

Aus der Abteilung für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie
in der Chirurgischen Klinik und Poliklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Böck

**Vergleich der biochemischen Qualität von Erythrozytenkonzentraten,
gewonnen durch Multikomponentenspende oder herkömmliche
Vollblutspende und Einfluß auf ausgewählte biochemische
Laborparameter und in-vivo Mikrozirkulation des Spenders**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Ulrike Stephan
aus Worms

Würzburg, im August 2002

Referent: Prof. Dr. med. D. Wiebecke

Korreferentin: Prof. Dr. med. H. Rückle-Lanz

Dekan: Prof. Dr. med. V. ter Meulen

Tag der mündlichen Prüfung: 17.06.2003

Die Promovendin ist Ärztin.

„Wissen nennen wir den kleinen Teil der Unwissenheit, den wir geordnet haben.“

Ambrose Gwinnett Bierce

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

I Einleitung

1.1.	Standardpräparate in der Transfusionsmedizin	1
1.2.	Präparative Apherese	1
1.3.	Kapillarmikroskopie	2
1.3.1.	Das Hautgefäßsystem	2
1.3.2.	Hämodynamik und Rheologie der Mikrozirkulation	3
1.3.3.	Zur Technik der Kapillarmikroskopie	5
1.3.4.	Fragestellung	5
1.4.	Die Blutprodukte	6
1.4.1.	Der Erythrozyt und sein Stoffwechsel	6
1.4.2.	Konservierung und Lagerung der Blutprodukte	7
1.4.3.	Fragestellung	9

II Material und Methoden

2.1.	Die Probanden	10
2.2.	Tabellarische Darstellung des Versuchsablaufs	11
2.3.	Blutentnahme	11
2.4.	Aufbereitung der Präparate	12
2.5.	Probenentnahme	14
2.6.	2,3-DPG	14
2.7.	ATP	17
2.8.	pH	18
2.9.	Übrige Meßparameter	19
2.10.	Sterilität	19
2.11.	Kapillarmikroskopie	20
2.11.1.	Prinzip	20
2.11.2.	Versuchsablauf	22
2.11.3.	Auswertung	23
2.12.	Statistik	24

III Ergebnisse

3.1.	Hämatologische Ergebnisse	26
3.1.1.	Erythrozytenzahl	26
3.1.2.	Hämoglobin	28
3.1.3.	Hämatokrit	30
3.2.	Klinisch-chemische Ergebnisse	33
3.2.1.	Ergebnisse der Blutspender	33
3.2.1.1.	Albumin	33
3.2.1.2.	Fibrinogen	34
3.2.1.3.	Gesamteiweiß	35
3.2.2.	Untersuchung der Präparate	36
3.2.2.1.	Glucose	36
3.2.2.2.	Laktat	37
3.2.2.3.	2,3-DPG	38
3.2.2.4.	ATP	39
3.2.2.5.	pH	40
3.2.2.6.	pO ₂	42
3.2.2.7.	Sauerstoffsättigung	43
3.2.2.8.	pCO ₂	44
3.2.2.9.	Kalium	45
3.2.2.10.	LDH	46
3.2.2.11.	Eisen	46
3.2.2.12.	Hämolyserate	47
3.2.3.	Korrelationen	49
3.3.	Sterilität	50
3.4.	Ergebnisse der Laser Doppler Anemometrie	50

IV Diskussion

4.1.	Spender	51
4.1.1.	Pathophysiologie der Blutspende	51
4.2.	Präparate	53

4.2.1.	Diskussion der einzelnen biochemischen Einflußfaktoren	53
4.2.1.1.	Glucose	53
4.2.1.2.	Laktat	55
4.2.1.3.	2,3-DPG	56
4.2.1.4.	ATP	58
4.2.1.5.	pH	59
4.2.1.6.	pO ₂ , pCO ₂ , Sauerstoffsättigung	61
4.2.2.	Hämolyseparameter	64
4.2.2.1.	Kalium	64
4.2.2.2.	LDH	65
4.2.2.3.	Eisen	66
4.2.2.4.	Mikrovesikel, freies Hämoglobin (Hb) und Hämolyserate	67
4.2.3.	Zusammenfassung	69
4.3.	Kapillarmikroskopie	71
4.3.1.	Strömungstypen, Flußdifferenzen und Fließgeschwindigkeiten der kapillären Mikrozirkulation	71
4.3.2.	Vasomotion	73
4.3.3.	Der mikrozirkulatorische Hämatokrit	74
4.3.4.	Die kapilläre Durchströmungshomogenität	75
4.3.5.	Die Hautdurchblutung und ihre Regulation	77
4.3.6.	Fließgeschwindigkeit in Fingerarterie und Mikrozirkulation	78
4.3.7.	Zusammenfassung	79
V	Zusammenfassung	81
VI	Meßwerteübersicht	82
VII	Abkürzungsverzeichnis	85
VIII	Literaturverzeichnis	87

I Einleitung

1.1. Standardpräparate in der Transfusionsmedizin

Seit vielen Jahren werden in der Transfusionsmedizin mittels konventioneller, manueller Vollblutspende (VBS) und nachfolgender Auftrennung des Blutes Erythrozytenkonzentrate (EK), Thrombozytenkonzentrate (TK) und Frischplasma (FFP) gewonnen.

Die Erythrozytenkonzentrate sind plasma- und buffy-coat-freie Präparate, die nach Sedimentation, Zentrifugation und inline- Leukozytenfiltration von Vollblut entstehen. Sie können in additiver Lösung bei 4° C in Blutbankkühlschränken über einen Zeitraum von 42 bis 49 Tagen gelagert werden.

Das gewonnene Plasma wird innerhalb von 6 Stunden schockgefroren, um den Aktivitätsverlust der Gerinnungsfaktoren zu minimieren. Das so erhaltene Fresh Frozen Plasma (FFP) ist bei -30° C für 24 Monate haltbar.

Thrombozytenkonzentrate (TK) können aus frisch gewonnenem Vollblut durch Zentrifugation und Isolierung der Thrombozyten aus dem plättchenreichen Plasma oder aus Buffy-coat hergestellt werden. Durch Zusammenführen von 4-8 kompatiblen Einzelspenden entsteht ein gepooltes TK. Die Lagerungsfähigkeit der Präparate beträgt 5 Tage bei 22° C ¹.

1.2. Präparative Hämapherese

Seit Anfang der 90er Jahre kommt zunehmend die gezielte maschinelle Einzelkomponentenspende zum Einsatz. Basis dieser Methode ist die Hämapherese, der Blutkomponentenentzug, welcher die effektivste Vorgehensweise zur Gewinnung von Zellkonzentraten darstellt. Mit Hilfe eines Blutzellseparators erfolgt die Auftrennung des Blutes in die benötigten Blutprodukte bereits während der Spende. Direkt nach Beendigung der Spende stehen somit standardisierte, lagerungsfähige und einsatzbereite Präparate zur Verfügung ².

1. 3. Kapillarmikroskopie

Die Kapillarmikroskopie der Haut ist eine nicht-invasive Methode zur Darstellung der Morphologie der Hautkapillaren sowie der kapillären Blutflußgeschwindigkeit und Blutflußrate.

1.3.1. Das Hautgefäßsystem

Das kutane Gefäßsystem zeigt einen etagenartigen Aufbau mit einem Gefäßnetz, welches sowohl waagrecht als auch senkrecht zur Oberfläche verläuft.

Die Gefäße der Mikrozirkulation setzen sich zusammen aus den Arteriolen mit einem Gefäßdurchmesser von 50 μm , den terminalen Arteriolen mit einem Durchmesser von 16-27 μm und den mit 10 μm Durchmesser kleinsten Arteriolen, die in das Kapillarnetz übergehen. Bei einem Kapillarquerschnitt von weniger als 10 μm^2 füllt die Passage eines einzelnen Erythrozyten diesen bereits vollständig aus.

Die Kapillardichte unterliegt regionalen und interindividuellen Schwankungen und reicht von 28 Kapillaren/ mm^2 im Schulterbereich über 150 Kapillaren/ mm^2 im Gesicht bis hin zu 2000 Kapillaren/ mm^2 in der Muskulatur. Die Schlingendichte an der Mittelfingerspitze beträgt 20/ mm^2 sowie 20-70/ mm^2 am dorsalen Ringfinger.

Die postkapillären Venolen (12-35 μm Durchmesser) folgen auf das Kapillarnetz.

Das Blutflußvolumen der Mikrozirkulation unterliegt vielfältigen Einflüssen und kann in den Fingern bis zu 200 ml/ min x 100 ml Gewebe betragen ³.

ACV-Einheiten (arterio-kapillär-venöse Einheiten) bilden die kleinste Funktionseinheit der terminalen Strombahn. Sie bestehen aus afferenter Arteriole, präkapillarem Sphinkter, kapillärer Strombahn und efferenter Venole. In der Regel findet sich zwischen dem arteriellen und dem venösen Schenkel eine direkte Querverbindung, der arteriovenöse Shunt.

Von großer Bedeutung für die Regelung des regionalen Blutflusses ist die Vasomotion. Unter Vasomotion versteht man den periodischen Wechsel eines Gefäßdurchmessers durch spontane und autonome Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur. Gefäße mit einem Durchmesser von 5-10 μm , bis hin zu großen Gefäßen mit 100 μm Durchmesser unterliegen diesem Regulationsmechanismus bis zu 10 Mal/ min. Die Dauer dieser Kontraktionen beträgt mehrere Minuten bis einige Stunden.

Theoretischer Hintergrund der Vasomotion ist das Hagen-Poiseuille'sche Gesetz, welches besagt, daß bei einer gegebenen Druckdifferenz die Höhe der Durchblutung vor allem vom Gefäßradius abhängt:

$$\dot{Q} = \Delta P * \frac{\pi}{8} * \frac{1}{\eta} * \frac{r^4}{l}$$

\dot{Q} = Durchblutung

ΔP = Druckdifferenz

η = Viskosität

r^4 = Gefäßradius

l = Länge

Gefäße haben bei konstantem Durchmesser einen höheren Widerstand als bei periodischer Veränderung desselben. Das pro Zeit durchströmende Volumen ist somit in Gefäßen mit wechselndem Durchmesser größer.

Bei Provokationsmanövern, wie z.B. der postokklusiven reaktiven Hyperämie, reagieren die Gefäße demnach mit Gefäßwandkontraktionen auf den erhöhten Perfusionsbedarf.

1.3.2. Hämodynamik und Rheologie der Mikrozirkulation

Im Gegensatz zu der Strömung des Blutes in großen Gefäßen ist das Verhältnis Gefäßdurchmesser zu Blutzellgröße in der Mikrozirkulation so gering, daß das Blut ab einem durchströmten Gefäßdurchmesser von 30 µm nicht mehr als homogene Flüssigkeit angesehen werden kann.

Innerhalb des Gefäßdurchmessers besteht ein Gleichgewicht zwischen zentripetalen und zentrifugalen Kräften, die auf die Erythrozyten einwirken. Je geringer der Abstand zur Gefäßmitte wird, desto mehr überwiegen die zentripetalen Kräfte. Wird nun ein Gefäß von 30 µm Durchmesser perfundiert, so bildet sich an der Gefäßwand ein 5 µm breiter zellfreier Plasmasaum. Die Erythrozyten reichern sich unter diesen Bedingungen im Gefäßzentrum an, was als Axialmigration bezeichnet wird. Dieser Vorgang bewirkt die Entstehung eines Hämatokritprofils innerhalb des Gefäßdurchmessers.

Da die Strömungsgeschwindigkeit in der Gefäßmitte höher ist als in Wandnähe, ist der Anteil der Erythrozyten im Kapillarvolumen erniedrigt. Es kommt zu einer Abnahme

des dynamischen Hämatokrits in der Kapillarströmung um bis zu 40% im Vergleich zu Hämatokritwerten in den großen Gefäßen. Dieses Phänomen wird als Fahraeus-Effekt bezeichnet und trägt entscheidend zur Senkung des hydrodynamischen Strömungswiderstandes in den Kapillaren bei. Der mittlere Hämatokritwert ist somit in der Mikrozirkulation geringer als in den großen Gefäßen.

Dennoch kommt es innerhalb der Mikrozirkulation durch ungleichmäßige Aufteilung der Blutbestandteile teilweise zu deutlich höheren Hämatokritwerten als sie in den großen Gefäßen herrschen. Ursache hierfür ist der Vorgang des Plasma-Skimmings. An Gefäßverzweigungen erfährt eines der Tochtergefäße einen größeren Zufluß von im Axialstrom strömenden Blutzellen, während das zweite vorwiegend von Plasma durchströmt wird.

Eine große Rolle bei der Minderung des Strömungswiderstands in den Kapillaren spielen neben dem Fahraeus-Effekt auch die mikrorheologischen Eigenschaften der einzelnen Erythrozyten.

Bereits ein einzelner Erythrozyt füllt einen Gefäßdurchmesser von 8 μm theoretisch vollständig aus. Daher muß die optimale hydrodynamische Anpassung an die herrschenden Strömungsverhältnisse vom Erythrozyten selbst geleistet werden. Dabei spielen seine Verformbarkeit, die stabile Lage gemäß den Strömungskräften sowie die Panzerkettenrotation der Membran die entscheidende Rolle.

All diese Mechanismen ermöglichen den intakten Erythrozyten eine problemlose kapilläre Passage bis zu einem Gefäßdurchmesser von 2,7 μm .

Wie jedes System unterliegt auch der kapilläre Blutfluß diversen Störfaktoren, die eine Strömungsverzögerung bis hin zur Stase bewirken können. Als Ursachen kommen folgende pathophysiologischen Bedingungen in Frage:

- Zunahme der Plasmaviskosität
- Erhöhte Membranrigidität der Erythrozyten
- Erhöhte Leukozytenkonzentration

1.3.3. Zur Technik der Kapillarmikroskopie

Fernseh-, Computer- und Videotechnik schufen in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts die Voraussetzung zur Erfassung, Aufzeichnung und Messung der kapillären Blutflußgeschwindigkeit und -Rate^{4, 5, 6}.

Das heutzutage eingesetzte Laser Doppler Anemometer erfaßt das gesamte Spektrum kapillärer Flußgeschwindigkeiten von 0.1-14 mm/s und ermöglicht erstmals Messungen in senkrecht zur Oberfläche stehenden Kapillaren. Die Blutflußgeschwindigkeit kann relativ frei von Rauschartefakten in einer Einzelkapillare mit einem Durchmesser von 9.8- 32.1 µm dargestellt werden³. Im klinischen Alltag bietet die online- Flußmessung eine schnelle und reproduzierbare Aussage über den Durchblutungszustand der Haut und kann für jede Körperregion zum Einsatz kommen⁷.

Die hohe Reproduktivität der Messungen sowie die Nichtinvasivität der Untersuchung machen das Laser Doppler Anemometer zu einem wichtigen technischen Hilfsmittel in der weiteren Erforschung der Kapillarmorphologie sowie in der Erfassung der Blutflußgeschwindigkeit. Sowohl die Darstellung von Kapillaren, die senkrecht zur Hautoberfläche verlaufen als auch die Wahl des Fingermittelglieds, stellen Neuerungen im Versuchsaufbau der Kapillarmikroskopie dar. Die Problematik der Kapillardarstellung am Fingermittelglied liegt im Vergleich zur Untersuchung an der Nagelfalz in der Morphologie der Kapillaren. Arterieller und venöser Schenkel des Kapillarapexes sind im Bereich des Mittelglieds oft schwer zu differenzieren und erfordern ein sehr genaues Arbeiten.

Inwieweit die beschriebenen Veränderungen neue Erkenntnisse bezüglich klinischer Erkrankungen, wie z.B. dem Hyperviskositätssyndrom, erbringen bzw. ob sie überhaupt ein Vorteil gegenüber der Darstellung von Nagelfalzkapillaren bedeuten, ist Gegenstand der aktuellen Forschung.

1.3.4. Fragestellung

Der Perfusionsdruck, die Gefäßgeometrie sowie die Fließeigenschaften des Blutes sind wichtige Parameter, die die Zirkulation des Blutes im Körperkreislauf beeinflussen.

Den Einfluß einer kombinierten Plasma- und Thrombozytapherese auf die Blutflußgeschwindigkeit in Nagelfalzkapillaren zeigte bereits eine Voruntersuchung durch Mansouri et al.⁸ und zwar dergestalt, daß eine kurzzeitige Zunahme der

Blutflußgeschwindigkeit und damit Adaptation der Mikrozirkulation, auf eine durch die Apherese deutlich verbesserte Rheologie nachgewiesen werden konnte.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob eine herkömmliche Vollblutspende ebenfalls Änderungen der Blutflußgeschwindigkeit und -Rate in der Mikrozirkulation des Spenders, untersucht an einzelnen Kapillaren des Fingermitteglieds, bewirkt. Des Weiteren wird geprüft, welchen Einfluß die Vollblutspende auf die klinisch-chemischen Parameter der Spender ausübt.

Die Entwicklungen der Blutflußgeschwindigkeit und -Rate sowie der klinisch-chemischen Parameter der Spender nach einer Multikomponentenspende am Zellseparator MCS+ werden von Lang vergleichend dargestellt ⁹.

Inwieweit die Blutrheologie, determiniert durch die Plasmaviskosität, den Hämatokrit, die Erythrozytenaggregabilität und -verformbarkeit, durch eine Apherese beeinflusst wird, zeigt der von Lang ⁹ (med. Diss. in Vorbereitung) parallel durchgeführte Vergleich der Vollblutspende mit der Multikomponentenspende.

1.4. Die Blutprodukte

Gegenstand der Forschung in der Transfusionsmedizin ist unter anderem die Erlangung weiterer Kenntnisse über den Erythrozytenstoffwechsel, die Konservierung und Lagerung der Blutprodukte sowie die Fortentwicklung der sogenannten Multikomponentenspende, mit dem Ziel der simultanen Gewinnung mehrerer Blutkomponenten, als da sind Erythrozytenkonzentrat, Plasma, Thrombozytenkonzentrat im Zuge einer einzelnen Entnahmeprozedur.

1.4.1. Der Erythrozyt und sein Stoffwechsel

Erythrozyten haben die Form von bikonkaven Scheiben, die zu einer Vergrößerung der Oberfläche und damit der Gasaustauschfläche führt (Oberfläche: $140 \mu\text{m}^2$ bei einem Volumen von 90 fl). Der mittlere Durchmesser beträgt $7,5 \mu\text{m}$, außen ist der Erythrozyt $2,5 \mu\text{m}$, im Zentrum $1 \mu\text{m}$ dick. Seine Hauptfunktion ist der Sauerstofftransport, sein Hauptbestandteil das Hämoglobin. Er hat eine durchschnittliche Lebensdauer von 120 Tagen.

