könnte die Mikrozytose trotz reduzierter Verformbarkeit kompensatorisch einen günstigen Einfluss auf die Passage der Erythrozyten in der Mikrozirkulation haben und damit die Effektivität des Sauerstofftransports bei der HbC-Erkrankung besser ausfallen als bei Patienten mit Sichelzell-Anämie.

Die rheologischen Eigenschaften der Erythrozyten bei Thalassämie ähneln denen der vorgenannten Hämoglobinopathien. Träger der verschiedenen Genvarianten synthetisieren vermindert bis hin fehlend strukturell intakte  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Polypeptid-Ketten des Globins, die bei homozygoter Vererbung ( $\beta$ -Th-Major) auf Grund einer ineffektiven Erythropoese bereits in den ersten Lebensmonaten ein schweres Krankheitsbild verursacht. Ein möglicher Hintergrund der bei Patienten mit  $\beta$ - und  $\delta$ -Thalassämie in ektazytometrischen Messungen ermittelten verminderten Erythrozytenverformbarkeit wird in der Bindung strukturell fehlerhafter Globinketten bzw. Globin-Präzipitate an die Zellmembran und die damit einhergehende Oxidation von Zytoskelettproteinen vermutet (113, 114, 115). Hierbei waren die prozentualen Änderungen der Dehnungs-Indizes der roten Blutkörperchen unter moderaten und hohen Scherkräfte-Bedingungen bzw. bei 12, 30 und 60 Pascal bei jeweils dreißig Patienten mit  $\beta$ - und  $\delta$ -Thalassämie minor signifikant kleiner als die entsprechenden korrespondierenden Ergebnissen einer aus vierzig gesunden Probanden bestehenden Kontrollgruppe. Überdies zeigte sich im

direkten Vergleich eine deutlichere Ausprägung der Erythrozyten-Rigidität bei Trägern einer  $\beta$ -Thalassämie minor gegenüber solchen mit  $\delta$ - $\beta$ -Thalassämie.

Während die strukturell morphologische Primärpathologie bei Hämoglobinopathien für die abweichenden rheologischen Eigenschaften und insbesondere die Rigidität der Erythrozyten verantwortlich ist, existieren lediglich theoretische Ansatzpunkte für erworbene blutrheologische Veränderungen.

#### 4.4 Schwangerschaftsassozierte Erkrankungen

Die normale Schwangerschaft hat physiologischerweise umfangreiche Auswirkungen auf den Verlauf fast aller rheologischer Einzelparameter, die vor dem Hintergrund einer Blutvolumenzunahme von bis zu 1,5 Litern im Laufe des 2. Trimesters und einer sich kontinuierlich ausbildenden Hyperkoagulabilität stattfindet (116) und hierbei die Ergebnisse der rheologischen Einzelparameter in der Summe erheblich von den Werten nichtschwangerer Frauen abweichen können. Andererseits finden sich bei hypertonen Schwangerschaftserkrankungen einschließlich Präeklampsie und HELLP-Syndrom aber auch im Zusammenhang mit einer fetalen intrauterinen Wachstumsretardierung (IUGR), bei Früh- und Fehlgeburten gegenüber entsprechenden Vergleichsgruppen teilweise signifikant unterschiedliche rheologische Wertebereiche (s. u.).

Schau et al. konnten bei schwangeren Frauen mit entweder Präeklampsie ohne IUGR ( $n = 15$ ), idiopathischer IUGR ( $n = 17$ ) oder Präeklampsie mit IUGR ( $n = 17$ ) gegenüber Schwangeren mit unkompliziertem Verlauf ( $n = 37$ ) ektazytometrisch zumindest temporär verminderte mittlere Erythrozytenverformbarkeiten in allen 3 Gruppen nachweisen, die aber in den überwiegenden Fällen bereits am 5. Tag *post partum* wieder mit den Werten der Kontrollgruppe vergleichbar waren. Das Ausmaß der Verformbarkeitsminderung der Erythrozyten war dabei unabhängig vom Nachweis einer IUGR (85). Ähnliche Resultate lieferte die Arbeitsgruppe Heilmann et al. bei fünfundvierzig Schwangeren mit schwerer Präeklampsie in der 27. bis 39. Schwangerschaftswoche (RR > 180/100 mmHg, Proteinurie > 3 g/24 h-Sammelurin), wobei die Dehnungs-Indizes unter niedrigen Scherkräften bzw. bei 0,3 und 6,0 Pascal auf dem Niveau der normal schwangeren Kontrollgruppe lag, jedoch in Gegenwart

hoher Scherkräfte (12 bis 60 Pascal) eine signifikant höhere Rigidität im Vergleich zu fünfundvierzig Alters- gematchten Schwangeren mit unkompliziertem Schwangerschaftsverlauf ermittelt wurde (117).

Dopplersonographische Blutflussmessungen in den uteroplazentaren Gefäßen erlauben eine mit der klinischen Situation und Versorgungslage zum Feten in hohem Maße übereinstimmende Aussage. Der Blutfluss wiederum wird vom mütterlichen Herzzeitvolumen, dem Gefäßwiderstand und den blutrheologischen Eigenschaften bestimmt (118). Während vorwiegend niedrige Scherkräfte im terminalen Bereich der Spiralarterien vorliegen, sind die Erythrozyten im Zottenzwischenraum der Plazenta hohen Scherkräften ausgesetzt und damit können seitens der Rheologie viskositätserhöhende Veränderungen, d. h. eine verminderte Erythrozytenverformbarkeit den diaplazentaren Austausch potentiell einschränken (117).