Erythrozyten verfügen nur über die zytoplasmatischen Stoffwechselwege, nämlich die anaerobe Glykolyse und den Pentosephosphatweg zur Energiegewinnung ¹⁰. Die

Glykolyse ist unter anaeroben Bedingungen die einzige Möglichkeit der Gewinnung von ATP aus ADP und Phosphat ¹¹. Ein Mol Glucose wird über enzymatisch katalysierte Reaktionsschritte in zwei Mol Pyruvat gespalten, welches weiter zu Lactat reduziert wird. Diese Reaktion liefert zwei Mol ATP (Adenosintriphosphat) an verfügbarer Energie für den Zellstoffwechsel.

Bei der Glykolyse dient NAD^+ als Reduktionsäquivalent und wird durch die Aufnahme eines Wasserstoffatoms zu NADH reduziert. Die Regeneration des NAD^+ bei der Reduktion von Pyruvat in Laktat hält den Ablauf der Glykolyse unter anaeroben Bedingungen aufrecht. Da Laktat unter anaeroben Bedingungen nicht wiederverwertet werden kann, wird es in den Blutkreislauf abgegeben und in die Leber abtransportiert.

NAD^+ fungiert in der Glykolyse ebenfalls als allosterischer Aktivator bei der Entstehung von 1,3 Biphosphoglycerat, welches über einen Seitenweg der Glykolyse zu 2,3 -DPG (2,3-Diphosphoglycerat) umgewandelt wird. Das im Erythrozyten produzierte 2,3-DPG ist als allosterischer Effektor an der Stabilisierung des Hämoglobinmoleküls beteiligt und fördert dessen Sauerstoffabgabe.

Das entstandene ATP wird für alle energieverbrauchenden Stoffwechsellleistungen der Zelle, z.B. zur Aufrechterhaltung der Konzentrationsgradienten mittels Ionenpumpen (z.B. Na^+ - K^+ -Pumpe), benötigt.

Die Bedeutung des Pentosephosphatweg liegt in der Bereitstellung von NADPH in der Zelle. Es dient der Regeneration von reduziertem Glutathion, welches die Erythrozytenenzyme vor Oxidation schützt.

1.4.2. Konservierung und Lagerung der Blutprodukte

1940 konnte durch den Ersatz von Natriumcitrat durch ACD- Antikoagulans (Acid-Citrat-Dextrose) die Haltbarkeit der Blutpräparate von 5 Tagen auf 21 Tage (bei 4° C) erhöht werden ¹². Dem ACD wurde zu Beginn der 60er Jahre noch Adenin zugesetzt, wodurch die Synthese von ATP und 2,3 -DPG erhöht werden und die Qualität des gelagerten Blutes weiter verbessert werden konnte. Um die sauren Stoffwechselprodukte abzapuffern und die durch das erniedrigte pH bedingten Lagerungsschäden weiter zu vermindern, ersetzte man den ACDA- Stabilisator schließlich durch CPDA (Citrate-Phosphate-Dextrose-Adenin), womit die Konservenlaufzeit auf 35, schließlich sogar auf 42 Tage verlängert werden konnte ¹³. Die nachfolgende Einführung und sukzessive Verbesserung von Plastikbeuteln anstelle

der bis dahin verwendeten Glasflaschen brachte einen weiteren Fortschritt für das Transfusionswesen, insbesondere für die Komponentenherstellung und für die Durchführung von Drucktransfusionen¹⁴. Die spätere Verwendung von Mehrfachbeutelssystemen ermöglichte eine sterile Separation und damit erst eine gefahrlose Lagerung der hergestellten Blutkomponenten^{15, 16}. Gleichwohl waren auch hier noch eine Fülle von Problemen zu lösen. Die beobachteten biochemischen Veränderungen während der Lagerungsperiode wurden nämlich in nicht unerheblichem Ausmaß vom Beutelmaterial mit beeinflusst. Der verwendete Kunststoff bestimmte die Gasdurchlässigkeit der Plastikbeutel, und die unphysiologische Beuteloberfläche führte zu einer Aktivierung der Komplementkaskade über den alternativen Weg. Dabei konnten vor allem C3a und C4a nach der Transfusion eine allergische Transfusionsreaktion mitbewirken¹⁷.

Zur Erhaltung eines möglichst physiologischen Milieus wurde das Erythrozytenkonzentrat schließlich in einem speziellen Zucker-Elektrolytmedium (Additive Lösung) suspendiert¹⁸.

Ein weiterer Meilenstein in der Qualitätsoptimierung konservierten Blutes war die Erkenntnis, daß mittels Leukozytenfiltration der Präparate vor ihrer Lagerung eine deutliche Abnahme unerwünschter Reaktionen bei den Empfängern nach Transfusion erzielt werden konnte^{19, 20, 21, 22}.

Die in einem Blutpräparat enthaltenen Leuko- und Thrombozyten zerfallen bereits nach wenigen Stunden Lagerungsdauer. Die degenerierten Thrombozyten sowie die aus Granulozyten freigesetzte Elastase verursachen eine Aktivierung der Komplementkaskade. Danach kommt es zur Bildung von Mikroaggregaten aus zerfallenden Thrombozyten, Leukozyten, Erythrozyten und ihren Membranen, Zellfragmenten, Lipiden und denaturierten Proteinen, was eine deutlich eingeschränkte Fließfähigkeit des Blutes zur Folge hat.

Mit Leukozytenfiltern gelingt es neuerdings, den Leukozytengehalt der Präparate auf $< 1 \cdot 10^6$ pro Präparat zu senken²³. Febrile, leukozyteninduzierte Transfusionsreaktionen kommen seither nicht mehr vor, das Risiko einer HLA- Immunisierung oder gar einer Graft-versus-Host-Reaktion sowie die Übertragung von leukozytenassoziierten Viren (z.B. CMV, HTLV-1, EBV) und Bakterien (*Yersinia enterocolica*) wurde ganz erheblich vermindert. Die Filtration der Präparate verhinderte weiterhin eine Akkumulation von schädigenden Zerfallsprodukten wie Elastase, Histamin und

Serotonin, die allergische und anaphylaktische Reaktionen nach der Transfusion mit verursachen²⁴.

Des Weiteren konnten die biochemischen Eigenschaften der Präparate hinsichtlich pH-Wert, ATP- und 2,3-DPG-Spiegel, osmotischer Resistenz und Laktatanhäufung deutlich verbessert werden. Die Bildung von Mikroaggregaten war in den gefilterten Präparaten ebenfalls vermindert, bei einer sichtlich verbesserten Fließfähigkeit des konservierten Blutes²⁵.

Die automatisierte Blutkomponentenspende bedeutete einen weiteren Fortschritt in der Komponentenherstellung^{2, 26, 27}. Die maschinelle Abnahme des Vollblutes bot den Vorteil der sofortigen Auftrennung des Blutes in seine Einzelkomponenten noch während der Abnahme. Nach der Blutentnahme standen sofort Blutprodukte zur Verfügung, die den geltenden Standards entsprachen und direkt gelagert werden konnten. Weitere Verarbeitungsschritte entfielen somit.

Ein Vergleich der rheologischen, biochemischen und morphologischen Parameter der Präparate zeigte für die Maschinenspende eine deutliche Verbesserung von Stoffwechsel und Fließfähigkeit des Blutes. Dies ist begründet durch einen geringeren Sammlungsschaden der Zellen aufgrund der kontrollierten Zufuhr von Antikoagulans in der Maschine.

Heutzutage gelten maschinell gewonnene, in CPD 50-Antikoagulans gesammelte und PAGGS-M gelagerte, leukozytendepletierte Erythrozytenkonzentrate bei einigen Autoren als Goldstandard und verfügen über eine Haltbarkeit von 7 Wochen²⁸.

1.4.3. Fragestellung

Die Qualität der Blutprodukte wurde bereits vielfach sowohl für Erythrozytenkonzentrate aus Vollblutspenden als auch aus Multikomponentenspenden durch Apherese beurteilt^{26, 29, 30, 31, 32, 33}.

Gegenstand der Untersuchungen im zweiten Teil dieser Arbeit ist, ob der erstmals durchgeführte, direkte Paarvergleich zwischen Präparaten aus einer herkömmlichen Vollblutspende und einer Multikomponentenspende eine Verbesserung der biochemischen Eigenschaften zeigen und dadurch eine bessere Haltbarkeit der Präparate der MKS bedeuten würde. Dies soll anhand ausgewählter biochemischer Parameter über den gesamten Lagerungszeitraum von 63 Tagen ermittelt werden.

II Material und Methoden

In der vorliegenden Arbeit wurde folgenden Untersuchungsansätzen nachgegangen:

I. Jeweils zehn Probanden spendeten eine Vollblut- bzw. eine Multikomponentenspende. Im Abstand von 8 Wochen erfolgte ein cross-over der Gruppen. Nach Aufbereitung der Spenden wurden die Erythrozytenkonzentrate 63 Tage unter Standardblutbankbedingungen gelagert.

An den Tagen 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 und 63 wurden Proben unter sterilen Bedingungen aus den Präparaten entnommen und folgende Parameter untersucht:

Erythrozytenzahl, Hämoglobin (Hb), Hämatokrit (Hk), Glucose, Laktat, Kalium, 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG), Adenosintriphosphat (ATP), pH (intra- und extrazellulär), Laktatdehydrogenase (LDH), freies Hämoglobin (Hb), Eisen, pO₂, pCO₂, O₂-Sättigung.

II. Eine in-vivo-Messung der kapillären Blutflußgeschwindigkeit und -Rate wurde an Einzelkapillaren der Fingerhaut mittels Kapillaranemometrie zu den Zeitpunkten vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende durchgeführt.

2.1. Die Probanden

	<i>Kollektiv</i>			<i>Männer</i>			<i>Frauen</i>		
	n	MW	SD	n	MW	SD	n	MW	SD
<i>Alter</i>	20	27,65	4,92	15	26,60	4,63	5	30,80	4,40
<i>Größe</i>	20	179,65	7,72	15	183,00	5,57	5	169,60	3,26
<i>Gewicht</i>	20	76,15	9,85	15	79,33	7,80	5	66,60	9,13

Tabelle 1: Geschlecht, Alter, Körpermaße der Spender.

20 Blutspender, 5 Frauen und 15 Männer im Alter von 23 bis 43 Jahren (mittleres Alter 28 Jahre, biometrische Daten in Tabelle 1) wurden für die Spenden ausgesucht. Es handelte sich bei den 20 Probanden um gesunde Nichtraucher, die alle die Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion erfüllten³⁴. Eine schriftliche Einverständniserklärung der Probanden lag vor. Desweiteren erfolgte eine ausführliche Aufklärung der Teilnehmer vor Spendebeginn.

2.2. Tabellarische Darstellung des Versuchsablaufs

Vor der Spende

1. Messung von Puls und Blutdruck in standardisierter Position (Vitalparameter)
2. Erste Kapillaroskopie
3. Vitalparameter
4. Erste Blutprobenentnahme (vor der Spende)
5. Spende
6. Vitalparameter (direkt nach der Spende)

Eine Stunde nach der Spende

7. Zweite Blutprobenentnahme (Einstundenwert)
8. Zweite Kapillaroskopie
9. Vitalparameter

24 Stunden nach der Spende

10. Vitalparameter
11. Dritte Blutprobenentnahme (24-Stundenwert)
12. Dritte Kapillaroskopie
13. Vitalparameter

2.3. Blutentnahme

20 Blutspender, 5 Frauen und 15 Männer (mittleres Alter 28 Jahre), wurden in zwei gleich große Gruppen eingeteilt. Nach Desinfektion der Punktionsstelle mit Neo-Kodan (Schülke und Mayr GmbH, Norderstedt) erfolgte die Spende bei allen Probanden im Liegen über die rechte Cubitalvene. Die Spender erhielten keinen Volumenersatz nach den Entnahmen.

Zehn Probanden spendeten 500 ml Vollblut in herkömmlicher Beutelspende (CompoFlex® Bottom-and-Top-Dreifach-Beutelsystem, NPBI Fresenius, Bad Homburg). Um eine gute Durchmischung des Blutes mit dem im Beutel befindlichen Antikoagulans (70 ml CPD-50, Haemonetics, München, siehe Tabelle 2) zu erreichen,

wurden die Beutel während der Entnahme auf einer Blutmischwaage (MW 5001 electronic, Biotrans, Dreieich) ständig agitiert.

Den verbliebenen zehn Probanden wurden mittels Multikomponentenspende am Zellseparator MCS+ (Haemonetics, München) 200ml Erythrozytenkonzentrat und 400 ml Plasma entnommen. Bei der Apheresespende wurden die einzelnen Blutbestandteile bereits während der Spende aufgetrennt und in das RBCP-Sammelsystem (Haemonetics, München) eingefüllt.

Nach der Spende wurde das Blut beider Kollektive über 2 Stunden bei Raumtemperatur (22° C) gelagert.

Nach mindestens 8 Wochen erfolgte ein Cross-over der Gruppen mit der zweiten Spende am jeweils anderen System.

CPD-50-Lösung	
Zitronensäure, wasserfrei	4,48 g
Natriumcitrat	39,50 g
Glukosemonohydrat	50,00 g
Natriumsaures Phosphat	3,76 g
Wasser für Injektionszwecke ad 1000 ml	
Gebrauchsfertige Lösung (70 ml)	pH 5,6

Tabelle 2: Zusammensetzung der CPD-50-Antikoagulanslösung.

2.4. Aufbereitung der Präparate

Alle Vollblutpräparate wurden für 10 min bei 2000 g (3500 U/ min, 22°C) zentrifugiert (Roto Silenta/RP, Hettich Rotixa, RP, Hettich, Tuttlingen) und im Anschluß mittels automatischer Beutelpresse (Biotrans Separator, Fa. Biotrans, Dreieich) die Erythrozyten und das Plasma in Sekundärbeutel abgetrennt. Eine mögliche Zellschädigung durch die Quetschung der konzentrierten Erythrozyten durch das Schlauchsystem kann ausgeschlossen werden ¹⁶.

Sowohl das im Sekundärbeutel befindliche Plasma wie auch der „buffy-coat“ (50 ml) im Primärbeutel wurden verworfen.

Durch Überführung der Erythrozyten in den Sekundärbeutel gelangten diese in 110 ml PAGGS-Mannitol Additivlösung (GZBT Örk GmbH, Eugendorf/Salzburg, Österreich, siehe Tabelle 3). Im letzten Verarbeitungsschritt wurden die Erythrozytenkonzentrate gefiltert (Leukozytenfilter BPF4, Fa. Pall, Newquay, Cornwall, England) und in einen dritten Beutel überführt.

Das Blut aus der Apheresespende wurde unter regelmäßiger Zugabe von CPD-50 Antikoagulanslösung in einem festgelegten Verhältnis (1:6) in der MCS+-Maschinenglocke gesammelt. Die Zentrifugation und Auftrennung der Blutbestandteile in die Primärbeutel erfolgte noch während der Spende (5500 U, 7 min). Als Additivlösung wurden kontinuierlich 110 ml eines PAGGS-Mannitol-Gemisches in die Beutel zugegeben.

Nach Abschluß der Spende wurden die MKS-Präparate ebenfalls gefiltert und in einen PVC-Beutel überführt.

Die auf diese Weise aus VBS und MKS gewonnenen gefilterten Erythrozytenkonzentrate wurden nun bei 4° C in Blutbankkühlschränken gelagert.

PAGGS-M-Lösung	
Di-Natriumhydrogenphosphat × 2H ₂ O	1,432 g
Natriumdihydrogenphosphat × 2H ₂ O	1,255 g
Adenin	0,194 g
Glucose Monohydrat	9,405 g
Guanosin	0,408 g
Natriumchlorid	4,210 g
Mannitol	10,000 g
Aqua ad inj. ad 1000 ml	
Gebrauchsfertige Lösung (110 ml)	pH 6,0

Tabelle 3: Zusammensetzung der PAGGS-M Additivlösung.

2.5. Probenentnahme

Zu den jeweiligen Meßzeitpunkten wurden aus den gelagerten Beuteln unter sterilen Bedingungen 20 ml Erythrozytenkonzentrat in Serummonovetten (10 ml ohne Granulat, Sarstedt, Nümbrecht) abgefüllt.

Vor der Probenentnahme wurde der Beutelinhalt über 5 min manuell durchmischt. Nach Sprühdesinfektion (Neo-Kodan, Schülke und Mayr, Norderstedt) und 2minütiger Einwirkzeit wurde der zuvor eingebrachte Verbindungsdorn (Fenwal[®] Verbindungsdorn, Baxter Deutschland GmbH, Unterschleißheim) punktiert und die Probe entnommen. Nach erneuter Desinfektion der Punktionsstelle wurden die Beutel anschließend wieder im Kühlschrank bei 4° C gelagert.

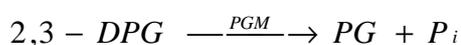
Sofort nach der Entnahme kamen die Proben ins Eisbad, um einen bei Raumtemperatur verstärkt einsetzenden Metabolismus der Erythrozyten zu verhindern.

2.6. 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG)

Die Bestimmung des 2,3-DPG-Gehaltes in den Präparaten erfolgte mittels einer enzymatischen Meßmethode ³⁵. Es wurde ein UV-Testkit (UV-Test zur 2,3-DPG-Bestimmung im Blut, Nr.148 334, Boehringer Mannheim, Mannheim) verwendet.

2.6.1. Meßprinzip

2,3-DPG wird durch eine mit Glycolat-2-Phosphat aktivierte Nebenaktivität der Phosphoglycerat-Mutase (PGM) zu Phosphoglycerat (PG) gespalten:



Das Produkt dieser Reaktion kann sowohl 2-PG wie auch 3-PG sein. Da die nachfolgenden Testreaktionen 3-PG als Edukt erfordern, wird 2-PG durch Zugabe von Phosphoglycerat - Mutase (PGM) zu 3-PG isomerisiert:



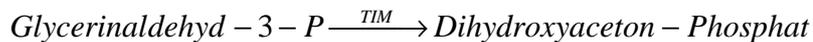
3-PG wird durch Zugabe von ATP mittels Phosphoglycerat-Kinase (PGK) zu 1,3-DPG umgesetzt:



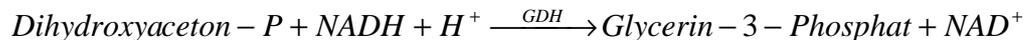
Nun wird das entstandene 1,3-DPG unter Zugabe von NADH durch die Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) zu Glycerinaldehyd-3-Phosphat umgewandelt. Als Nebenprodukte entstehen äquimolar NAD^+ und anorganisches Phosphat:



Im folgenden Schritt wird Glycerinaldehyd-3-Phosphat mittels Triosephosphat-Isomerase (TIM) zu Dihydroxyaceton-Phosphat umgesetzt:



Zuletzt wird Dihydroxyaceton-Phosphat unter Zugabe von NADH durch die Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase (GDH) zu Glycerin-3-Phosphat und NAD^+ umgewandelt:



Pro Mol 2,3-DPG werden in den oben angeführten Reaktionen 2 Mol $NADH$ zu NAD^+ oxidiert. Die Extinktionsabnahme bei 340 nm ist proportional dem $NADH$ -Verbrauch und somit auch dem 2,3-DPG-Gehalt der Probe.

2.6.2. Durchführung

2.6.2.1. Enteiweißung

In ein 10 ml Zentrifugenglas werden 0,5 ml Erythrozytenkonzentrat zu 2,5 ml eisgekühlter 0,6 molarer Perchlorsäure pipettiert und gut durchmischt. Das ausgefällte Eiweiß wird nun bei 4° C mit 3000 U über 10 min abzentrifugiert.

2,0 ml des klaren Überstandes werden in ein neues 10 ml Zentrifugenglas gegeben und zur Neutralisierung der überschüssigen Säure mit 0,25 ml 2,5 molarem Kaliumcarbonat versetzt. Nach guter Durchmischung steht die Lösung für 30 min im Eisbad.

Der entstandene Perchloratniederschlag wird bei 4° C mit 3000 U für 10 min abzentrifugiert.

0,1 ml des neutralisierten und enteiweißten Überstandes werden im Test verwendet.

2.6.2.2. Bestimmungsansatz

2 ml Triethanolamin-Puffer (mit EDTA und $MgCl_2$), 50 μ l ATP/NADH-Gemisch sowie 50 μ l

Enzymlösung (PGM, PGK, GADPH, TIM, GDH) werden in 2-ml-Küvetten vorpipettiert.

0,1 ml des klaren Überstandes wird hinzugegeben, gut durchmischt und die Probe für 5 min bei Raumtemperatur (20-25° C) stehengelassen. Eventuell im Testansatz vorhandene Substrate können so umgesetzt werden, die eigentliche Reaktion der PGM erfolgt aufgrund der in der Probe enthaltenen geringen Menge noch nicht.

Nach fünf Minuten wird die Extinktion E_1 bei 340 nm photometrisch (Photometer, Pharmacia, Pharmacia LKB Ultraspec III, Freiburg) gemessen.

Nun werden der Probe 20 μ l PGM- sowie 20 μ l Glycolat-2-Phosphat-Lösung zugegeben und somit die Nebenaktivität der PGM aktiviert.

Nach Ablauf der Reaktion (25 min) erfolgt die Messung der Endextinktion E_2 .

2.6.2.3. Berechnung

Für die Bestimmung der Konzentration gilt die Berechnungsformel nach dem Lambert-Beer-Gesetz:

$$c = \frac{V \cdot MG \cdot F}{\epsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000 \cdot 2} \cdot \Delta E [g / lBlut]$$

V = Testvolumen in ml (2,24 ml)

v = Probevolumen in ml (0,1 ml)

MG = Molekulargewicht von 2,3-DPG

D = Schichtdicke in cm (1,0 cm)

ϵ = Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm ($6,3 \text{ l} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

F = Verdünnungsfaktor für Blut (80 % Flüssigkeitsgehalt: $F = 6,582$)

ΔE = Extinktionsdifferenz bei 340 nm ($= E_1 - E_2$)

Das Ergebnis wird in Relation zum Hb-Gehalt der Probe gesetzt, d.h. 2,3-DPG in μmol pro g Hb angegeben.

2.7. Adenosintri-phosphat (ATP)

Das enzymatische Verfahren zur Bestimmung von ATP wurde mittels eines Testkits durchgeführt (Nr. 366, Sigma Diagnostics, Deisenhofen)³⁶.

2.7.1. Meßprinzip

ATP wird unter Zugabe von im Überschuß vorhandenem 3-Phosphoglycerat durch die Phosphoglycerat-Kinase (PGK) zu ADP und 1,3-Diphosphoglycerat umgesetzt:



1,3-Diphosphoglycerat entstand in äquimolaren Mengen zu dem im Test eingesetzten ATP.

Nun wird 1,3-Diphosphoglycerat zusammen mit NADH mittels Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) zu Glycerinaldehyd-3-Phosphat und anorganischem Phosphat umgewandelt. In diesem Reaktionsschritt wird, äquimolar zu ATP, NADH durch Umsetzung mit 1,3-Diphosphoglycerat zu NAD^+ oxidiert:



NADH zeigt bei 340 nm ein charakteristisches Absorptionsmaximum. Somit dient die Extinktionsabnahme bei 340 nm als Maß für die ATP-Konzentration der Probe.

2.7.2. Durchführung

2.7.2.1. Probenvorbereitung

1,0 ml 12 %ige Trichloressigsäure wird in einem 10 ml Zentrifugenglas mit 1,0 ml Erythrozytenkonzentrat versetzt, gemischt und 5 min ins Eisbad gestellt. Danach erfolgt die Zentrifugation des Gemischs bei 4° C mit 3000 U über 10 min.

Der klare Überstand der entweißten Probe wird im Test eingesetzt.

2.7.2.2. Test

In ein 0,3 mg NADH-Reagenzglas werden 1,0 ml PGA-gepufferte Lösung und 1,5 ml Aqua dest. pipettiert. Durch Schütteln erfolgt die vollständige Lösung des NADH.

0,5 ml des Überstandes werden hinzugefügt und durchmischt. Diese Lösung wird in eine Halbmikroküvette pipettiert und die Extinktion E_1 gegen Aqua dest. bei 334 nm im Photometer (Photometer, Pharmacia, Pharmacia LKB Ultraspec III, Freiburg) bestimmt.

20 μ l GAPDH/PGK-Gemisch werden nun in die Probe hinzupipettiert, gut vermischt und 5 min bei Raumtemperatur gelagert.

Nach dieser Zeitspanne wird die Endextinktion E_2 gemessen.

Zur Kontrolle der Meßgenauigkeit wurden 3 Standardlösungen mit definiertem ATP-Gehalt hergestellt und die jeweiligen Extinktionen bestimmt. Die erzielten Werte werden in eine Eichgerade eingetragen.

Anhand dieser Eichgerade wird der ATP-Gehalt der vermessenen Proben unter Berücksichtigung des zugehörigen Hk mittels eines Tischrechners ermittelt.

2.8. pH

Sowohl intrazellulärer wie auch extrazellulärer pH wurden gemessen.

Nach der Probenentnahme am jeweiligen Lagerungstag wurden 4,0 ml Erythrozytenkonzentrat bei 4° C mit 1000 g für 10 min zentrifugiert. Das so erhaltene Sediment wurde entnommen und 1,0 ml für die spätere Meßreihe des intrazellulären pH tiefgefroren. Ebenso wurden 1,0 ml des Serums für die Bestimmung des extrazellulären pH im Gefrierschrank bei -20° C gelagert.

Die Bestimmung beider pH-Werte erfolgte für alle Proben zu einem späteren Zeitpunkt in einer Meßreihe (pH-Elektrode InLab[®], Mettler-Toledo AG, Urdorf, Schweiz).

Die Proben wurden in einem temperierten Wasserbad langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Die Messung des pH erfolgte bei 20° C mittels Einstabmeßkette an einem pH-Meter (WTW Präzisionsmeßgerät pH 521, Wissenschaftlich technische Werkstätten, Weilheim, Deutschland). Eine Verfälschung der Werte durch Exposition der Proben gegenüber Raumluft wurde dabei weitestgehend vermieden.

2.9. Übrige Meßparameter

Gesamteiweiß, Albumin, Glucose, Kalium extrazellulär, LDH und Eisen wurden an einem Hitachi 747 Naßchemie-Analysegerät (Roche, Mannheim) gemessen.

Laktat wurde mittels des Vitros 700 XRC Trockenchemie-Analysegeräts (Johnson und Johnson, Illkirch, Cedex, Frankreich) bestimmt.

Hämoglobin, Hämatokrit sowie die Zellzahlen wurden an einem automatischen Zellcounter (STKS, Coulter, Krefeld) gemessen.

Die Serumelektrophorese wurde am HITE 310 (Olympus, Hamburg) durchgeführt.

Die Bestimmung von Fibrinogen wurde am BCS (Dade-Behring, Marburg) vorgenommen.

Das freie Hb wurde mittels ACA (Dade-Behring, Marburg) gemessen.

Alle hier erwähnten Bestimmungen wurden vom Zentrallabor der Universitätsklinik Würzburg durchgeführt.

Die Hämolyserate wurde rechnerisch nach folgender Formel ermittelt:

Hämolyserate = $(100 - \text{Hämatokrit}) \cdot \text{freies Hämoglobin} / (100 \cdot \text{Gesamt-Hämoglobin})$.

2.10. Sterilität

Nach Ablauf der 63tägigen Lagerungszeit wurden aus den gelagerten Präparaten unter sterilen Bedingungen 20 ml Erythrozytenkonzentrat entnommen und zu je 10 ml in eine Blutkulturflasche (Bac T Alert[®], Aerobier- und Anaerobier-Kulturflasche, Organon Teknika Corp., Eppelsheim) zur Testung auf Aerobier bzw. Anaerobier abgefüllt. Diese gelangten nun zur Untersuchung in das Institut für Mikrobiologie und Hygiene der Universitätsklinik Würzburg.

2.11. Kapillaroskopie

2.11.1. Prinzip

Der Darstellung von Kapillaren des Hautgefäßsystems liegen folgende theoretische Grundlagen aus der Optik und Laserphysik zugrunde^{3,37}.

Bei Eintritt von Licht in Materie kommt es zu Transmission, Absorption und Reflexion.

Die Reflexion findet entweder an statischen Geweben (im Falle der Kapillaroskopie starre Gefäßwände) oder an sich bewegenden Teilchen (Erythrozyten im Gefäß) statt.

Licht, welches an unbeweglicher Materie reflektiert wird, ändert nur seine Richtung nicht jedoch seine Wellenlänge und Frequenz.

Trifft das Licht auf einen Erythrozyten, der sich mit einer bestimmten Geschwindigkeit im Gefäß senkrecht zur Oberfläche bewegt, wird der Strahl nach dem Dopplershift reflektiert. Der Dopplershift ist proportional zur Geschwindigkeit der Blutzelle und wird folgendermaßen definiert³⁸:

$$f_E = f_S \frac{(c - v_E)}{(c - v_S)}$$

f_E = wahrgenommene Frequenz

f_S = Frequenz der Schallquelle

c = Schallgeschwindigkeit

v_E = Geschwindigkeit des Empfängers

v_S = Geschwindigkeit der Schallquelle

- Laser Doppler Fluxmetrie

Die Laser Fluxmetrie ist eine Methode zur Darstellung des Durchblutungszustands der Haut anhand des optischen Dopplershifts nach Einstrahlung von Laserlicht in die Haut. Eingestrahktes Laserlicht (meistens He-Ne Gaslaser 632,8 nm) wird von sich bewegenden Erythrozyten reflektiert und ändert, abhängig von der Geschwindigkeit der Blutzellen, seine Wellenlänge und Frequenz. Das reflektierte Licht wird nun von einem Photodetektor in einen Photostrom umgewandelt und die spektrale Verteilung der Frequenzen als Fourier-Analyse angegeben. Somit läßt sich die Häufigkeit bestimmter Frequenzen und damit die Geschwindigkeit der Erythrozyten bestimmen.

Die Perfusion der Haut ist in diesem Fall definiert als das Produkt aus der Geschwindigkeit der Erythrozyten und ihrer Konzentration im Meßvolumen und wird als Flux bezeichnet.

Bei einem Durchmesser des in der Fluxmetrie verwendeten Laserstrahls von 250-800 μm und einem daraus resultierenden Meßvolumen mit 1mm Durchmesser ist es mit dieser Methode nicht möglich, die Blutflußgeschwindigkeit in einer einzelnen Kapillare zu messen.

- Laser Doppler Anemometrie

Der Gefäßdurchmesser des kapillären Stromgebiets liegt zwischen 8 und 35 μm , was eine Bündelung des Laserstrahls auf ein Zehntel des in der Fluxmetrie verwendeten Durchmessers erforderlich macht.

Die Laser Doppler Anemometrie fokussiert das Laserlicht (780 nm) mit Hilfe eines Objektivs auf einen Durchmesser von 10 μm und ermöglicht damit die Darstellung einer einzelnen Kapillare.

Über ein Mikroskop (BJHM-Olympus, Japan) mit CCD-Kamera (H/V Version, Modell:XC-57CE, Sony, Japan) wird der Laserstrahl unter optischer Kontrolle auf eine Kapillare projiziert. Ein Teil des einstrahlenden Lichts wird in der Kapillare an sich bewegenden Erythrozyten reflektiert und erhält durch den Dopplershift eine neue Frequenz während der andere Teil an den starren Gefäßwänden in der ursprünglichen Wellenlänge reflektiert wird.

Mittels Photodetektor wird das reflektierte Licht aufgenommen, in einen Photostrom umgewandelt und die Blutzellgeschwindigkeit entsprechend dem Dopplergesetz bestimmt.

Das bei diesem Versuchsaufbau verwendete Laser Doppler Anemometer CAM1 (KK Technology, Braeside, Axminster, Devon, England) untersucht die Blutflußgeschwindigkeiten in Einzelkapillaren des Fingermittelglieds, welche senkrecht zur Hautoberfläche stehen.

2.11.2. Versuchsablauf

Die Entnahme aller Vollblutspenden erfolgte in einem festgelegten Zeitrahmen (8-12 h vormittags) bei einer Raumtemperatur (klimatisiert) von ca. 22° Celsius.

Nach 30-minütiger Eingewöhnungszeit wurden die Probanden auf dem Spendesessel liegend unter standardisierten Bedingungen (Rückenlehne 90 cm, waagrechte Beinposition) kapillarmikroskopisch untersucht.

Die Untersuchung erfolgte am Fingermittelglied des dritten Fingers der linken Hand.

Zu diesem Zweck wurde die Hand auf einer separaten Unterarmstütze auf Herzhöhe gelagert und mit einer Kissenauflage gestützt. Die nötige Ruhigstellung des Mittelfingers während der Messung erfolgte mittels eines zweiseitigen Fixierarms. Eine Beeinflussung der Hautdurchblutung kann durch den niedrigen Fixierungsdruck und den anatomischen Verlauf der Fingerarterien ausgeschlossen werden³.

Der Fixierarm war auf einer wärmeleitenden Metallplatte montiert.

Da eine Abnahme der Hauttemperatur auf unter 27° Celsius die Erythrozytengeschwindigkeit in den Kapillaren stark vermindert, wurden die Messungen in einem Temperaturbereich von 27-31° Celsius vorgenommen und somit einer Abhängigkeit der Kapillarperfusion von der Oberflächenperfusion entgegengewirkt^{39, 40}.

Um eine konstante Temperatur des Fingers und der Hand zu gewährleisten, wurde die auf der Metallplatte fixierte Hand auf einer gradgenau regulierbaren Heizplatte (Modell:12511, Medax-Nagel, Kiel) gelagert. Eine am Grundglied des Mittelfingers auf dem Handrücken befestigte digitale Temperatursonde (Thermo-Sensor A11079, Hagen) kontrollierte während der Messung ständig die Fingertemperatur.

Das Auftragen eines Tropfens Paraffinöls auf die Haut vor Beginn der Messung verhinderte Streueffekte durch das auftreffende Licht.

Zur Ausleuchtung des Untersuchungsbereichs diente eine Kaltlichtquelle (Olympus Highlight 2000, Modell 8550-N) mit Wärme- und Grünfilter. Das Wärmefilter verhinderte eine Überwärmung des Fingers im Laufe der Messung. Das Grünfilter ermöglichte eine gute Unterscheidung zwischen Erythrozyten, Plasma und Gewebe, da sein Absorptionsmaximum im Wellenlängenspektrum bei 480-560 nm liegt und somit im Bereich maximaler Hämoglobinabsorption.

Das Mikroskop war mit einer CCD-Videokamera gekoppelt. Das laufende Bild wurde direkt auf einem Schwarzweiß-Monitor (EVM 1519X, Electrohome, Kitchener, Ontario, Kanada) wiedergegeben. Zur Optimierung der Auswertung wurde gleichzeitig mittels S-VHS-Videorekorder (Modell: AG-5700, Panasonic, Japan, Super-VHS 240 Band, BASF, Deutschland) jede vermessene Kapillare aufgezeichnet und sowohl die Meßdauer wie auch das Datum der Messung mit einem Videotimer (Time-Date-Generator WJ-810; Panasonic, Japan, Stoppuhr mit 1/100 Sekundenanzeige) während der Messung eingeblendet.

Um eine Aussage über die Blutflußrate treffen zu können, wurden zu den einzelnen Meßzeitpunkten vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende jeweils drei benachbarte Kapillaren über 5 min vermessen.

Die Bündelung des Laserstrahls auf einen Fokus von 10 µm Durchmesser ermöglichte die Messung der Blutzellgeschwindigkeit in Einzelkapillaren mit einem Durchmesser von 9.8-32.1 µm³.

2.11.3. Auswertung

Zur Bestimmung der Blutflußgeschwindigkeit in den Kapillaren des Fingermittelgliedes wurden drei Kapillaren ausgewählt und über einen Zeitraum von 5 min gemessen.

Die Kapillaren sollten bei Positionierung des Lasers eine geringe Oberflächenreflexion des Laserstrahls aufweisen, um so eine Verfälschung des Meßergebnisses durch zu starkes Grundrauschen zu vermeiden.

Auswertung nach CAM1 Capillary Anemometer User's Guide, KK Technology, 1997³⁷.