#### 4.5 Adipositas

In unserer Erhebung zeigen sämtliche blutrheologischen Ergebnisse eine Altersabhängigkeit, währenddessen eine gesteigerte Erythrozytenaggregation und Plasmaviskositätserhöhung bei den nach Maßgabe der WHO-Kategorien (25 bis 30 kg/m<sup>2</sup>) moderat übergewichtigen Frauen mit einem tendenziell höheren BMI einherging. Letzterer hatte gemäß unseren Ergebnissen keinen statistisch nachweisbaren Einfluss auf die Verformbarkeitsmessungen der Erythrozyten. Die Bedeutung des Körpergewichts auf die Blutrheologie im Zusammenhang mit einer Adipositas ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen mit z. T. kontroversen Ergebnissen. In vier Studien wurde eine signifikante Korrelation zwischen dem Ausmaß der Adipositas bei Patienten mit erheblicher Adipositas (Grad III) oder morbidem Adipositas und der Ausbildung einer Hyperviskosität nachgewiesen, welche sich insbesondere durch eine deutlich erhöhte Erythrozyten-Rigidität (119, 120, 121, 122) auszeichnete.

Gewichtsreduktion oder eine niederkalorische Diät führten zur Normalisierung der hämorheologischen Parameter (123, 124). Ektazytometrische Untersuchungen von Sola et al. bei siebenundsechzig adipösen Patienten (BMI > 35 kg/m<sup>2</sup>) ohne weitere zusätzliche kardiovaskuläre Risikofaktoren, ergaben im Vergleich zu siebenundsechzig



normgewichtigen Probanden einer gesunden Kontrollgruppe keine statistisch signifikant unterschiedlichen mittleren Erythrozytenverformbarkeiten unter moderaten und hohen Scherkräftebedingungen (12, 30 und 60 Pascal). Demgegenüber war in dieser Untersuchung bei extrem adipösen Patienten mit metabolischem Syndrom die Erythrozytenverformbarkeit signifikant niedriger als bei Patienten ohne Syndromnachweis, sodass die Autoren eine Insulinresistenz bei der extremen Adipositas und weniger die Adipositas selbst für die verminderte Erythrozytenverformbarkeit verantwortlich machten (125).

In drei weiteren Studien konnte ein entsprechender Zusammenhang bei Patienten mit vorwiegend mittelschwerer Adipositas Grad I und II nicht bestätigt werden (126, 127, 128). Bemerkenswerterweise korreliert ein hohes Cholesterin/Phospholipid-Verhältnis in der Lipidzusammensetzung der Erythrozytenmembran mit dem Ausmaß der Verformbarkeitsminderung (129, 130, 131, 132, 133).

#### 4.6 Diabetes mellitus

Bei diabetischen Patienten führt vermutlich eine Glykolisierung von Membranproteinen, wie beispielsweise Beta-Spektrin, Ankyrin und Protein 4.1 zu einer Verminderung der viskoelastischen Zellmembraneigenschaften der Erythrozyten (134, 135), mit resultierender Verformbarkeitsminderung, welche letztlich einen potentiellen Beitrag für die Entwicklung schwerer neuropathischer Mikrozirkulationsstörungen darstellen kann. In Untersuchungen von Brown et al. wurden bei siebenundfünfzig Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2, unabhängig vom Schweregrad einer begleitenden manifesten Niereninsuffizienz, mittels Filtrationstechnik eine verminderte Erythrozytenverformbarkeit vorgefunden (136). Analoge Ergebnisse liefern die Untersuchungen von Banerjee et al. bei fünfundzwanzig diabetischen Patienten, wobei die Messung der Rigidität und Bestimmung der internen Viskosität bei hohen Scherkräften mittels Contraves-LS 30-Viskosimeter erfolgte (137). Eine inverse Beziehung zwischen dem Schweregrad der Grunderkrankung beim Diabetes und der Verformbarkeit der Erythrozyten konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden (136, 137, 138, 139).

Eine Subgruppenanalyse und die Bildung von Alters- und Gewichtsklassen oder auch weitere Korrelationen zu beispielsweise Blutdruckveränderungen wurde in der hier vorliegenden Arbeit nicht durchgeführt, da hierbei die Anzahl in den einzelnen Untergruppen zum Teil sehr klein ausgefallen wäre und somit keine statistisch sinnvolle Analyse möglich gewesen wäre. Ferner war es unser Ziel im Rahmen der uns zugänglichen Patientinnen mit den bekannten Parametern Alter und BMI Trends aufzuzeigen. In weiteren Studien mit einer deutlich größeren Anzahl an Probandinnen in den einzelnen Subgruppen wäre eine Stratifizierung durchaus sinnvoll.

Für eine Einordnung pathologischer Messergebnisse ist der Vergleich mit Normwerten gesunder Frauen notwendig. Ziel der vorliegenden Arbeit war es unter anderem auch, einen Beitrag hierfür und die Bedeutung der Blutrheologie und des Blutflusses bei gesunden Patientinnen zu leisten. Im Gegensatz zu anderen publizierten rheologischen Studien basiert diese Arbeit auf einer relativ hohen Fallzahl. Die damit erhaltenen Daten könnten als Referenzwerte für künftige Studien, insbesondere unsere eigenen, dienen.

## 5. Zusammenfassung

In einer Reihe von Untersuchungen wurden in Gegenwart unterschiedlicher pathologischer Bedingungen und Krankheitsbildern Zusammenhänge zwischen blutrheologischen Messgrößen und Erythrozyten-Indizes erarbeitet und die Ergebnisse denen aus relativ kleinen inhomogenen Kontrollgruppen gegenübergestellt. Demgegenüber sind entsprechende Zusammenhänge an einer repräsentativen, gesunden und vergleichbaren Klientel mit ausreichender Fallzahl bisher kaum belegt.

Die vorliegende Arbeit quantifiziert die Korrelationen zwischen blutrheologischen Parametern und Erythrozyten-Indizes an einem repräsentativen und gut definierten Kollektiv gesunder Frauen im Vorfeld eines elektiven gynäkologischen Eingriffes.