Die Messung wurde über CAM1 Interfacekarten (WCAM1 Windows Software) im PC digital verarbeitet und auf dem Computerbildschirm als Dopplerspektrum sowie als Audiosignal für den Untersucher wiedergegeben.

Eine Optimierung des erhaltenen Signals konnte mittels Einstellung der Bandbreite und des Schwellenwertes erreicht werden. Eine geringe Bandbreite führte zu einer maximalen spektralen Auflösung des Signals, ein Standardschwellenwert garantierte weniger Rauscheffekte.

Die Auswertung der Messungen erfolgte je nach Art des erhaltenen Signals. Ein Signal mit einem schmalen Dopplerspektrum (Peak= optimales Flußgeräusch über der Kapillare) und einem pfeifenden Dopplergeräusch wurde mittels der Option „Peak

CBV“ (capillary blood cell velocity) ausgewertet. Ein Signal, das ein flacheres, wellenförmiges Spektrum aufwies (alle Frequenzen bis hin zur maximal gemessenen Geschwindigkeit), verursacht zum Beispiel durch eine Kapillarwindung oder eine Kapillare mit großem Durchmesser, wurde mittels „Maximum Frequency CBV“ ausgewertet.

Eine dritte Methode, „Envelope of Power Content CBV“(Hüllkurve), erlaubte die Auswertung eines Signals mit über den Zeitraum der Messung sehr stark variierenden Dopplerfrequenzen. Es konnte somit die Frequenz errechnet werden, die einen vorgegebenen Prozentsatz von 50% der Gesamtsignalstärke unter sich „einhüllt“.

Bevor die Auswertung mit der jeweils gewählten Methode begonnen wurde, wurde die über dem Dopplerspektrum liegende CBV-Kurve geglättet („smooth trace“), um eine optimale Anpassung an die Doppler-Peaks zu erreichen und noch bestehende Artefakte auszuschalten.

Die Methoden lieferten nun jeweils einen Durchschnittsgeschwindigkeitswert für jede einzelne Kapillare. Aus allen drei Werten wurde für den entsprechenden Meßzeitraum (vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende) der Mittelwert gebildet und als Blutflußrate in mm/s angegeben.

Ein möglicher Einfluß der verschiedenen verwendeten Auswertoptionen (Peak CBV, Maximum Frequency CBV, Envelope of Power Content CBV) auf die erhaltenen Durchschnittswerte und damit auf die Blutflußgeschwindigkeit wurde an dieser Stelle nicht untersucht.

2.12. Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS (SPSS für Windows Version 6.3.1, SPSS Inc. Chicago, USA).

Die Werte wurden im ersten Schritt mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung überprüft. Bei Normalverteilung der Werte erfolgte die weitere Auswertung mittels des T-Testes für gepaarte Stichproben, bei Nichtnormalverteilten Ergebnissen wurde der Wilcoxon-Test angewendet.

Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit $< 5\%$ ($p < 0,05$) festgelegt.

Signifikanzgrenzen:

$< 10\%$ = tendenziell

< 5% = *

< 1% = **

< 1 ‰ = ***

Korrelationen wurden mittels Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten errechnet.

Die Abbildungen im Ergebnisteil zeigen Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) aus 20 Proben.

III Ergebnisse

Die Ergebnisauswertung erfolgte mittels student-t-test für gepaarte Stichproben; es sind jeweils die Mittelwerte und die zugehörigen Standardabweichungen angezeigt. Alle Paarvergleiche (n= 20) waren auswertbar.

3.1. Hämatologische Ergebnisse

Es werden jeweils die hämatologischen Parameter der Spender sowie der aus der Spende gewonnenen Präparate untersucht.

3.1.1. Erythrozytenzahl

3.1.1.1. Erythrozytenzahl der Spender

Zu den Meßzeitpunkten vor und nach der Spende ändert sich die Anzahl der Erythrozyten der Vollblutspender nicht, allerdings liegt sie 24 Stunden nach der Spende signifikant unter den zuvor gemessenen Werten ($p < 0.01$).

Die Veränderungen, die sich nach der Multikomponentenspende zeigen, entsprechen in ihrem Verlauf denen der Vollblutspende.

Ein Vergleich beider Gruppen zeigt eine gleichsinnige Verringerung der Erythrozytenzahl, wobei die Zahl der roten Blutkörperchen in der MKS zu allen Meßzeitpunkten höher liegt als in der VBS. Da das Absinken der Erythrozyten in der MKS langsamer verläuft als in der VBS, kommt es nach der Spende zu einem signifikanten Gruppenunterschied ($p = 0.009$), der 24 Stunden nach der Spende verschwindet.

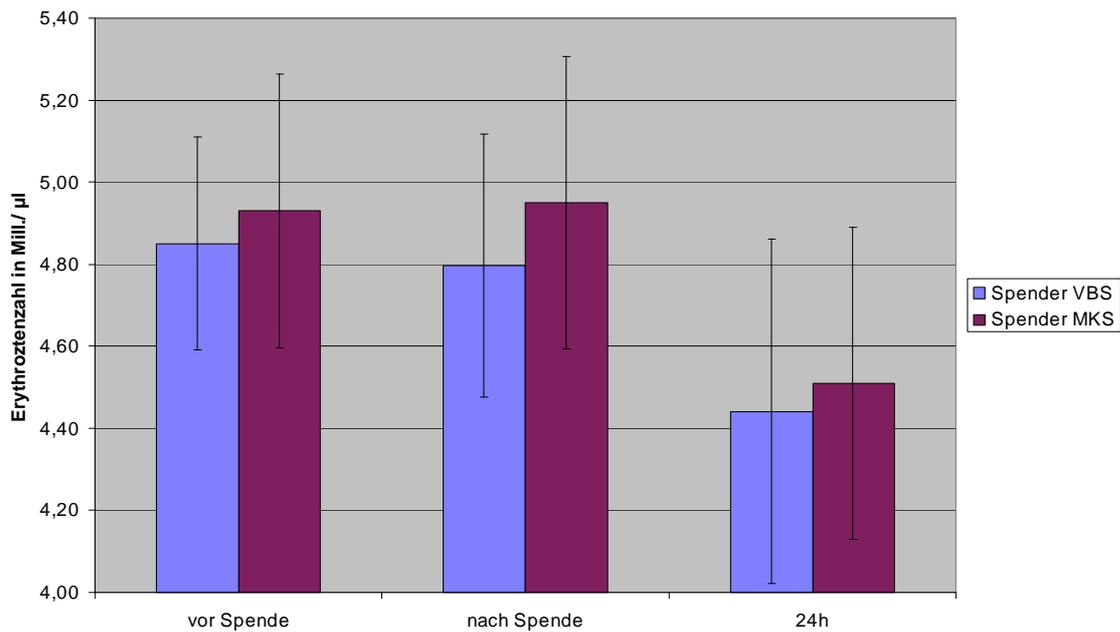


Abbildung 1 Verlauf der Erythrozytenzahl beider Spenderkollektive vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende. Erythrozytenzahl in $10^6/\mu\text{l}$.

3.1.1.2. Erythrozytenzahl der Präparate

Die Lagerung der Präparate über 63 Tage führt weder bei der Multikomponenten- noch bei der Vollblutspende zu Veränderungen der Erythrozytenzahl.

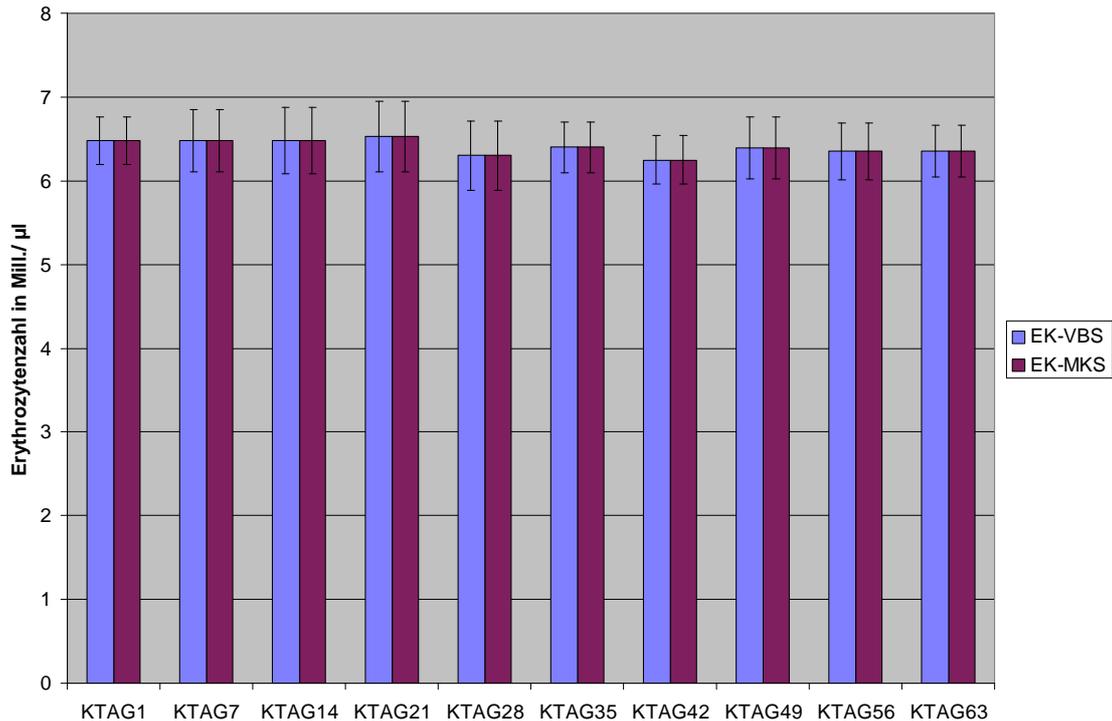


Abbildung 2 Verlauf der Erythrozytenzahl in VBS und MKS über den Lagerungszeitraum von 63 Tagen. Erythrozytenzahl in $10^6 / \mu\text{l}$.

3.1.2. Hämoglobin

3.1.2.1. Hämoglobin der Spender

Der Hämoglobingehalt im Blut der Spender nimmt im Versuchsverlauf bei der VBS kontinuierlich ab. Bereits eine Stunde nach der Spende kann eine signifikante Abnahme zum Erstwert festgestellt werden ($p= 0.034$). 24 Stunden nach der Spende sind die Werte weiter gesunken ($p < 0.001$).

Eine Abnahme der Hämoglobinkonzentration kann ebenso bei der MKS beobachtet werden. Vor und eine Stunde nach der Spende kommt es zu keiner sichtbaren Veränderung des Hb, der 24 Stunden Meßwert liegt deutlich unter den vorherigen ($p < 0.001$).

Das Absinken des Hämoglobingehalts vollzieht sich in der Vollblutspende etwas rascher als in der Multikomponentenspende. Während bei der VBS schon eine Stunde nach der Spende ein signifikant niedrigerer Hb-Wert festzustellen ist, entwickelt sich dies bei der MKS erst zum Kontrollzeitpunkt 24 Stunden nach der Spende. Durch diese

Verzögerung kommt es beim Einstundenwert zu einem signifikanten Unterschied zwischen beiden Kollektiven ($p= 0.012$), der sich zwischen der ersten und 24 Stunden nach der Spende wieder nivelliert.

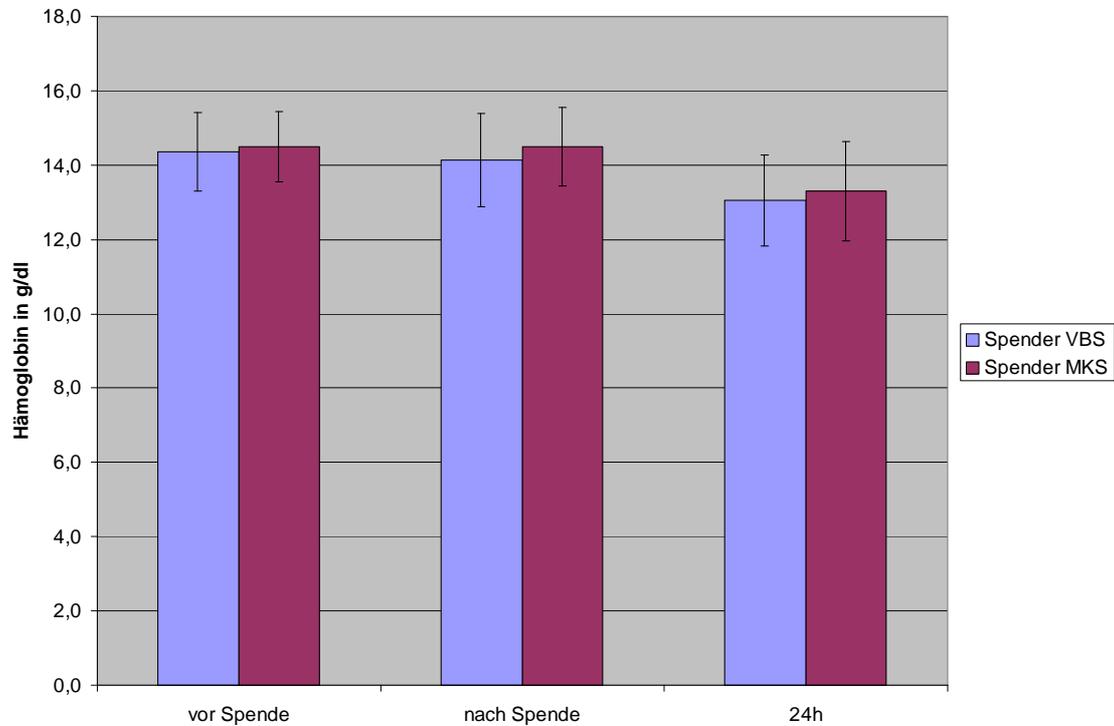


Abbildung 3 Verlauf des Hämoglobin der Spendergruppen vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende. Hämoglobin in g/ dl.

3.1.2.2. Hämoglobin der Präparate

Der Hämoglobingehalt der Präparate beider Gruppen ändert sich während der gesamten Lagerungszeit nicht.

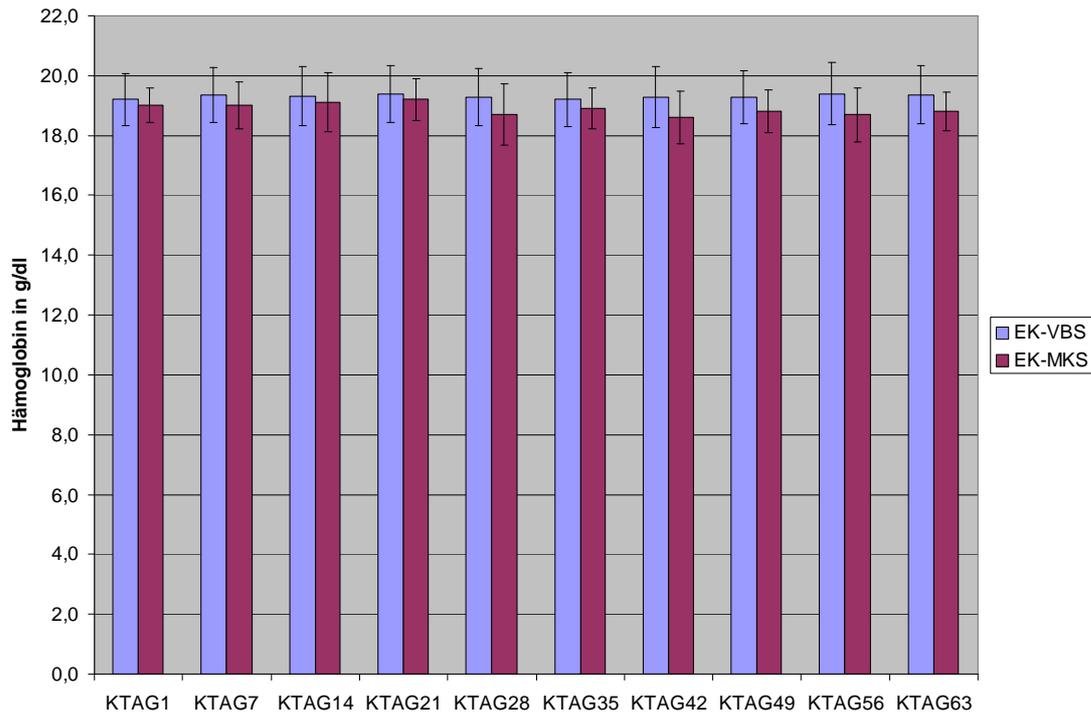


Abbildung 4 Verlauf des Hämoglobin in VBS und MKS über 63 Tage.
Hämoglobin in g/ dl.

3.1.3. Hämatokrit

3.1.3.1. Hämatokrit der Spender

Vor und eine Stunde nach der Spende liegen die Hämatokritwerte bei der VBS und der MKS jeweils auf einem Niveau. Erst 24 Stunden nach der Spende nimmt der Hk bei beiden Gruppen signifikant zu den Vorwerten ab ($p < 0.001$).

Eine vergleichende Betrachtung beider Spendergruppen zeigt erneut, daß ein verzögertes Absinken des Hk bei der Multikomponentenspende kurzfristig zu einem signifikanten Unterschied zwischen beiden Verfahren führt (nach der Spende $p = 0.010$).

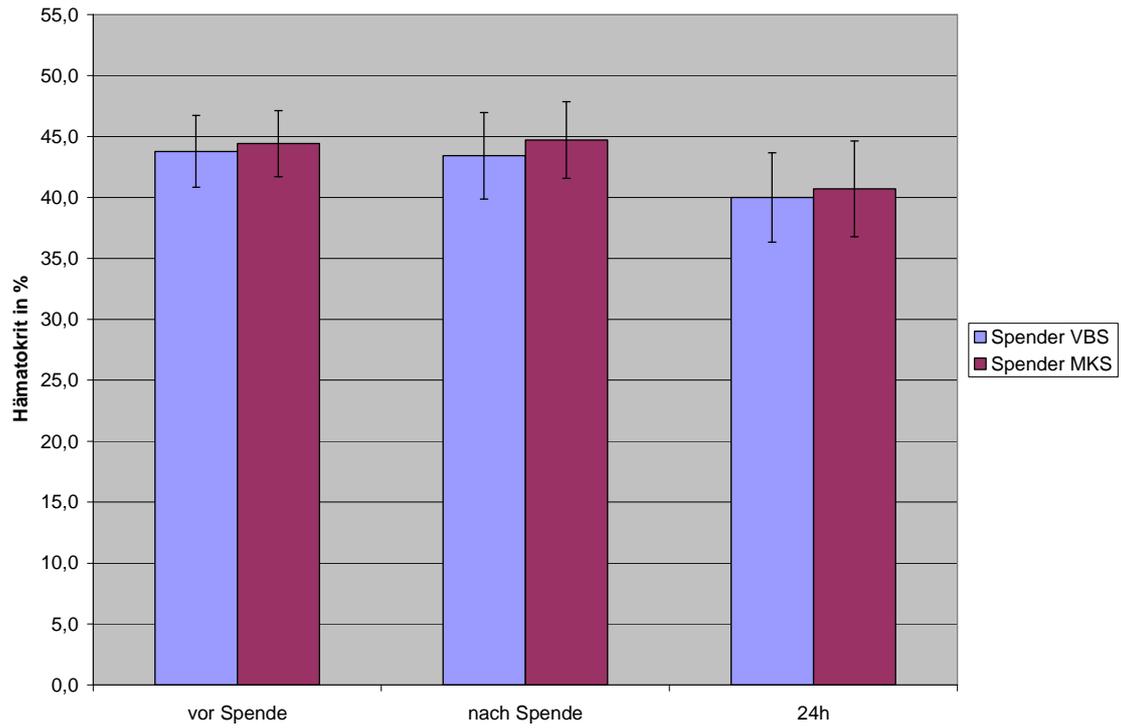


Abbildung 5 Verlauf des Hämatokrit in den Spenderkollektiven vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende. Hämatokrit in %.

3.1.3.2. Hämatokrit der Präparate

Der Hämatokrit der Präparate ändert sich über die Dauer der Lagerung nicht.

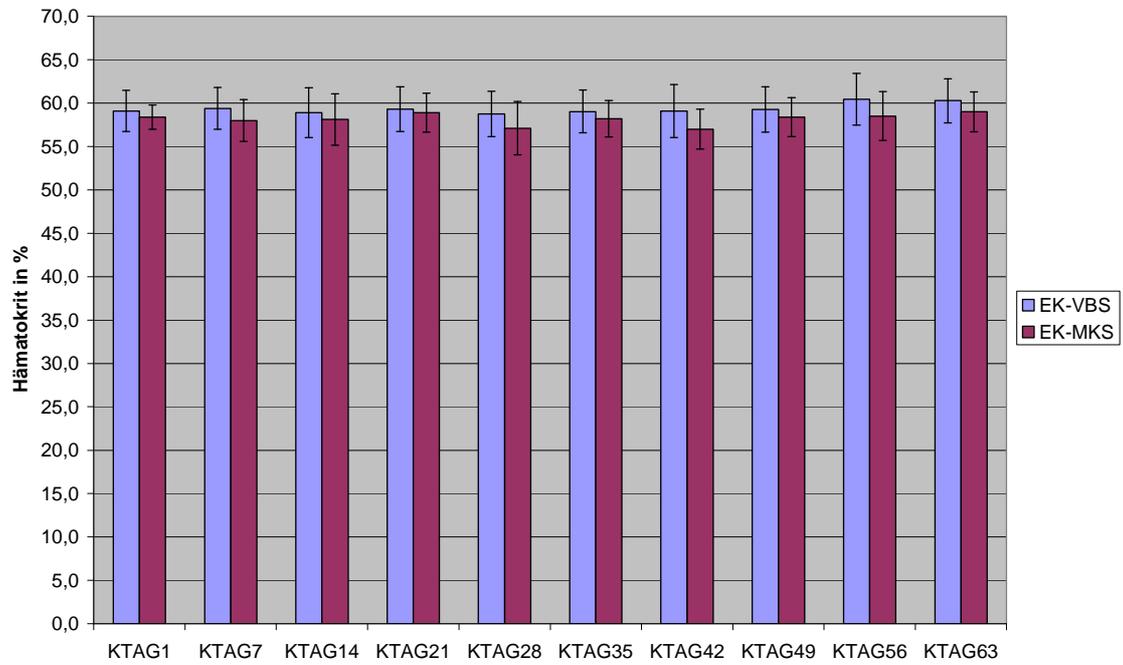


Abbildung 6 Hämatokrit in VBS und MKS über 63 Tage. Hämatokrit in %.

3.2. Klinisch-Chemische Ergebnisse

3.2.1. Ergebnisse der Blutuntersuchung der Spender

Für alle erhobenen Parameter findet sich eine gleichsinnige Entwicklung der Werte im Verlauf. Es kommt zu keinen Gruppenunterschieden.

3.2.1.1. Albumin

In der Vollblutspende sinkt der Albuminwert eine Stunde nach der Spende signifikant unter den Ausgangswert ($p < 0.05$), was auch 24 Stunden nach der Spende zu beobachten ist.

Die Multikomponentenspende bewirkt ein rasches Absinken des Albumins eine Stunde nach der Spende ($p = 0.004$), danach stagniert der Albuminwert auf niedrigem Niveau.

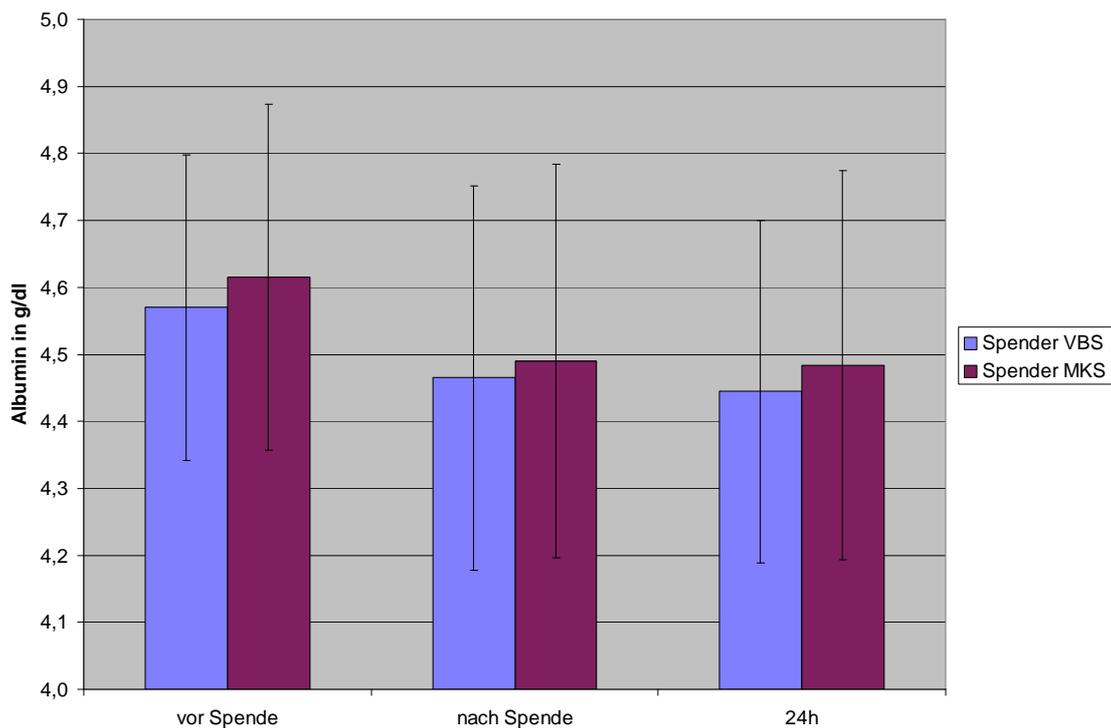


Abbildung 7 Verlauf des Albumin in VBS und MKS vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende. Albumin in g/ dl.

3.2.1.2. Fibrinogen

Im Verlauf der Untersuchung kommt es bei Vollblut- und Multikomponentenspende zu einer vergleichbaren Abnahme des Fibrinogens (jeweils $p < 0.05$). Sowohl eine Stunde ($p = 0.010$) wie auch 24 Stunden ($p < 0.005$) nach der Spende liegen die Werte deutlich unter den Ausgangsbefunden.

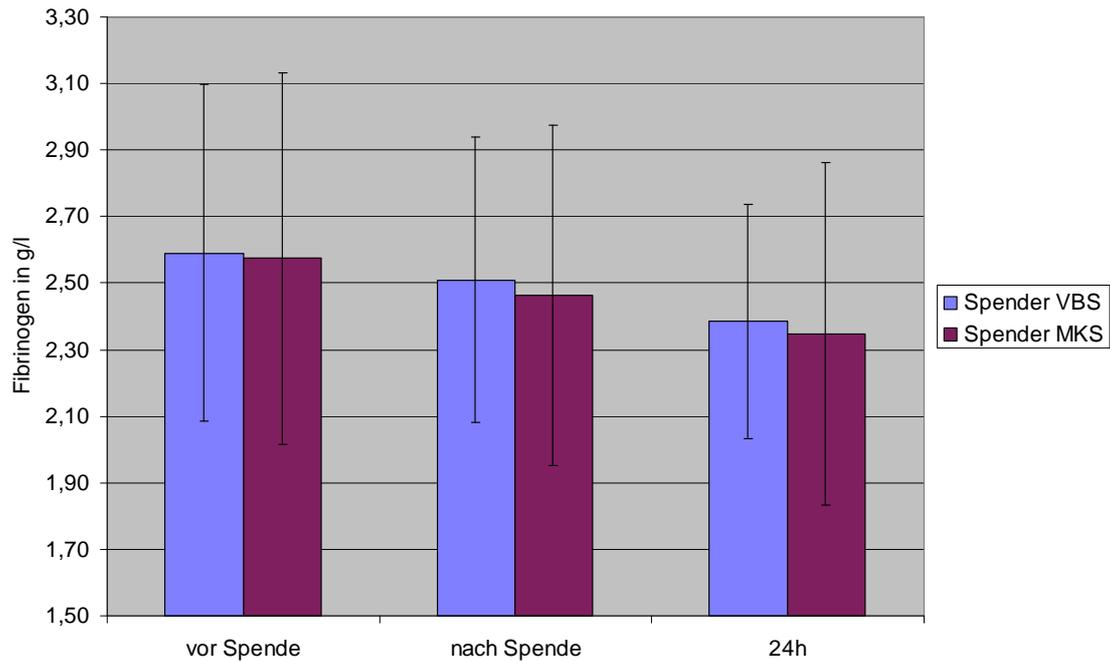


Abbildung 8 Verlauf des Fibrinogen in beiden Kollektiven vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende. Fibrinogen in g/l.

3.2.1.3. Gesamteiweiß

Bereits eine Stunde nach der Spende zeigt sich in beiden untersuchten Kollektiven ein merklicher Abfall des Gesamteiweiß ($p= 0.001$), der sich bis 24 Stunden nach der Spende noch fortsetzt ($p< 0.001$).

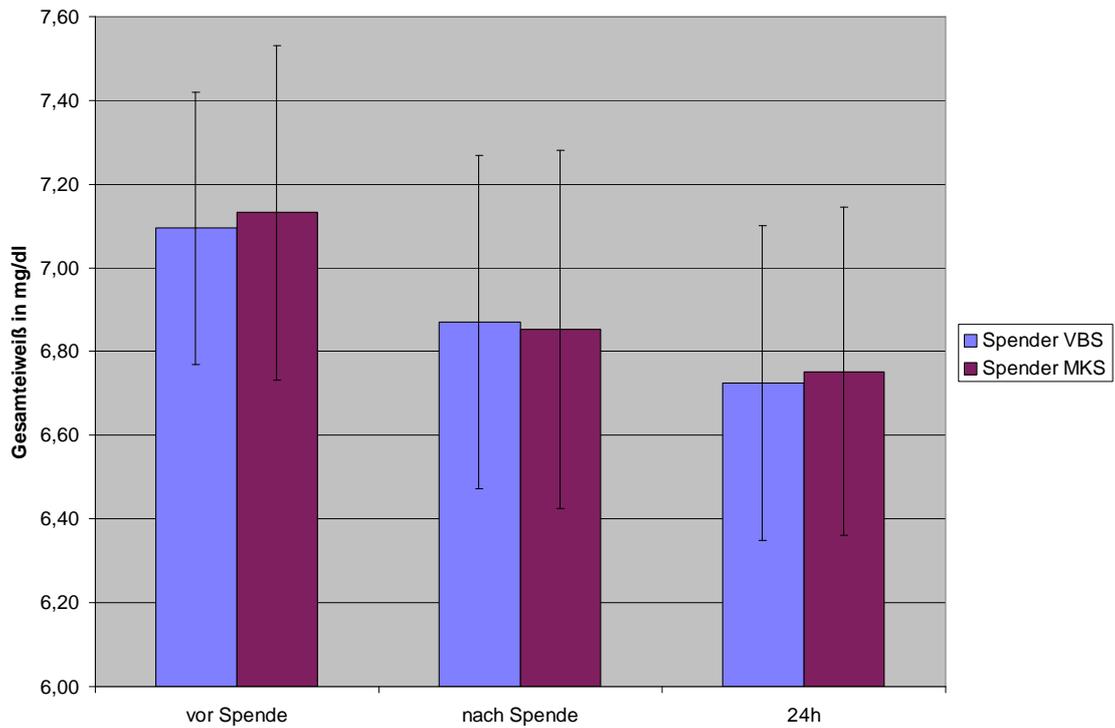


Abbildung 9 Verlauf des Gesamteiweiß in VBS und MKS vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende. Gesamteiweiß in mg/ dl.

3.2.2. Untersuchung der Präparate

3.2.2.1. Glucose

Die Glucosekonzentration nimmt in den Vollblutpräparaten über den gesamten Lagerungszeitraum von 63 Tagen kontinuierlich ab. Am 63. Tag liegt der Glucosegehalt bei 31 % des Ausgangswertes, was einem Verbrauch von 406mg/ dl entspricht.

Der Glucoseverbrauch bei der Multikomponentenspende liegt mit 441mg/ dl deutlich höher als bei der VBS. Nach 63 Tagen liegt die Glucosekonzentration der Präparate bei 7 % des Ausgangswertes.

Ein Vergleich beider Kollektive ergibt über den gesamten Meßzeitraum einen signifikanten Gruppenunterschied ($p < 0.001$).

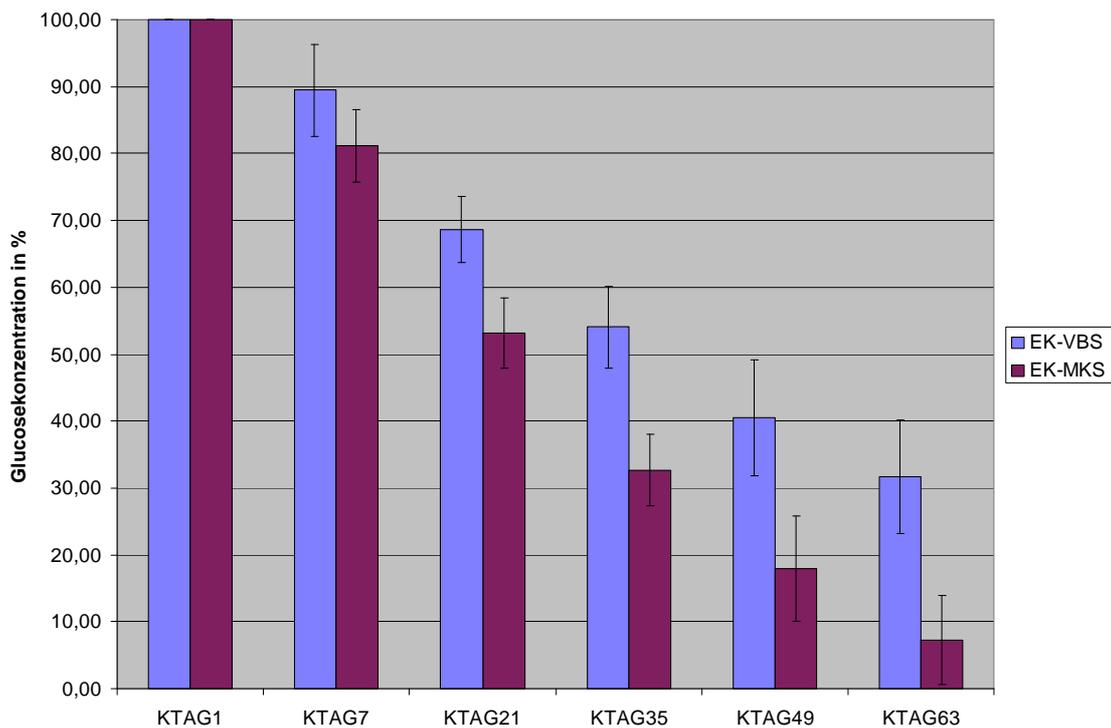


Abbildung 10 Verlauf der Glucose in VBS und MKS über 63 Tage.

Glucosekonzentration in %.

3.2.2.2. Laktat

Die Auswertung erfolgt mittels Wilcoxon Test für gepaarte Stichproben.

Die Laktatkonzentration in den Vollblutpräparaten nimmt während der 63tägigen Lagerung

(jeweils $p < 0.0005$) stetig zu. Die Laktatkonzentration beträgt am letzten Lagerungstag das 10fache des Ausgangswertes.

Die Ergebnisse der Apherese zeigen eine gleichsinnige Entwicklung der Laktatwerte. Es kommt zu einer kontinuierlichen Steigerung der Werte auf das 11fache des Ausgangsbefundes. Die gemessene Zunahme der Laktatkonzentration erfolgt bis Tag 49 steil ($p < 0.0002$), zum 63. Tag hin verlangsamt sie sich ($p = 0.0019$).

Bei nahezu identischen Ausgangswerten liegen die nachfolgenden Meßzeitpunkte (ab Tag 7 der Lagerung) deutlich über der VBS (jeweils $p < 0.004$).