Gemäß der erhobenen Resultate besteht bei 286 gesunden Frauen mittleren Alters zwischen der Verformbarkeit, dem MCV und dem MCH der Erythrozyten eine statistisch signifikante Korrelation, die in Gegenwart hoher Scherkräfte an Ausprägung zunimmt. Gleichzeitig vermindert sich mit zunehmender MCHC die Erythrozytenverformbarkeit stetig und statistisch signifikant, wobei dieser Effekt am deutlichsten in Gegenwart hoher Scherkräfte, wie diese beispielsweise in den Kapillaren der Endstrombahn anzunehmen sind, nachweisbar ist. Es besteht hierbei eine statistisch signifikante Altersabhängigkeit für alle Ergebnisse der blutrheologischen Parameter, während für den BMI der leicht übergewichtigen Frauen (WHO 25 bis 30 kg/m<sup>2</sup>) eine tendenzielle Zunahme der Erythrozytenaggregation und Plasmaviskosität besteht. Veränderungen der MCV und MCH bei gesunden Frauen mit physiologischerweise vorwiegend normochromen Zellen verhalten sich proportional zueinander. Dies erklärt auch, dass unabhängig von den auf sie einwirkenden Scherkräften ein höheres MCH keine negative Auswirkung auf die Verformbarkeit der Erythrozyten erkennen lässt.

Die Verformbarkeit der Erythrozyten ist, unseren Messungen zufolge, unter den blutrheologischen Parametern Hauptinflussfaktor auf die Viskosität, deren Dynamik bei hohen Scherkräften am ausgeprägtesten ist. Unter diesen Bedingungen finden sich auch im Gegensatz zu MCH und MCV, bei hohem MCHC die höchste Rigidität der Erythrozyten.

Die Resultate der vorliegenden Arbeit basieren auf der bisher größten publizierten

Fallzahl gesunder Frauen und sollen in weitergehenden Untersuchungen bei Patientinnen mit onkologischen Erkrankungen aber auch schwangeren Frauen eine Bewertung der rheologischen Eigenschaften erleichtern.

- 1 S. Chien, Red cell deformability and its relevance to blood flow, *Annuals Rev Physiol* 49 (1987), 177-192.
- 2 G. D. Lowe, J. C. Barbenel, Plasma and blood viscosity, *Clinical blood rheology*; CRC Press (1988), 1-44.
- 3 G. Mchedlishvili, Disturbed blood flow structuring as critical factor of hemorheological disorders in microcirculation, *Clin Hemorheol Microcirc.* 19 (4) (1998), 315-25.
- 4 R. F. Schmidt, F. Lang, M. Heckmann, *Physiologie des Menschen*, Auflage 31 (2011), 478-9.
- 5 R. Mahlberg, A. Gilles, A. Läsch, *Hämatologie: Theorie und Praxis für medizinische Assistenzberufe*, 2. Auflage (2005), 6.
- 6 H. H. Lipowsky, S. Usami and S. Chien, In vivo measurements of “apparent viscosity” and microvessel hematocrit in the mesentery of the cat. *Microvasc. Res.* 19 (1980), 297.
- 7 I. H. Sarelius and B. R. Duling, Direct measurement of microvessel hematocrit, red cell flux, velocity, and transit time, *Am. J. Physiol.* 243 (1982), H1018.
- 8 A. R. Pries, G. Kanzow and P. Gaehtgens, Microphotometric determination of hematocrit in small vessels. *Am. J. Physiol.* 251 (1983), H1324.

- 
- 9 A. R. Pries, K. Ley and P. Gaehtgens, Generalization of the Fahraeus principle for microvessel networks, *Amer. J. Physiol.* 251 (1986), H1324-H1332.
  - 10 R. Fahraeus. The suspension stability of blood. *Physiol. Rev.* 9 (1929), 241.
  - 11 S. Chien, S. Usami and R. Skalak (1984). Blood flow in small tubes. In "Handbook of Physiology-The Cardiovascular System IV", *Am. Physiol. Soc.*, Bethesda, MD. 6 (1984), 217-49.
  - 12 B. M. Fenton, R. T. Carr and G. R. Cokelet, (1985) Nonuniform red cell distribution in 20 -to 100 - $\mu\text{m}$  bifurcations. *Microvasc. Res.* 29 (1985), 103.
  - 13 A. R. Pries, T. W. Secomb, P. Gaehtgens and J. F. Gross, Blood flow in microvascular networks, Experiments and simulation. *Circ Res*, 67 (4) (1990), 826-34.
  - 14 T. Somer, Rheology of paraproteinaemias and the plasma hyperviscosity syndrome, *Baillière's Clin. Haematol.* 1 (1987), 695-723.
  - 15 T. Somer and H. J. Meiselman, Disorders of blood viscosity, *Ann. Med.* 25 (1993), 31-9.
  - 16 H. Kiesewetter, F. Jung, E. Wenzel, G. Müller, Variance, Influence Factors and Clinical Relevance of Plasma Viscosity, *Biomed. Technik* 36 (1991), 241-47.
  - 17 F. Jung, H.G. Roggenkamp, E.B. Ringelstein, G. Leipnitz, R. Schneider, H. Kiesewetter and H. Zeller, Effect of sex, age, body weight, and smoking on plasma viscosity, *Klin. Wochenschr.* 64 (1986), 1076-81.

- 
- 18 A. R. Pries and T. W. Secomb, Resistance to blood flow in vivo: from Poiseuille to the “in vivo viscosity law”, *Biorheology* 34 (1997), 369-73.
- 19 S. Chien, Physiological and patophysiological significance of hemorheology, in: *Clinical Hemorheology*, S. Chien, J. Dormandy, E. Ernst and A. Matrai, eds, Nijhoff, The Hague (1987), 125-64.
- 20 D. L. Dawson, Comparative effects of cilostazol and other therapies for intermittent claudication, *Am. J. Cardiol.* 87 (12A) (2001), 19D-27D.
- 21 R. B. Devereux, Whole blood viscosity as a determinant of cardiac hypertrophy in systemic hypertension, *Am. J. Cardiol.* 54 (1984), 592-5.
- 22 A. R. Pries, K. Ley, M. Classen and P. Gaehtgens, Red cell distribution at microvascular bifurcations, *Microvasc. Res.* 38 (1989), 81-101.
- 23 W. F. Ganong, *Review of Medical Physiology*, International edn, 17th edn, Appleton and Lange, East Norwalk, CT, (1995), 282-4.
- 24 A. Marossy , P. Švorc, I. Kron and S. Grešová, Hemorheology and circulation. *Clin Hemorheol Microcirc*, 42 (4) (2009), 239-58.
- 25 C. W. Van der Elst, A. F. Malan and H. V. de Heesse, Blood viscosity in modern medicine, *S. Afr. Med. J.* 52 (1977), 526-528.
- 26 G. B. Thurston, Non-Newtonian viscosity of human blood: flow-induced changes in red cell microstructure, *Biorheology* 31 (1994), 179-192.