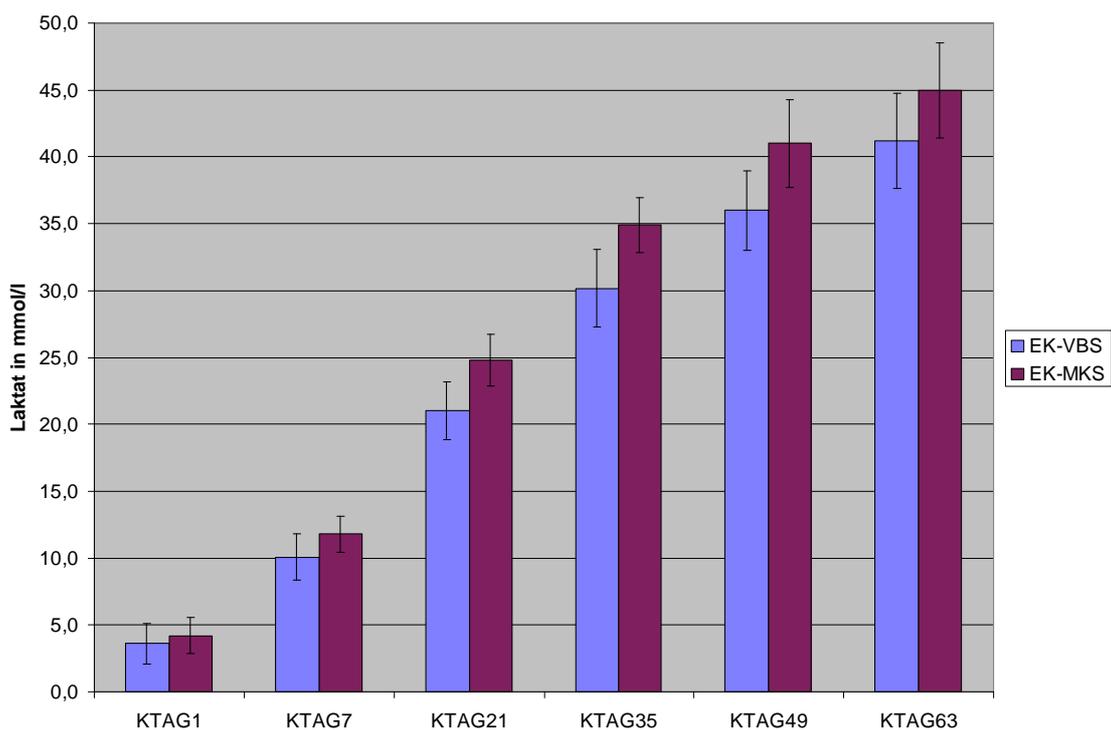


Abbildung 11 Verlauf des Laktat in VBS und MKS über 63 Tage. Laktat in mmol/ l.

3.2.2.3. 2,3-DPG

Der 2,3-DPG-Spiegel fällt im Verlauf der Untersuchung ab. Der Abfall bei der VBS ist zu Beginn am steilsten und wird mit zunehmender Lagerungsdauer flacher (1.-21. Tag $p < 0.001$; ab dem 49. Tag keine signifikanten Unterschiede).

Die Werte der MKS erfahren zunächst bis Tag 7 keine wesentlichen Veränderungen. Zwischen dem 7. und dem 21. Tag jedoch sinkt der 2,3-DPG-Gehalt rapide ab ($p < 0.001$) und fällt bis zum 63. Tag weiter kontinuierlich ab.

Die Konzentrationen des 2,3-DPG in Vollblut- und Multikomponentenspende gleichen sich über den Lagerungszeitraum trotz signifikant höheren Ausgangswerten in der MKS ($p < 0.001$) ab dem 21. Tag einander an. Der 2,3-DPG-Gehalt ist am 63. Tag in beiden Präparaten identisch.

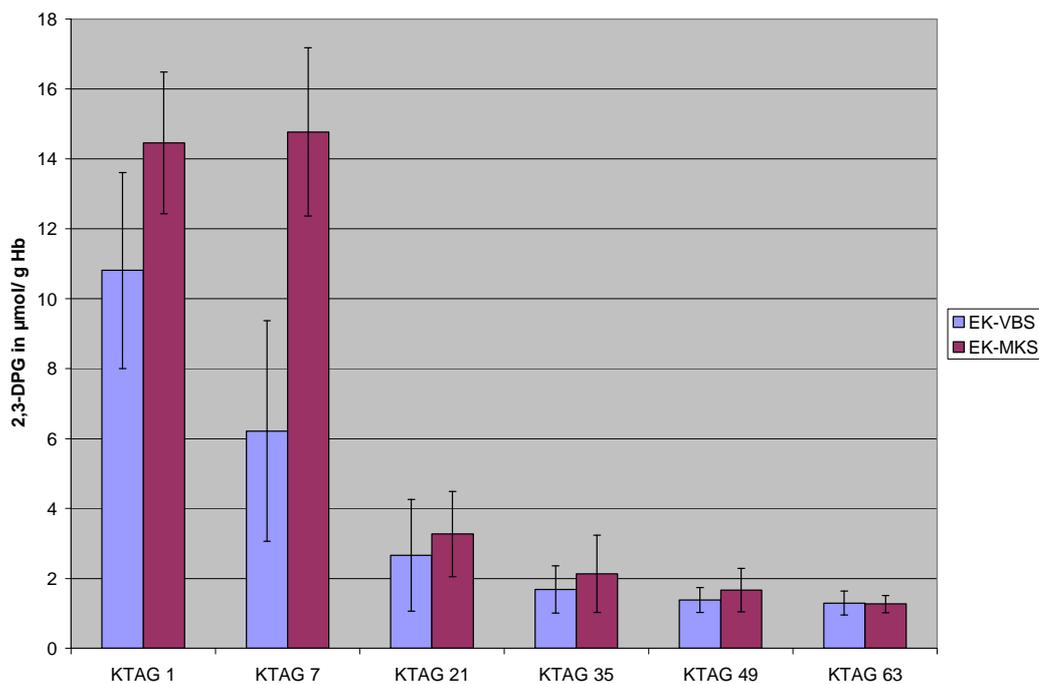


Abbildung 12 Verlauf des 2,3-DPG in VBS und MKS über 63 Tage.

2,3-DPG in $\mu\text{mol/g Hb}$.

3.2.2.4. ATP

Die ATP-Konzentration nimmt sowohl in der VBS als auch in der MKS einen biphasischen Verlauf mit einem initialen Anstieg der Konzentration und einer ab Tag 21 zu beobachtenden signifikanten Abnahme des ATP-Gehalts (jeweils $p < 0.001$).

Der Vergleich beider Gruppen ergibt einen signifikanten Unterschied für den 1. und 7. Tag, wobei die VBS jeweils eine höhere ATP-Konzentration aufweist. Die bis zum Tag 21 raschere Abnahme des ATP-Gehalts hebt die Differenz jedoch wieder auf.

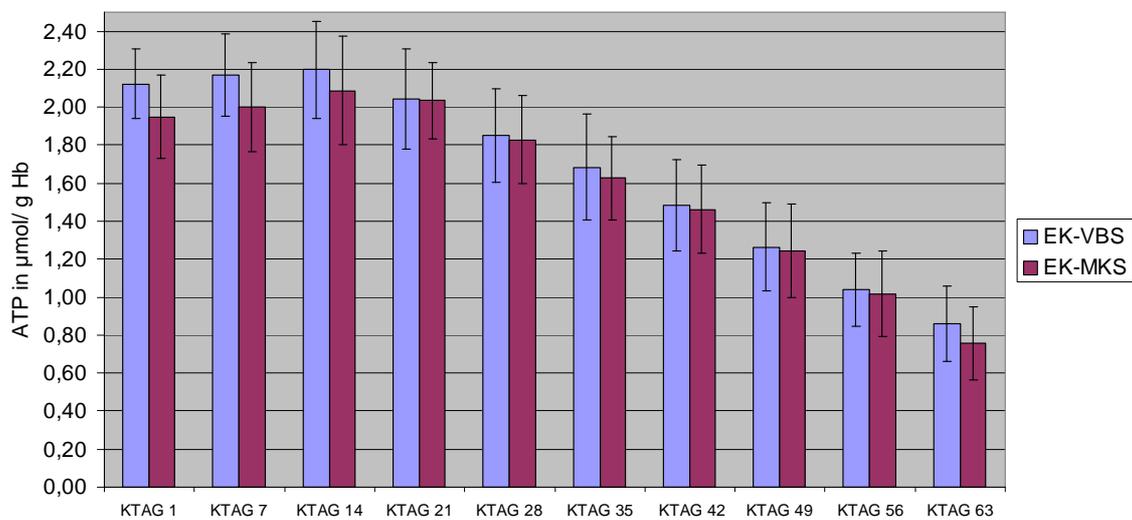


Abbildung 13 Verlauf des ATP in VBS und MKS über 63 Tage. ATP in $\mu\text{mol/ g Hb}$.

3.2.2.5. pH- Meßergebnisse

3.2.2.5.1. Intrazellulärer pH

Der intrazelluläre pH fällt mit der Lagerungsdauer in beiden Präparategruppen konstant ab (jeweils $p < 0.001$).

Der Vergleich von VBS und MKS zeigt eine identische Abnahme des pH-Wertes. Bei einem höheren Ausgangswert in der Apherese-Gruppe kommt es an den Tagen 1, 7, 14 und 21 zu signifikanten Unterschieden ($p < 0,001$), die Werte gleichen sich jedoch ab dem 35. Tag einander an, so daß an den späteren Meßzeitpunkten keine Wertedifferenzen mehr festgestellt werden können.

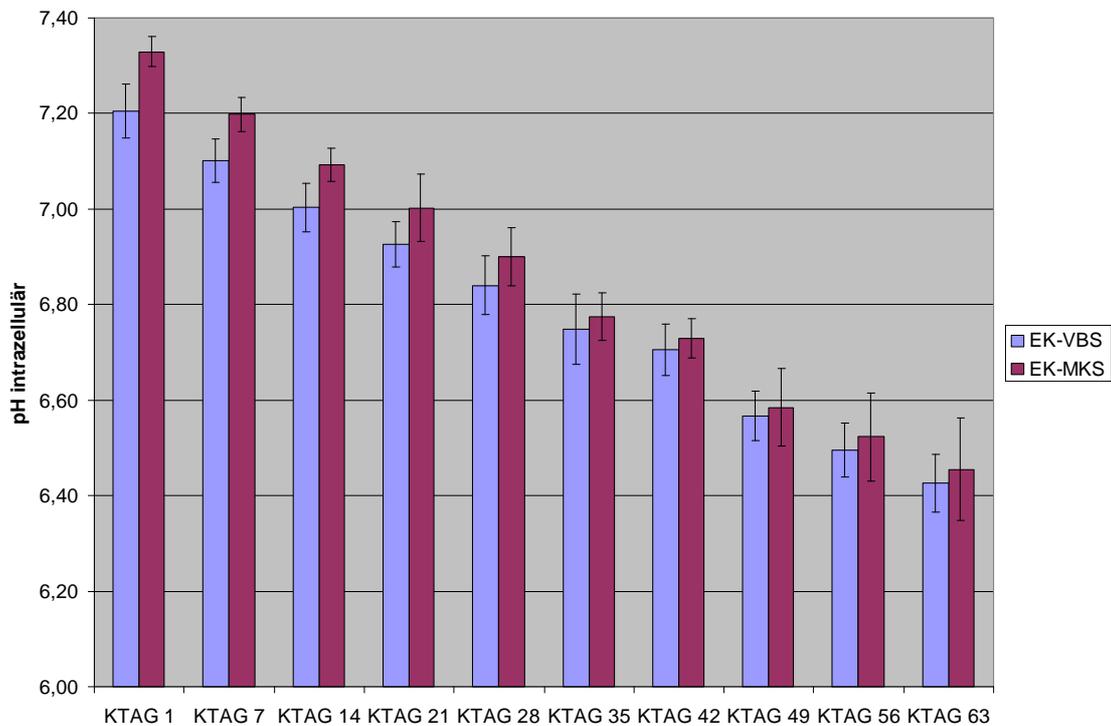


Abbildung 14 Verlauf des intrazellulären pH-Wertes in VBS und MKS über 63 Tage.

3.2.2.5.2. Extrazellulärer pH

Sowohl bei der VBS als auch bei der MKS kommt es zu einer deutlichen Verminderung des extrazellulären pH im Verlauf der Lagerung über 63 Tage (jeweils $p < 0.002$).

Von einem identischen Ausgangswert beider Gruppen fällt der pH-Wert der MKS zu den ersten Meßpunkten (7. und 14. Tag) langsamer ab als in der VBS ($p = 0.008$ bzw. $p = 0.029$).

Ab der dritten Lagerungswoche (21. Tag) gleichen sich diese Werte jedoch sukzessive wieder an, am 63. Tag erreicht der pH in beiden Gruppen einen identischen Endwert.

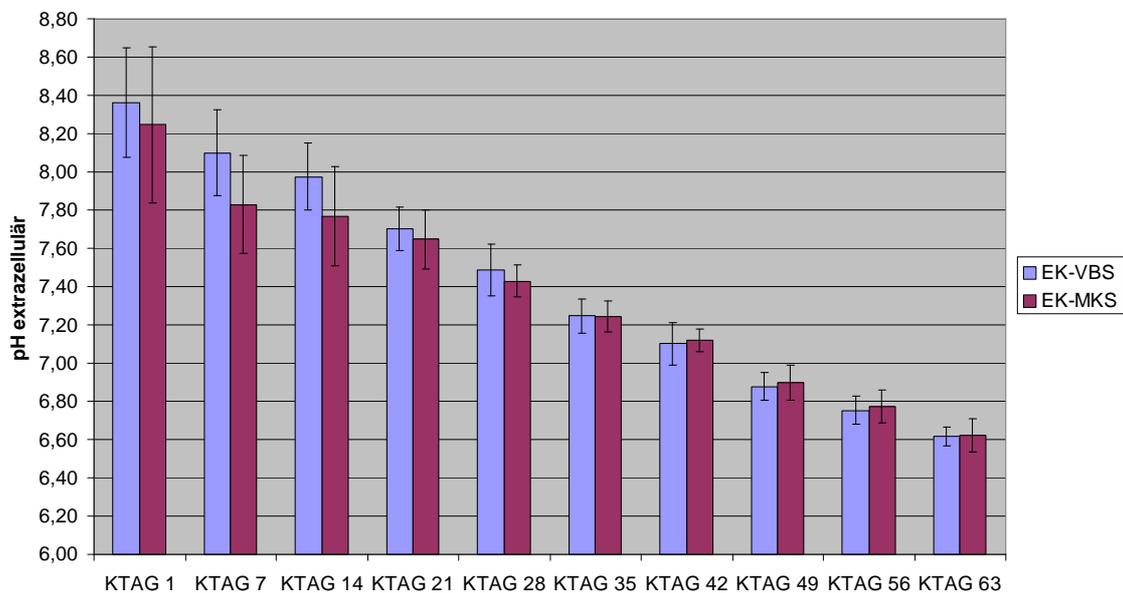


Abbildung 15 Verlauf des extrazellulären pH-Wertes in VBS und MKS über 63 Tage.

3.2.2.6. Sauerstoffpartialdruck (pO₂)

Der Sauerstoffpartialdruck steigt im Verlauf der 63tägigen Lagerung in der Vollblutspende beständig an. In den ersten drei Lagerungswochen kommt es zu einer langsamen aber kontinuierlichen Zunahme des pO₂. Zwischen Tag 21 und Tag 35 verdoppelt sich der Wert annähernd, um dann bis Tag 63 unter langsamen Ansteigen das 4,4 fache des Ausgangswertes zu erreichen.

Auch in der Multikomponentenspende kommt es zu einer stetigen Zunahme des Sauerstoffpartialdruckes. Die Entwicklung der Werte entspricht denen der VBS, am 35. Tag verdoppelt sich der pPO₂ im Vergleich zum vorigen Meßzeitpunkt (21. Tag). Am 63. Tag entspricht der Sauerstoffpartialdruck dem 4,3 fachen des Ausgangswertes.

Aufgrund des identischen Verlaufs der Werte für pO₂ kommt es zu keinem Zeitpunkt zu signifikanten Gruppenunterschieden.

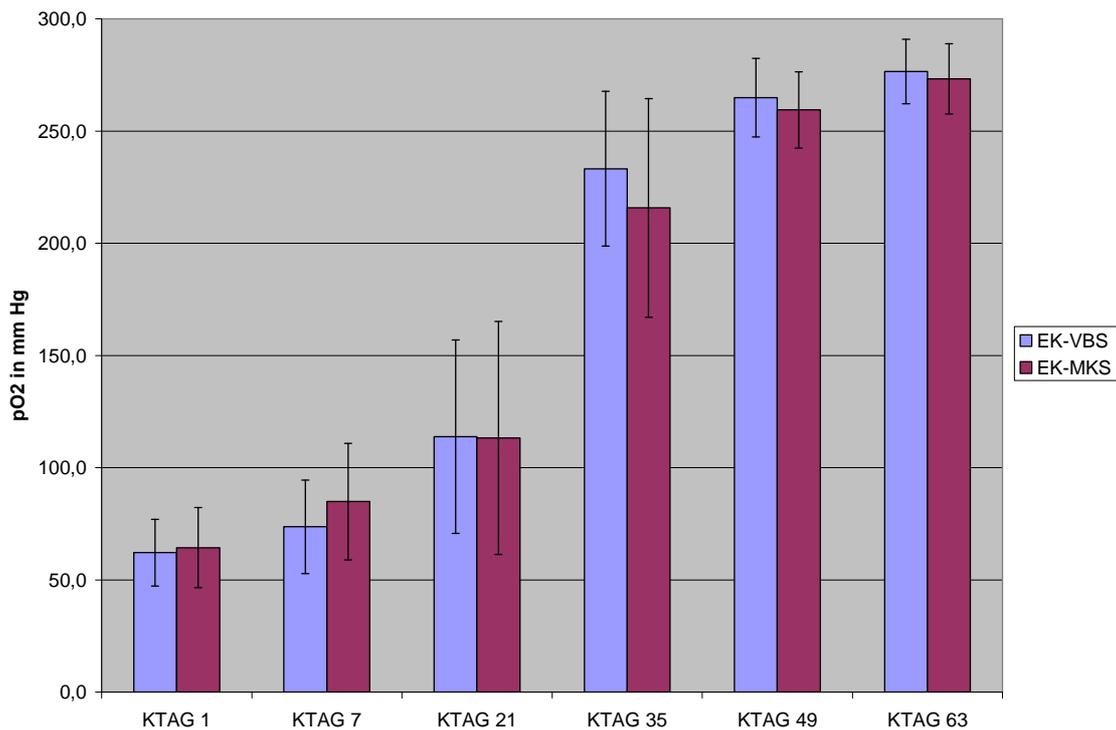


Abbildung 16 Verlauf des Sauerstoffpartialdruckes in VBS und MKS über 63 Tage. Sauerstoffpartialdruck (pO₂) in mmHg.