- 
- 27 O. K. Baskurt, H. J. Meiselman, Cellular determinants of low-shear blood viscosity, *Biorheology* 34 (1997), 235.
- 28 R. Fahraeus, The influence of the rouleaux formation of the erythrocytes on the rheology of the blood, *Acta Med Scand* 161 (1958), 151.
- 29 S. Chien, L. A. Lang, Physicochemical basis and clinical implications of red cell aggregation, *Clin. Hemorheol* 7 (1987), 71-91.
- 30 M. W. Rampling, H. J. Meiselman, B. Neu, O. K. Baskurt. Influence of cell-specific factors on red blood cell aggregation, *Biorheology* 41 (2004), 91-112.
- 31 S. N. Warwick, E. Westein, F. J. Tovar-Lopez, E. Tolouei, A. Mitchell, J. Fu, J. Carberry, A. Fouras, S. P. Jackson, A shear gradient-dependent platelet aggregation mechanism drives thrombus formation, *Nat. Med.* 15(6) (2009), 665-73.
- 32 N. Björn, R. Wenby, H. J. Meiselman. Effects of dextran molecular weight on red blood cell aggregation, *Biophys. J.* 95 (2008), 3059-65.
- 33 S. R. F. Whittaker, F. R. Winton, The apparent viscosity of blood flowing in the isolated hindlimb of the dog and its variation with corpuscular concentration, *J Physiol Lond* 78 (1933), 339.
- 34 P. Martini, A. Pierach, E. Scheryer, Die Stromung des Blutes in engen Gefäßen. Eine Abweichung vom Poiseuille'schen Gesetz. *Deutsches. Archiv für klinische Medizin* 169 (1930), 212-22.



- 
- 35 R. Fahraeus, T. Lindqvist, The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *Am. J. Physiol.* 96 (1931), 562-8.
- 36 J. J. Bishop, A.S. Popel, M. Intaglietta and P.C. Johnson, Effects of erythrocyte aggregation and venous network geometry on red blood cell axial migration, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281 (2001), H939-H950.
- 37 H. L. Goldsmith and S. G. Mason, Axial migration of particles in Poiseuille, flow, *Nature* 190 (1961), 1095-6.
- 38 S. Kim, P.K. Ong, O. Yalcin, M. Intaglietta and P.C. Johnson, The cell-free layer in microvascular blood flow, *Biorheology* 46 (2009), 181-9.
- 39 P. K. Ong, S. Jain, B. Namgung, Y.I. Woo and S. Kim, Cell-free layer formation in small arterioles at pathological levels of erythrocyte aggregation, *Microcirculation* 18 (2011), 541-51.
- 40 G. R. Cokelet and H. L. Goldsmith, Decreased hydrodynamic resistance in the two-phase flow of blood through small vertical tubes at low flow rates, *Circ Res* 68 (1991), 1-17.
- 41 R. M. Bauersachs, S. J. Shaw, A. Zeidler and H. J. Meiselman, Red blood cell aggregation and blood viscoelasticity in poorly controlled type 2 diabetes mellitus, *Clin Hemorheol* 9 (1989), 935-52.
- 42 H. Schmid-Schonbein, Fluid dynamics and hemorheology in vivo: The interactions of hemodynamic parameters and hemorheological “properties” in determining the flow behavior of blood in microvascular networks, in: G.D.O. Lowe, ed., *Clinical blood rheology*, CRC Press, Florida, 1988, 129-219.

- 
- 43 Y. C. Fung, W. C. O. Tsang and P. Patitucci : High-resolution data on the geometry of red blood cells. *Biorheology* 18 (3-6) (1981), 369-85.
- 44 O. Linderkamp, Y .K. Wu Paul and H. J. Meiselman, Geometry of Neonatal and Adult Red Blood Cells *Pediatr. Res.* 17 (1983): 250-3.
- 45 L. Thomas, C. Thomas. Zerythrozyten (Zellzahl und -indices). In :L. Thomas (Hrsg) "Labor und Diagnose", TH-Books 6. Aufl. (2005), 675.
- 46 R. Herklotz. Lüthi U., C. Ottiger, A. R. Huber Referenzbereiche In der Hämatologie. *Therapeut. Umschau* 63 (2006), 5.
- 47 V. Bocci, Determinants of erythrocyte ageing: A reappraisal. *Br J Haematol* 48 (1981), 515-22.
- 48 G. B. Nash GB, H. J. Meiselman Hi, Red cell ageing: Changes in deformability and other possible determinants of in vivo survival. *Microcirculation* 1 (1981), 255.
- 49 S. Usami, S. Chien, MI Gregersen, Viscometric behavior of young and aged erythrocytes, *Theoretical and Clinical Hemorheology*, Berlin Springer (1971), 266-70.
- 50 W. Tillmann, C. Levin, G. Prindull, W. Schröter, Rheological properties of young and aged human erythrocytes. *Klin Wochenschr* 58 (1980), 569.
- 51 W. D. Corry, H.J. Meiselman, Centrifugal method of determining red cell deformability. *Blood* 51 (1978), 693.