3.2.2.7. Sauerstoffsättigung (SO₂)

Die Auswertung erfolgt mittels Wilcoxon Test.

In der VBS nimmt die Sauerstoffsättigung bis zum 49. Tag kontinuierlich auf annähernd 100 % zu und bleibt dann konstant. Ein Vergleich des Werteverlaufs an aufeinanderfolgenden Meßzeitpunkten erbringt zwischen Tag 7 und 21 ($p= 0,013$) sowie zwischen Tag 35 und 49 ($p= 0,004$) einen signifikanten Unterschied.

Die Entwicklung der Werte in der MKS liefert wie in der VBS einen Anstieg der SO₂ auf fast 100 % bis zum 49.Tag, danach bleibt die Sauerstoffsättigung auf diesem Niveau. Signifikanzen ergeben sich zwischen Tag 1 und Tag 7 ($p= 0,001$), Tag 7 und Tag 21 ($p= 0,002$) sowie Tag 35 und Tag 49 ($p= 0,001$).

Ein Vergleich beider Kollektive zeigt signifikante Gruppenunterschiede an Tag 1 ($p= 0,007$) und Tag 7 ($p= 0,02$). Die Werte der MKS liegen bis Tag 21 über denen der VBS, danach gleichen sie sich an.

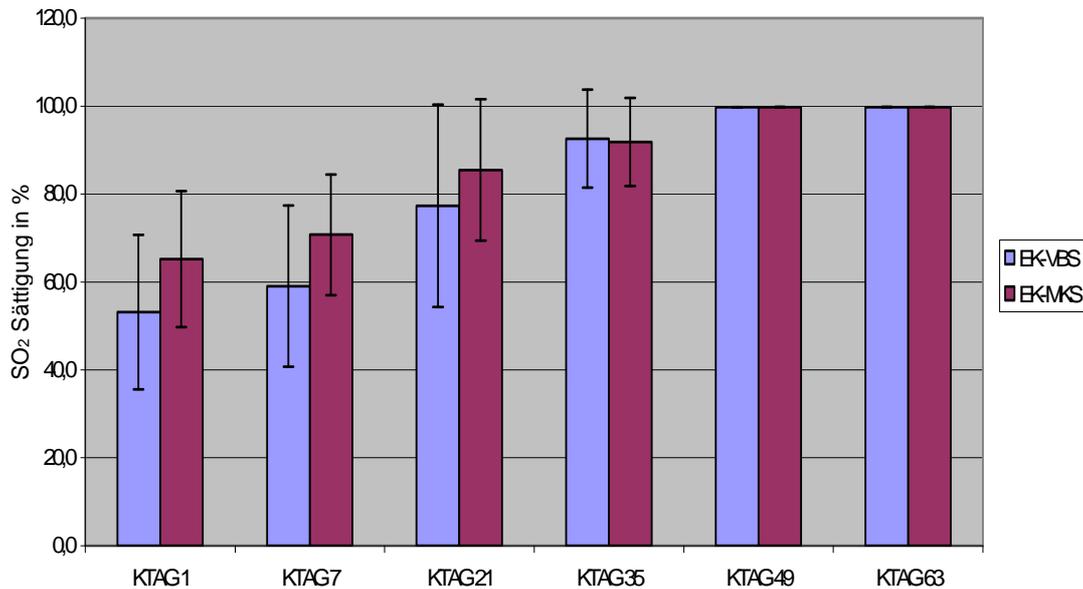


Abbildung 17 Verlauf der Sauerstoffsättigung in VBS und MKS über 63 Tage. Sauerstoffsättigung in %.

3.2.2.8. Kohlendioxidpartialdruck (pCO₂)

Die Konzentration von pCO₂ steigt in der Vollblutspende bis zum 21. Tag der Lagerung an, ab dem 35. Tag zeichnet sich eine deutliche Abnahme unter den Ausgangswert ab.

Dabei ergeben die Vergleiche der jeweils aufeinanderfolgenden Meßzeitpunkte für Tag 7 und Tag 21 ein p= 0.006, für die anderen Zeitintervalle ist p< 0.001.

Der Verlauf in der Multikomponentenspende zeigt die gleiche Tendenz. Zuerst erfolgt ein Anstieg des Kohlendioxidpartialdruckes bis zum 21. Tag, danach verringern sich die Werte kontinuierlich. Hier sind die Unterschiede zum jeweils folgenden Lagerungstag höchst signifikant (p< 0.001).

Ein Vergleich beider Kollektive ergibt für alle Meßzeitpunkte außer Tag 63 signifikante Gruppenunterschiede (Signifikanzbereich von p= 0.002 bis p= 0.02).

Der Anstieg des pCO₂ in der MKS erfolgt von einem niedrigeren Anfangswert auf ein höheres Niveau als in der VBS, das Absinken dementsprechend steiler auf ein identisches Wertenniveau.

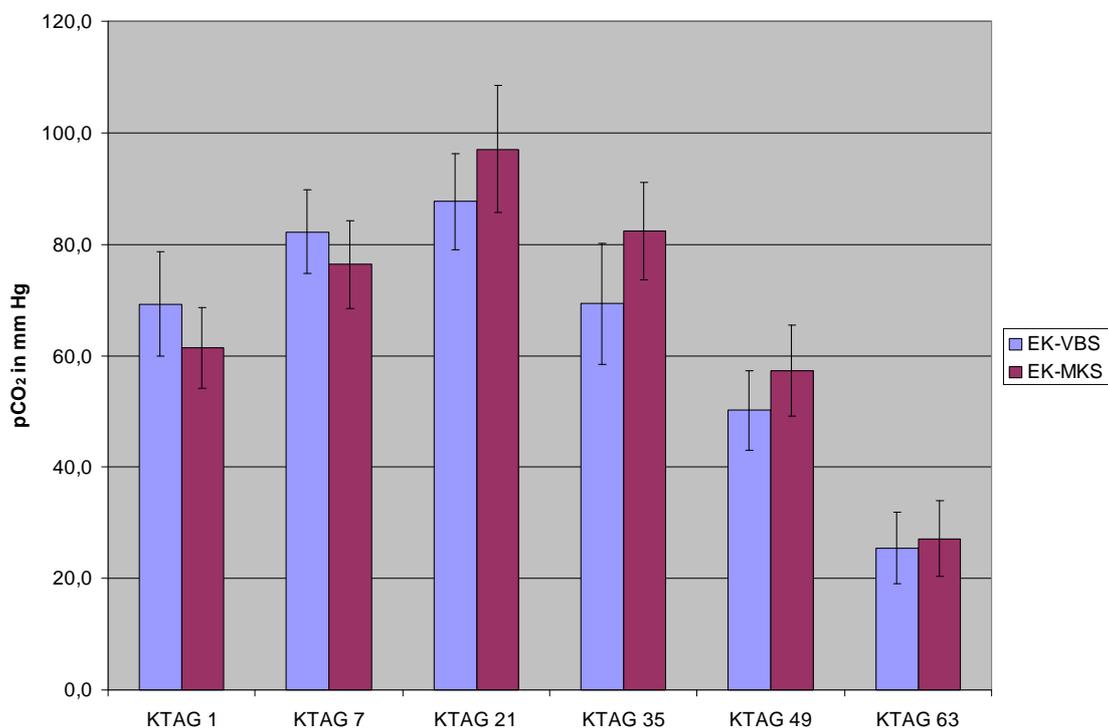


Abbildung 18 Verlauf des Kohlendioxidpartialdruckes in VBS und MKS über 63 Tage. pCO₂ in mmHg.

3.2.2.9. Kalium

Die extrazelluläre Kaliumkonzentration steigt über den gesamten Lagerungszeitraum von 63 Tagen sowohl in den mittels Vollblutspende gewonnenen Präparaten als auch in den Apheresepräparaten stetig an. Die Kaliumwerte erfahren bei der VBS einen steileren Anstieg als bei der MKS.

Für die Tage 1 und 7 ($p < 0.001$) sowie 21 und 35 ($p < 0.05$) liegen die Konzentrationen der MKS signifikant über der VBS.

Tag 49 und 63 zeigen keinen signifikanten Gruppenunterschied mehr.

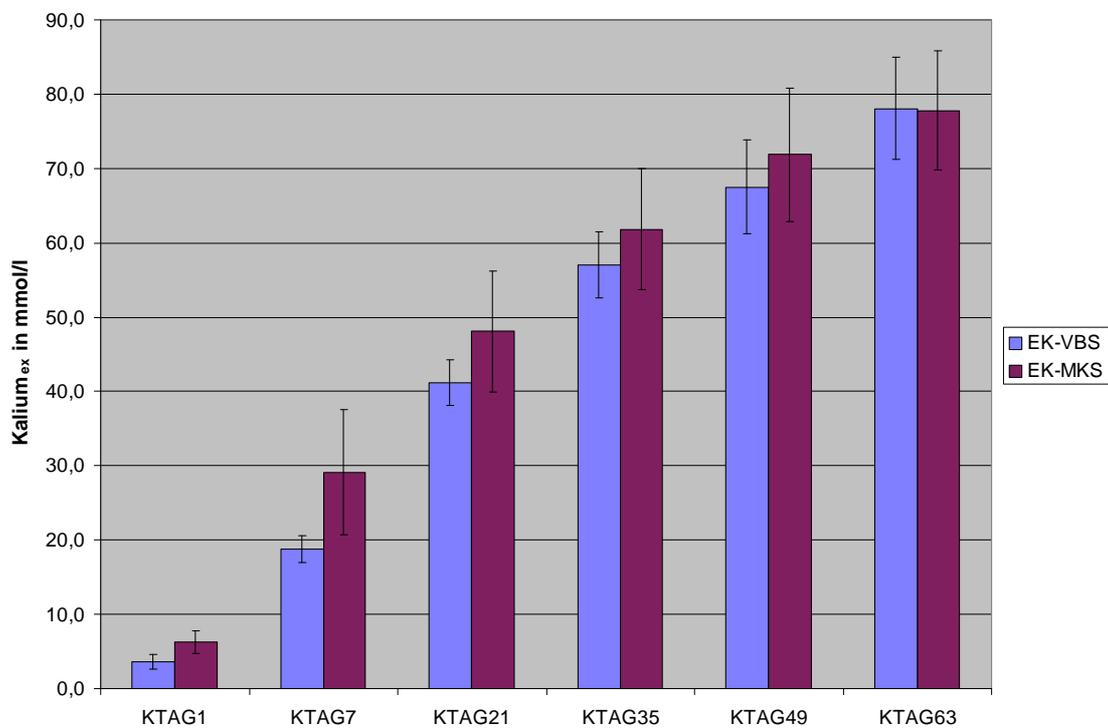


Abbildung 19 Verlauf der extrazellulären Kaliumkonzentration in VBS und MKS über 63 Tage. Kalium in mmol/ l.

3.2.2.10. LDH

Die Laktatdehydrogenasekonzentration der Vollblutspende ändert sich während der ersten drei Lagerungswochen nicht, ab Tag 35 kommt es zu einer vermehrten Zunahme der LDH-Freisetzung ($p < 0.001$).

In der Multikomponentenspende kommt es ab dem ersten Lagerungstag zu einem langsamen Anstieg der LDH-Konzentration, der sich ab dem 35. Tag merklich verstärkt ($p < 0.001$).

Die LDH-Konzentration ist in der VBS stets kleiner als in der MKS (Tag 1-49: $p < 0.001$; Tag 63: $p < 0.003$).

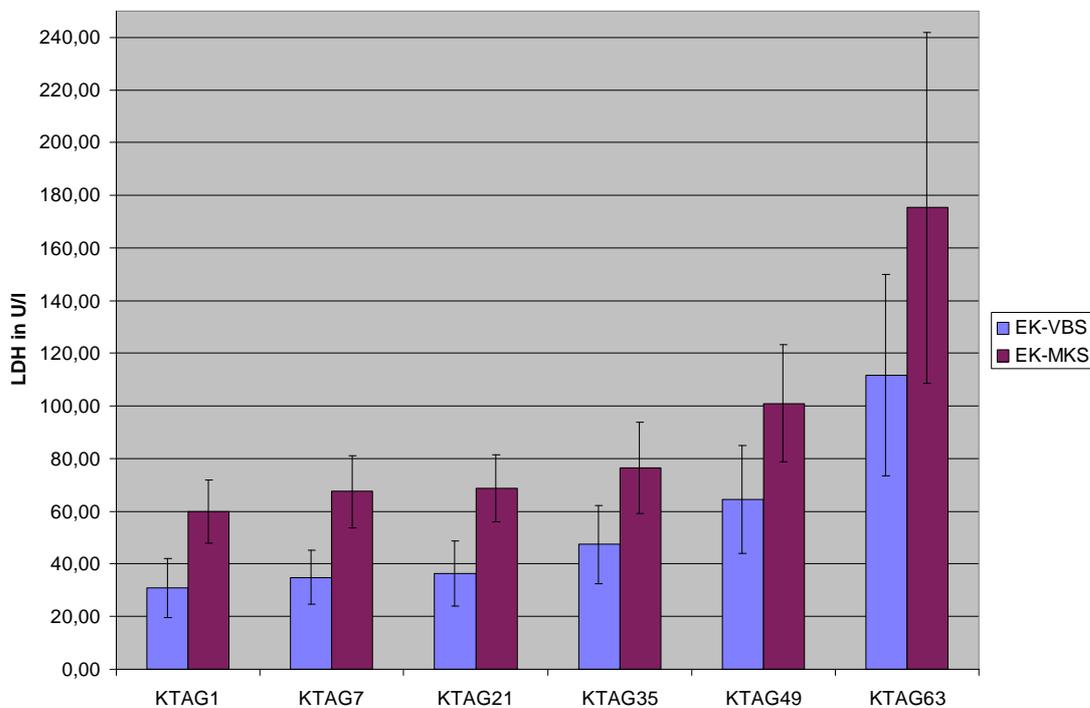


Abbildung 20 Verlauf der LDH in VBS und MKS über 63 Tage. LDH in U/l.

3.2.2.11. Eisen

Die extrazelluläre Eisenkonzentration steigt im Verlauf der Lagerung der Vollblutpräparate an. Vom ersten Tag bis zum 63. Tag erhöht sich der Eisenwert um

das 5fache. Dabei kommt es zu einem raschen Anstieg von Tag 1 bis Tag 35 ($p < 0.001$), welcher sich ab dem 35. Tag verlangsamt ($p = 0.009$). Zwischen Tag 49 und 63 stagniert die Eisenkonzentration nahezu ($p = 0.044$).

Die Werte der Multikomponentenspende steigen während des Lagerungszeitraumes ebenfalls kontinuierlich an. Der Eisenwert liegt am 63.Tag um das 4fache höher als der Ausgangswert.

Im Vergleich liegen die Eisenwerte der MKS an jedem untersuchten Tag signifikant höher ($p < 0.001$) als die der VBS, die Entwicklung der Werte verläuft parallel.

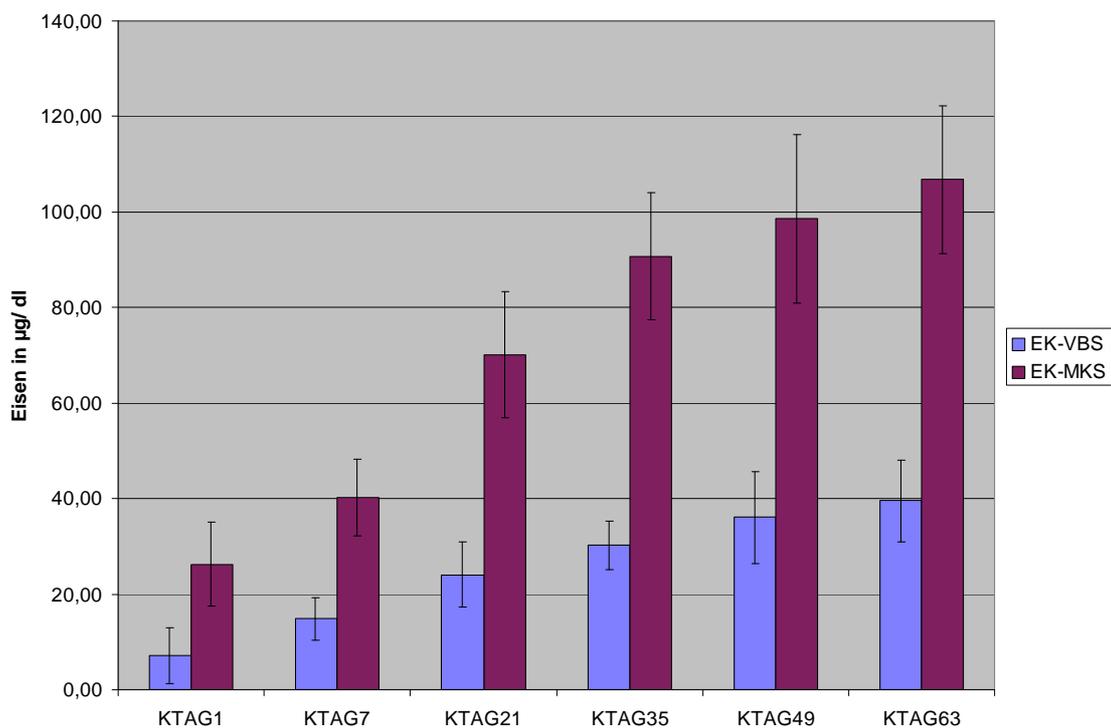


Abbildung 21 Verlauf des Eisens in VBS und MKS über 63 Tage. Eisen in $\mu\text{g/dl}$.

3.2.2.12. Hämolyserate

Die Hämolyserate steigt in beiden untersuchten Gruppen über den Lagerungszeitraum kontinuierlich an.

Nach einem initialen langsamen Anstieg der Hämolyserate ($p < 0.05$) in der VBS steigen die Werte ab Tag 35 rasch an ($p < 0.001$). Bis Tag 56 bleiben die gemessenen

Konzentrationen dabei unter dem definierten Schwellenwert von 0.8%. Im Laufe der letzten Lagerungswoche erhöht sich die Hämolyserate bis auf 1.01%.

In der MKS nimmt die Hämolyserate einen gleichsinnigen Verlauf. Am 56. Tag der Lagerung wird auch in dieser Gruppe der Schwellenwert von 0.8% überschritten (0.81%), die gemessene Endkonzentration beträgt 1.29%.