- 
- 52 H. J. Klose, S. Kelson, O. Linderkamp, K. Riegel, K. Betke, Microrheology of young and old red cells in childhood iron deficiency and hemolytic anemias. *Bibl Anat* 20 (1981), 178.
- 53 P. L. La Celle, B. Arkin, Acquired rigidity: A possible determinant of normal RBC life span. *Blood* 36 (1970), 837.
- 54 T. Shiga, N. Maeda, T. Suda, K. Kon, M. Sekiya, The decreased membrane fluidity of in vivo aged, human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 553 (1979), 84.
- 55 G. R. Cokelet, Dynamics of erythrocyte motion in filtration tests and in vivo flow. *Scand J Clin Lab Invest* 41 (Suppl 156) (1981), 77.
- 56 J. E. Smith, Erythrocyte membrane: Structure, function and pathophysiology, *Vet Pathol* 24 (1987), 471.
- 57 B. Glader, J. Lukens, Hereditary spherocytosis and other anemias due to abnormalities of the red cell membrane. In: GR. Lee, J. Forester, J. Lukens, F. Paraskevas, J. Greer, G. Rodgers (eds.): *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10th ed, vol 1. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore (1999), 132-1134, 1150-1.
- 58 P. S. Low, Structure and function of the cytoplasmic domain of band 3: center of erythrocyte membrane-peripheral protein interactions, *Biochim. Biophys. Acta* 864 (2) (1986), 145-67.
- 59 J. Yu and T. L. Steck, Isolation and characterization of band 3, the predominant polypeptide of the human erythrocyte membrane, *J. Biol. Chem.* 250 (23) (1975), 9170-5.

- 
- 60 R. R. Kopito and H. F. Lodish, Primary structure and transmembrane orientation of the murine anion exchange protein, *Nature* 316 (6025) (1985), 234-8.
- 61 M. L Jennings, Structure and function of the red blood cell anion transport protein, *Annu. Rev Biophys Biophys Chem.* 18 (1989), 397- 430.
- 62 R. A. F. Reithmeier, The erythrocyte anion transporter (band 3), *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3 (1993), 515-23.
- 63 S. Lepke and H. Passow, Effects of incorporated trypsin on anion exchange and membrane proteins in human red blood cell ghosts, *Biochim. Biophys. Acta* 455 (2) (1976), 353-70.
- 64 S. Grinstein, S. Ship and A. Rothstein, Anion transport in relation to proteolytic dissection of band 3 protein, *Biochim. Biophys. Acta* 507 (2) (1978), 294-304.
- 65 S. Lepke, A. Becker and H. Passow, Mediation of inorganic anion transport by the hydrophobic domain of mouse erythroid band 3 protein expressed in oocytes of *Xenopus laevis*, *Biochim. Biophys. Acta* 1106 (1) (1992), 13-6.
- 66 L. Tilley and W. H. Sawyer, Rotational dynamics of human erythrocyte band 3: monitoring the aggregation state of an integral membrane protein, *Comments Mol. Cell. Biophys.* 7 (1992), 333-52.
- 67 M. M. Kay, Localization of senescent cell antigen on band 3, *Proc Natl Acad Sci USA.* 81 (18) (1984), 5753-7.

- 
- 68 H. U. Lutz, Naturally occurring anti-band 3 antibodies, *Trans. Med. Rev.* 6 (3) (1992), 201-11.
- 69 E. Ungewickell, P. M. Bennett, R. Calvert, V. Ohanian, W. B. Gratzer, In vitro formation of a complex between cytoskeletal proteins of the human erythrocyte. *Nature (Lond.)* 280 (1979), 811.
- 70 P. M. Taylor-Harris, L. E. Felkin, E. J. Birks, R. C. Franklin, M. H. Yacoub, A. J. Baines, P. J. Barton, J. C. Pinder, Expression of human membrane skeleton protein genes for protein 4.1 and betaIIISigma2-spectrin assayed by real-time RT-PCR, *Cell Mol Biol Lett* 10 (2005), 135-49.
- 71 Y. Takakuwa, Regulation of red cell membrane protein interactions: implications for red cell function, *Curr Opin Hematol* 8 (2001), 80-4.
- 72 V. Martel, C. Racaud-Sultan, S. Dupe, C. Marie, F. Paulhe, A. Galmiche, M. R. Block, C. Albiges-Rizo, (2001) Conformation, localization and integrin binding of talin dependent on its interaction with phosphoinositides, *J Biol Chem* 276 (2001), 21217-27.
- 73 P. Mangeat, C. Roy, M. Martin, ERM proteins in cell adhesion and membrane dynamics, *Trends Cell Biol* 9 (1999), 187-92.
- 74 M. B. Morris, S. E. Lux, Characterization of the binary interaction between human erythrocyte protein 4.1 and actin, *Eur J Biochem* 231 (1995), 6444-650.
- 75 V. Ohanian, L. C. Wolfe, K. M. John, J. C. Pinder, S. E. Lux, W. B. Gratzer, Analysis of the ternary interaction of the red cell membrane skeletal proteins spectrin, actin and 4.1, *Biochemistry* 23 (1984), 4416-20.

- 
- 76 S. E. Lux & J. Palek, Disorders of the red cell membrane.  
Blood: Principles and Practice of Hematology (ed. by R. I. Handin,  
S. E. Lux and T. P. Stossel), Lippincott, Philadelphia (1995), 1701-1818.
- 77 T. Chan, M. Y. Jaffrin, V. Seshadri, C. McKay, Flows of Red Blood Cell  
Suspensions through narrow Two-Dimensional Channels, *Biorheology* 19  
(1982), 253-67.
- 78 R. Waugh, E. A. Evans, Thermoelasticity of red blood cell membrane,  
*Biophysical Journal* 26(1) (1979), 115-31.
- 79 O.K. Baskurt und H.J. Meiselmann, Blood rheology and hemodynamics,  
*Semin Thromb Hemost* 5 (2003), 435-50.
- 80 S. Keymel, C. Heiss, P. Kleinbongard, M. Kelm and T. Lauer, Impaired red  
blood cell deformability in patients with coronary artery disease and diabetes  
mellitus, *Horm Metab Res* 43 (2011), 760-5.
- 81 S. Sehyun, K. Yunhee, B Narayanan , S. Megha, Erythrocyte deformability and  
its variation in diabetes mellitus, *Indian Journal of Experimental Biology* Vol.  
45 (2007), 121-8.
- 82 A. Vaya', M. Simo', M. Santaolaria, J. Todol'ı and J. Aznar, Red blood cell  
deformability in iron deficiency anaemia, *Clin Hemorhoel Microcirc* 33 (2005),  
75-80.
- 83 P. Connes, Y. Lamarre, X. Waltz, S. K. Ballas, N. Lemonne, M. Etienne-Julan,  
O. Hue, M. D. Hardy-Dessources and M. Romana, Haemolysis and abnormal  
haemorheology in sickle cell anaemia, *Br J Haematol* 165 (2014), 564-72.

- 
- 84 N. Lemonne, M. Billaud, X. Waltz, M. Romana, R. Hierso, M. Etienne-Julan and P. Connes, Rheology of red blood cells in patients with HbC disease, *Clin Hemorheol Microcirc* (2014). doi: 10.3233/CH-141906.
- 85 B. Schauf, U. Lang, P. Stute, S. Schneider, K. Dietz, B. Aydeniz and D. Wallwiener, Reduced red blood cell deformability, an indicator for high fetal or maternal risk, is found in preeclampsia and IUGR, *Hypertens Pregnancy* 21 (2002), 147-60.
- 86 S. Chien, Principles and techniques for assessing erythrocyte deformability, *Blood Cells* 3 (1977),71-99.
- 87 F. G. Cunnigham, T. Lowe, S. Guss, R. Mason, Erythrozyte morphology in women with severe preeclampsia and eclampsia, *Am J Obstet Gynecol* 153 (4) (1985), 358-63.
- 88 P. Tamás, P. Gresele, A. Kett, G. G. Nenci, I. F. Csaba, Red Cell Deformability Alterations in Normal Late Pregnancy: Possible Role of Plasma Components, *Gynecol Obstet Invest* 32 (1991), 213-6.
- 89 B. Schauf, Erythrozytenflexibilität: Entwicklung eines neuen Messverfahrens und dessen Anwendung bei der Analyse der in vitro Alterung humaner Erythrozyten, Inauguraldissertation (1992), Universität Düsseldorf.
- 90 B. Schauf, B. Aydeniz, R. Pijnenborg, D. Wallwiener, Zusammenhang zwischen Erythrozytenverformbarkeit und intraerythrozytärem ATP in der Schwangerschaft, *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 62 (2002a), 477-80.

- 
- 91 T. Shiga, M. Sekiya, N. Maeda, K. Kon, M. Okazaki, Cell age-dependent changes in deformability and calcium accumulation of human erythrocytes, *Biochim. Biophys. Acta* 814 (1985), 289-99.
- 92 C. R. Kiefer, L. M. Snyder. Oxidation and erythrocyte senescence, *Curr Opin Hematol.* 7 (2) (2000), 113-6.
- 93 P. J. Romero, E. A. Romero, Differences in  $\text{Ca}^{+2}$  pumping activity between sub-populations of human red cells, *Cell Calcium.* 21 (1997), 353-8.
- 94 R. M. Johnson, Ektacytometry of red blood cells, *Methods in Enzymology* 173 (1989), 35-54.
- 95 P. Ruef, L.M.B. Pöschl and O. Linderkamp, The rheodyn SSD for measuring erythrocyte deformability, *Biorheology* 32 (1995), 357-8.
- 96 H. Schmid - Schönbein, P. Ruef, O. Linderkamp, The shear stress diffractometer rheodyn SSD for determination of Erythrocyte deformability, *Clinical Haemorheology* Vol. 16 No. 6 (1996), 745-8.
- 97 O. K. Baskurt, M. R. Hardemann, M. Uyklu, P. Ulker, M. Cengiz., N. Nemeth, S. Shin, T. Alexy und H.J. Meiselman, comparison of three commercially available ektacytometers with different shearing geometries, *Biorheology* 46 (2009), 251-64.
- 98 H. Schmid-Schönbein, J. von Gosen, L. Heinich, H. J. Klose, E. Volger, A counter-rotating "rheoscope chamber" for the study of the microrheology of blood cell aggregation by microscopic observation and microphotometry, *Microvasc Res* 6 (3) (1973), 366-76.



- 
- 99 F. Jung, H. G. Roggenkamp, E. B. Ringelstein, J. Schmidt, H. Kiesewetter, The Capillary Tube Plasma Viscometer: Methodology, Quality Control and Reference Range, *Biomed. Technik* 30 (1985), 152-8.
- 100 F. Jung, H. G. Roggenkamp, R. Schneider, H. Kiesewetter, The capillary tube plasma viscosimeter, a new instrument for the measurement of the plasma viscosity, *Biomed Tech* 27 (1983), 249-52.
- 101 J. Kaferle and C. E. Strzoda, Evaluation of macrocytosis, *Am Fam Physician* 79 (2009), 203-208.
- 102 A. Vaya', E. Bonet, M. Romagnoli, C. Nunez and J. Todoli, Erythrocyte deformability in macrocytosis determined by means of ektacytometry techniques, *Clin Hemorheol Microcirc* 45 (2010), 27-33.
- 103 B. Chmiel, Red blood cell's deformability in obstructive jaundice, *Wiad Lek* 54 (2001), 262-267.
- 104 A. Kim, H. Dadgostar, G. N. Holland, R. Wenby, F Yu, B. G. Terry, H. J. Meiselman, Hemorheologic abnormalities associated with HIV infection: altered erythrocyte aggregation and deformability, *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 47 (2006), 3927-32.
- 105 R. E. Jr. Engstrom, G. N. Holland, W. D. Hardy, H. J. Meiselman, Hemorheologic abnormalities in patients with human immunodeficiency virus infection and ophthalmic microvasculopathy, *Am J Ophthalmol*. 109 (1990), 153-61.

- 
- 106 F. H. Bosch, J. M. Werre, L. Schipper, B. Roerdinkholder-Storlwinder, T. Huls, F.L. Willekens, G. Wichers und M.R. Halie, Determinants of red blood cell deformability in relation to cell age, *Eur J Haematol* 52 (1994), 35-41.
- 107 E. Du, M. Diez-Silva, G.J. Kato, M. Dao and S. Suresh, Kinetics of sickle cell biorheology and implications for painful vasoocclusive crisis, *Proc Natl Acad Sci U S A* 112 (2015), 1422-7.
- 108 S. T. Singer, E. P. Vichinsky, S. Larkin, N. Olivieri, N. Sweeters and F. A. Kuypers, E/beta Thalassemia Study Group. Hydroxycarbamide-induced changes in E/beta thalassemia red blood cells, *Am J Hematol* 83 (2008), 842-5.
- 109 W. A. Eaton, J. Hofrichter, Hemoglobin S gelation and sickle cell disease, *Blood* 70 (5) (1987), 1245-66.
- 110 D. K. Kaul, R. L. Nagel, S. Baez, Pressure effects on the flow behavior of sickle (HbSS) red cells in isolated (ex-vivo) microvascular system, *Microvasc Res* 26 (2) (1983), 170-81.
- 111 W. A. Eaton, J. Hofrichter, P. D. Ross, Editorial: Delay time of gelation: A possible determinant of clinical severity in sickle cell disease, *Blood* 47 (4) (1976), 621-7.
- 112 A. Vayá, S. Collado, M. A Dasí, M. L. Pérez, J. L. Hernandez, E. Barragán, Erythrocyte deformability and aggregation in homozygous sickle cell disease, *Clin Hemorheol Microcirc.* 58 (2014), 497-505.

- 
- 113 M. D. Scott, P. Rouyer-Fessard, M. S. Ba, B .H. Lubin and Y. Beuzard, Alpha and beta haemoglobin chain induced changes in normal erythrocyte deformability: comparison to beta thalassemia intermedia and HbH disease, *Br. J. Haematol.* 80 (1992), 519-26.
- 114 G. Fiorelli, F. Turrini, F. Mannu, F. Porro, G. Graziadei, D. Tavazzi, L. Duca and M. D. Cappellini, Erythrocyte membrane alterations in thalassemia intermedia, *Clin. Hemorheol.* 16 (1996), 789-97.
- 115 A. M. Dondorp, K. T. Chotivanich, S. Fucharoen, K. Silamut, J. Vreeken, P. A. Kager and N. J. White, Red cell deformability, splenic function and anaemia in thalassaemia, *Br. J. Haematol.* 105 (1999), 505-8.
- 116 G. F. von Tempelhoff, E. Velten, A. Yilmaz, G. Hommel, L. Heilmann, J. Koscielny, Blood rheology at term in normal pregnancy and in patients with adverse outcome events, *Clin Hemorheol Microcirc.* 42 (2) (2009), 127-39.
- 117 L. Heilmann, W. Rath, K. Pollow, Hemorheological changes in women with severe preeclampsia, *Clin Hemorheol Microcirc.* 31 (1) (2004), 49-58.
- 118 J. W. Dudenhausen, W. Pschyrembel, *Praktische Geburtshilfe mit geburtshilflichen Operationen*, 19. Auflage (2001), 49-53.
- 119 S. B. Solerte, M. Fioravanti, N. Pezza et al., Hyperviscosity and microproteinuria in central obesity: relevance to cardiovascular risk, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 21 (1997), 417-23.
- 120 P. Valensi, J. Paries, P. Maheo, F. Gaudey and J.R. Attali, Erythrocyte rheological changes in obese patients: influence of hyperinsulinism, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 20 (1996), 814-9.

- 
- 121 A. Perez-Martin, M. Dumortier, E. Pierrisnard, E. Raynaud, J. Mercier and J. F. Brun, Multivariate analysis of relationships between insulin sensitivity and blood rheology: is plasma viscosity a marker of insulin resistance?, *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 25 (2001), 91-103.
- 122 C. Le Devehat, T. Khodabandehlou and M. Dougny, [Hemorheological parameters in isolated obesity]. *Diabete Metab.* 18 (1992), 43-7.
- 123 C. R. Hankey, A. Rumley, G. D. O. Lowe, M. Woodward and M. E. J. Lean, Moderate weight reduction improves red cell aggregation and factor VII activity in overweight subjects, *Int J Obes Relat Metab Disord* 21 (1997), 644-50.
- 124 M. Poggi, G. Palareti, R. Biagi, C. Legnani, M. Parenti, A. C. Babini, L. Baraldi and S. Coccheri, Prolonged very lowcalorie diet in highly obese subjects reduces plasma viscosity and red cell aggregation but not fibrinogen, *Int J Obes Relat Metab Disord* 18 (1994), 490-6.
- 125 E. Solá, A. Vayá, M. L. Santaolaria, A. Hernández-Mijares, E. Réganon, V. Vila, V. Martínez-Sales, D. Corella, Erythrocyte deformability in obesity measured by ektacytometric techniques, *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 37 (2007), 219-27.
- 126 M. Wysocki, M. Krotkiewski, M. Braide and U. Bagge, Hemorheological disturbances, metabolic parameters and blood pressure in different types of obesity, *Atherosclerosis* 88 (1991), 21-8.
- 127 A. Craveri, G. Tornaghi, L. Panagardi et al., Hemorheological changes in obesity, *Clinical Hemorheology* 8 (1988), 723-36.

- 
- 128 S. Kobayashi, T. Hamazaki, K. Onishi, F. Nomura, Blood viscosity in fatty liver patients with obesity, *Clinical Hemorheology* 6 (1986), 629-33.
- 129 F. Beguinot, D. Tramontano, C. Duilio, S. Formisano, L. Beguinot, P. Mattioli, M. Mancini, S. M. Aloj, Alteration of erythrocyte membrane lipid fluidity in human obesity, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 60 (1985), 1226-30.
- 130 G. Ferretti, M. Dotti, E. Bartolotta, P.L. Giorgi, G. Curatola, E. Bertoli, Changes of erythrocyte membrane fluidity associated with childhood obesity: a molecular study using fluorescence spectroscopy, *Biochem. Med. Metab. Biol.* 40 (1988), 101-8.
- 131 M. Younsi, D. Quilliot, N. Al-Makdissy, I. Delbachian, P. Drouin, M. Donner, O. Ziegler, Erythrocyte membrane phospholipid composition is related to hyperinsulinemia in obese nondiabetic women: effects of weight loss, *Metabolism* 51 (2002), 1261-8.
- 132 E. Faloia, G. G. Garrapa, D. Martarelli, M. A. Camilloni, G. Lucarelli, R. Staffolani, F. Mantero, G. Curatola, L. Mazzanti, Physicochemical and functional modifications induced by obesity on human erythrocyte membranes, *Eur. J. Clin. Invest.* 29 (1999), 432-7.
- 133 R. Cazzola, M. Rondanelli, S. Russo-Volpe, E. Ferrari, B. Cestaro, Decreased membrane fluidity and altered susceptibility to peroxidation and lipid composition in overweight and obese female erythrocytes, *J. Lipid Res.* 45 (2004), 1846-51.
- 134 R. S. Schwarz, J. W. Madsen, A. C. Rybicki, R. L. Nagel, Oxidation of spectrin and deformability defects in diabetic erythrocytes, *Diabetes*, 40 (1991), 701.

- 
- 135 C. Picart, P. Dalhaimer & D. E. Discher, Actin protofilament orientation in deformation of the erythrocyte membrane skeleton, *Biophys J*, 79 (2000), 2987.
- 136 C. D. Brown, H. S. Ghali, Z. Zhao, L. L. Thomas, E. A. Friedman, In diabetic patients, early impairment in red blood cell deformability appears in patients with normal renal function, and progressive impairment in red blood cell, *Kidney International* 67 (2005), 295.
- 137 R. Banerjee, K. Nageshwari, R. R. Puniyani, The diagnostic relevance of red cell rigidity, *Clin Hemorheol Microcirc* 19 (1998), 21.
- 138 K. Béder, J. E. Maëae, J. Ársky, Z. Országhová, K. Babinská, Effect of selected substances with antiglycative and antioxidative properties on erythrocyte deformability in diabetic patients, *Scripta Medica (BRNO)* 75 (2002), 239.
- 139 J. Koscielny, R. Latza, S. Wolf, H. Kiesewetter, F. Jung, Early rheological and microcirculatory changes in children with type I diabetes mellitus. *Clin Hemorheol Microcirc* 19 (1996), 139.

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Prof. h.c. Dr. h.c. Alexander T. Teichmann für sein Einverständnis zur Verwendung der Daten. Herrn Prof. Dr. med. G.-F. von Tempelhoff danke ich für die freundliche Überlassung des Themas meiner Doktorarbeit, für die Betreuung, Beratung und Unterstützung, insbesondere den zahlreichen Diskussionen im Zuge der Konzeption dieser Arbeit. Zusätzlich bedanke ich mich bei Frau O. Schelkunov sowie bei meinen Kolleginnen und Kollegen, für die Probandenrekrutierung und Blutabnahmen als eine der wichtigsten Voraussetzungen für die Erstellung der Publikationen, Präsentationen und letztlich der vorliegenden Dissertation.

Mein ganz besonderer Dank gilt auch den wissenschaftlichen Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen im hämostaseologischen /hämorheologischen Labor - insbesondere Frau O. Ivestratenko - für Ihre Mithilfe und Unterstützung bei der Vorbereitung und Durchführung der Laborbestimmungen.

Außerdem danke ich meiner Frau für ihren ständigen Rückhalt.

## Lebenslauf



### Persönliche Daten

Name:	Demirhan
Vorname:	Attila
Geboren:	01.12.1975 in Hamburg/Deutschland
Nationalität:	Deutsch
Familienstand:	verheiratet

### Schulbildung

1982 - 1986	Grundschule Hamburg, Deutschland
1986 - 1987	Gymnasium Hamburg, Deutschland
1987 - 1990	Cankaya Anadolu Lisesi (Gymnasium), Ankara, Türkei
1990 - 1993	Yüce Fen Lisesi (Gymnasium), Ankara, Türkei



## Berufsausbildung

1994 - 1995	Vorbereitungsjahr in Englisch
1995 - 2004	Medizinstudium Erciyes Universität in Kayseri, Türkei
Praktika	
April - Mai 2003	Psychiatrie, Erciyes Universitätsklinikum, Kayseri, Türkei
Mai - Juli 2003	Pädiatrie, Erciyes Universitätsklinikum, Kayseri, Türkei
Juli - September 2003	Gynäkologie, Erciyes Universitätsklinikum, Kayseri, Türkei
September - November 2003	Allgemeinmedizin, Praxis Erkilet, Kayseri, Türkei
November - 31.Dezember 2003	Innere Medizin, Städtische Kliniken Frankfurt am Main-Höchst, Deutschland
Januar - März 2004	Notaufnahme, Erciyes Universitätsklinikum, Kayseri, Türkei
1.März - 31.März 2004	Thorax Chirurgie, Erciyes Universitätsklinikum, Kayseri, Türkei

## Famulaturen

April - Juni 2002	Allgemeine Chirurgie, Erciyes Universitätsklinikum, Kayseri, Türkei
September - November 2002	Gynäkologie, Erciyes Universitätsklinikum, Kayseri, Türkei
November - Dezember 2002	Augenheilkunde, Erciyes Universitätsklinikum, Kayseri, Türkei

## Facharztausbildung

Februar 2005 - Februar 2007	Assistenzarzt in Weiterbildung Gynäkologie und Geburtshilfe, Südharzkrankenhaus Nordhausen.
März 2007 - Februar 2011	Assistenzarzt in Weiterbildung Gynäkologie und Geburtshilfe, KKH Delitzsch, Klinik Eilenburg
10. November 2010	Bestandene Gleichwertigkeitsprüfung in Chemnitz.
23. Februar 2011	Bestandene Facharztprüfung in Dresden.

## Fachärztliche Tätigkeit

23. Februar 2011 - 31. Juli 2011	Facharzt in der Gynäkologie und Geburtshilfe, KKH Delitzsch, Klinik Eilenburg
----------------------------------	--

Oberärztliche Tätigkeit

Seit 1. August 2011

Oberarzt in der Gynäkologie und Geburtshilfe,  
St. Vinzenz-Krankenhaus Hanau

Einbürgerung am 27.08.2013

Sprachkenntnisse

deutsch,  
türkisch,  
englisch.

04.12.2017

Hanau

Attila Demirhan

---

Datum

Ort

Unterschrift