Ein Vergleich beider Kollektive zeigt im untersuchten Meßzeitraum von Tag 1 bis Tag 49 eine nahezu parallele Werteentwicklung. An Tag 63 kommt es erstmals zu einen signifikanten Gruppenunterschied ($p < 0.05$).

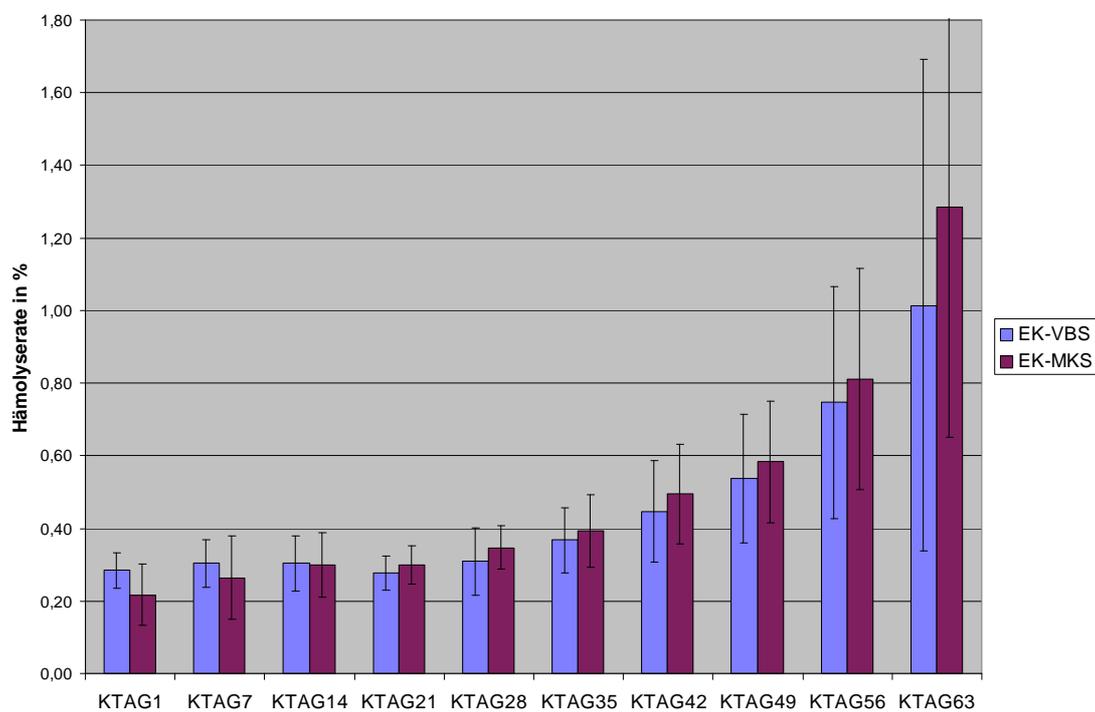


Abbildung 22 Verlauf der Hämolyserate in VBS und MKS über 63 Tage.

Hämolyserate in %.

3.2.3. Korrelationen

Vergleich des Zusammenhangs zwischen Glucoseverbrauch und Laktatproduktion

Korrelation Glucose-Laktat

		Tag 1	Tag 7	Tag 21	Tag 35	Tag 49	Tag 63
VBS	r=	nicht	+ 0,91	-0,42	-0,40	-0,71	-0,73
	p=	feststellbar	0,73	0,72	0,10	0,001***	0,001***
MKS	r=	nicht	-0,38	-0,40	-0,48	-0,78	-0,73
	p=	feststellbar	0,14	0,11	0,051	0,000***	0,001***

Korrelation 2,3-DPG-pH

		Tag 1	Tag 7	Tag 21	Tag 35	Tag 49	Tag 63
VBS	r=	+0,67	+0,42	-0,17	+0,20	+0,15	-0,67
	p=	0,002**	0,06	0,48	0,42	0,96	0,003**
MKS	r=	-0,82	-0,20	-0,11	+0,71	+0,77	-0,44
	p=	0,75	0,40	0,69	0,77	0,76	0,06

Korrelation ATP-pH

		Tag 1	Tag 7	Tag 21	Tag 35	Tag 49	Tag 63
VBS	r=	-0,31	-0,22	+0,58	-0,18	-0,31	-0,44
	p=	0,18	0,93	0,81	0,45	0,20	0,06*
MKS	r=	-0,16	-0,36	-0,12	-0,29	-0,71	-0,44
	p=	0,52	0,13	0,64	0,22	0,001***	0,06*

Korrelation Kalium-LDH

		Tag 1	Tag 7	Tag 21	Tag 35	Tag 49	Tag 63
VBS	r=	-0,25	+0,21	+0,40	+0,60	+0,61	+0,18
	p=	0,32	0,42	0,09	0,81	0,009**	0,50
MKS	r=	+0,27	+0,25	+0,15	+0,31	+0,18	-0,26
	p=	0,31	0,38	0,58	0,25	0,50	0,35

3.3. Sterilität

Alle 40 Präparate wurden am 63. Lagerungstag auf Sterilität untersucht und als steril befunden.

3.4. Ergebnisse der Laser Doppler Anemometrie

Zur Untersuchung des Einflusses der konventionellen Vollblutspende (VBS) auf die Mikrozirkulation des Spenders wird die Blutflußrate (BFR) an Einzelkapillaren der Fingerhaut mittels Kapillaranemometrie vor der Spende, sowie eine bzw. 24 Stunden nach der Spende bestimmt.

Eine Vollblutspende (Entnahmevolumen 500 ml, keine Substitutionslösung) erzeugt zu den untersuchten Meßzeitpunkten keine wesentlichen Veränderungen der Blutflußrate. Vor der Spende liegen die gemessenen Werte bei 0.72 mm/s. Eine Stunde nach der Spende kann eine Abnahme der Blutflußgeschwindigkeit außerhalb des Signifikanzniveaus auf 0.68 mm/s beobachtet werden. Bereits 24 Stunden nach der Spende ist das Ausgangsniveau wieder erreicht.

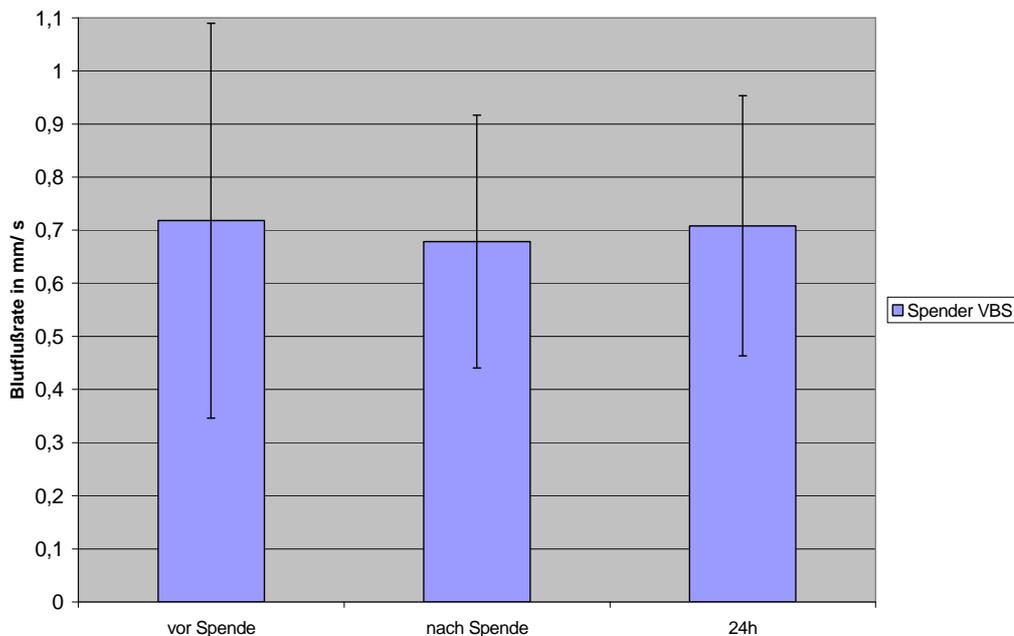


Abbildung 23 Verlauf der Blutflußrate der VBS vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Vollblutspende. Blutflußrate in mm/ s.

IV Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde vergleichend der Einfluß einer herkömmlichen Vollblutspende mit einer maschinell durchgeführten Multikomponentenspende im Hinblick auf die biochemische Qualität der gewonnenen Erythrozytenkonzentrate sowie auf die Mikrozirkulation des Spenders untersucht. Dabei wurden im ersten Teil die biochemischen Eigenschaften der gewonnenen Blutprodukte anhand ausgewählter Parameter untersucht. Im zweiten Teil wurden die Blutflußgeschwindigkeit und -Rate der Spender mittels Kapillarmikroskopie vor, eine Stunde nach sowie 24 Stunden nach der Spende ermittelt.

4.1. Spender

4.1.1. Pathophysiologie der Blutspende

Der Organismus des Menschen verfügt, je nach Körpergröße und -Gewicht, über ein Blutvolumen von fünf bis sieben Litern. Ein Volumenverlust von 400 – 500 ml in vier bis fünf Minuten, wie er während der Blutspende auftritt, kann im Normalfall ohne relevante Veränderungen des Blutdrucks und der Pulsfrequenz vom Körper toleriert werden. Der akute Volumenmangel wird durch einen erhöhten Gefäßtonus sowie die Bereitstellung von Blut aus dem venösen Kapazitätssystem kompensiert. Bei Versagen dieser Regulationsmechanismen bzw. übermäßigem Volumenverlust wird die ausreichende Versorgung des Organismus mit Sauerstoff über eine erhöhte Herzfrequenz und ein dadurch erhöhtes Herzminutenvolumen gesteuert. Ab einem Blutverlust von mehr als 15% des zirkulierenden Volumens ist das Herzminutenvolumen vermindert, es treten Kältegefühl und Atemnot auf. Gleichzeitig mit der Gefäßkonstriktion gelangt Flüssigkeit aus dem interstitiellen Raum in das Gefäßsystem zur Aufrechterhaltung der intravasalen Füllung. Der Volumenverlust durch eine Blutspende wird dabei bereits nach 24 Stunden durch Vermehrung des Plasmavolumens ausgeglichen. Die Kompensation eines Verlustes von einem Liter Blut benötigt dagegen mehr als drei Tage. Als Folge des Plasmazustroms kommt es nach der Spende zu einer veränderten Zusammensetzung des Spenderblutes⁴¹.

Die in dieser Studie erhobenen Vitalparameter vor, eine bzw. 24 Stunden nach der Spende zeigten die Kompensation des Volumenverlustes zu allen Meßzeitpunkten in

beiden Gruppen ohne eine nennenswerte Veränderung von Blutdruck und Puls. Der beobachtete leichte Abfall von Blutdruck und Puls eine Stunde nach der Spende in beiden Spendergruppen ist vermutlich auf die lange Ruhezeit von 90 min zurückzuführen. Der Abfall der gemessenen Vitalparameter könnte möglicherweise auch auf das Absinken der Katecholamine im Blutkreislauf nach erfolgter Spende zurückzuführen sein.

Die untersuchten Laborwerte zeigten deutlich den Hämodilutionseffekt der Spende. Die Parameter für die korpuskulären Blutbestandteile sanken entweder bereits eine Stunde nach der Spende (Erythrozytenzahl, Hämoglobin) oder zum nächsten Meßzeitpunkt 24 Stunden nach der Spende (Hämatokrit).

Der Einstrom interstitieller Flüssigkeit sowie der Verlust von Plasmaproteinen durch die Spende führt auch zu einer Dilution des Plasmas. Veränderungen in der Zusammensetzung des Plasmas werden exemplarisch durch seinen Albumin-, Gesamteiweiß- und Fibrinogengehalt angezeigt. Alle drei Parameter waren in den durchgeführten Messungen in beiden untersuchten Gruppen bereits eine Stunde nach der Spende erniedrigt und sanken bis zur Kontrolle nach 24 Stunden weiter ab. Im Durchschnitt betrug der Gesamteiweißverlust 8% und lag damit im Rahmen der in der Literatur beschriebenen Werte ⁴¹. Die Fibrinogen- und Albuminkonzentrationen im Spenderblut sanken in beiden Kollektiven, dem Hämodilutionseffekt folgend, bereits eine Stunde nach der Spende signifikant ab. Eine anhaltende, signifikante Abnahme der Werte konnte noch 24 Stunden nach der Spende beobachtet werden.

4.2. Präparate

In der vorliegenden Arbeit wurden die Erythrozytenkonzentrate aus einem Spenderkollektiv von 20 Probanden untersucht, die jeweils eine Multikomponentenspende und eine Vollblutspende im Abstand von 8-12 Wochen absolvierten. Die Erythrozytenkonzentrate unterschieden sich dabei nur durch das angewendete Spendeverfahren (automatisierte Multikomponentenspende oder konventionelle Vollblutspende).

Mittels anerkannter in vivo und in vitro Qualitätsparameter wurde im direkten Paarvergleich der Einfluß des Spendeverfahrens auf die Präparatequalität untersucht.

4.2.1. Diskussion der einzelnen biochemischen Einflußfaktoren

4.2.1.1. Glucose

Trotz der Reduktion des Stoffwechsels um das 40-fache durch die Lagerungstemperatur von 4° C ist ein Basisverbrauch der Präparate an Substrat und Energie vorhanden.

Die anaerobe Glykolyse stellt während der Lagerung die einzige Möglichkeit zur Energiegewinnung dar. Dabei entstehen unter Bildung energiereicher Phosphate Pyruvat und Laktat als Stoffwechselendprodukte.

15 % des Stoffwechsels laufen über einen Seitenweg der Glykolyse zur 2,3-DPG-Synthese.

Die Glucosekonzentrationen beider untersuchten Präparategruppen, MKS und VBS, wurden zu Beginn der Lagerung als 100 % definiert. Die Ergebnisse zeigten einen über den gesamten Lagerungszeitraum signifikanten Gruppenunterschied mit einem deutlich niedrigerem Glucosegehalt in den MKS-Präparaten. Nach 63 Tagen lagen die Konzentrationen der Glucose in der VBS bei 31 % des Ausgangswertes, was einem Verbrauch von 406 mg/dl entsprach. Die Werte der MKS betragen 7 % des Ausgangswertes, der Verbrauch lag somit bei 441 mg/dl.

Bis zum 28. Lagerungstag beobachteten Guppy et al. einen Glucoseverbrauch von 50 %, was sich in den in dieser Arbeit erzielten Ergebnissen ähnlich widerspiegelte ⁴². Der Verbrauch in den VBS-Präparaten lag bis zum 35. Tag geringfügig unter 50 %, der der MKS-Präparate deutlich darüber. Nach dem 35. Tag war die Abnahme der

Glucosekonzentration nicht mehr so steil. In der VBS sank sie bis Lagerungsende um ungefähr weitere 20 %, in der MKS war der Abfall vergleichbar.

Die Glykolyserate in den Erythrozyten wird durch mehrere Faktoren beeinflusst. Nach der Michaelis-Menten-Gleichung bestimmt das Substratangebot die Geschwindigkeit der Reaktionen der Glykolyse. Eine ausreichende Bereitstellung von Glucose als Substrat der Glykolyse sowie Adenin und anorganischem Phosphat zur Synthese von ATP war während der Lagerung durch die Nährlösung (PAGGS-M) jedoch garantiert und daher als Einflußfaktor zu vernachlässigen.

Die Umgebungstemperatur beeinflusst ebenfalls die Glykolyserate über die Reaktionsgeschwindigkeit enzymatischer Stoffwechselschritte. Auch dieser Einflußfaktor war vernachlässigbar zur Erklärung des unterschiedlichen Glucoseverbrauchs in den Präparatgruppen, da für beide gleiche Lagerungsbedingungen galten.

Eine weitere wichtige Größe ist der pH-Wert. Die Glykolyserate ist Untersuchungsergebnissen von Guppy et al. zufolge bei 4° C und ab einem pH-Wert von 7.8 am höchsten⁴². Demzufolge liegen die derzeitigen Lagerungsvoraussetzungen mit einem pH von 7.3 ± 0.2 um mindestens 0.5 Einheiten unter dem ermittelten Optimum. Für die Glykolyserate bedeutet eine Anhebung des pH um 0.3 Einheiten sowohl einen um das 1.5-2.0-fach gesteigerten Glucoseverbrauch als auch eine erhöhte Laktatentstehung. pH-abhängige Faktoren der Glykolyse sind die Bindung des Substrates an das Enzym zur Bildung der Reaktionseinheit Enzym-Substrat-Komplex. Die Enzyme selbst können bei extremen pH-Werten eine Veränderung ihrer Proteinstruktur erfahren und werden je nach pH-Optimum in ihrer katalytischen Aktivität beeinflusst. Die pH-Abhängigkeit enzymatischer Reaktionen spiegelt sich in ihrer glockenförmigen Wirkungskurve wider. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit wird dabei im Bereich des pH-Optimums der Enzyme erreicht, welches von pH 5.0 bis pH 9.0 reichen kann. Desweiteren gibt es in jeder katalysierten Reaktion eine Schrittmacherreaktion, die die Geschwindigkeit des Stoffwechselprozesses steuert⁴³. Bei 37° C und pH 7.4 ist der durch das Enzym Hexokinase katalysierte Stoffwechselschritt geschwindigkeitsbestimmend. Unter Lagerungsbedingungen, d.h. 4° C und pH 7.3, ist eine Verschiebung des limitierenden Katalyseschritts hin zu anderen Enzymen mit tieferem pH-Optimum anzunehmen⁴².

In der pH-Abhängigkeit der Glykolyse könnte eine mögliche Erklärung der unterschiedlichen Verbrauchsrate in MKS und VBS liegen. Der intrazelluläre pH war in

der MKS mit 7.3 bereits zu Lagerungsbeginn näher am pH-Optimum der Glykolyse (pH 7.8 bei 4° C) als der pH-Wert von 7.2 in der VBS. Das stärker alkalische Milieu erhöhte die Glykolyserate und dadurch den Glucoseverbrauch in den Präparaten.

Als weiterer Einflußfaktor auf den höheren Glucoseverbrauch in der MKS kommt das Spendeverfahren in Frage. Die automatisierte MKS zeichnet sich durch die dosierte Zugabe von Antikoagulanslösung zum Spenderblut aus. Diese Methode verhindert im Gegensatz zur konventionellen VBS einen Sammlungsschaden an den Zellen. Der Sammlungsschaden betrifft die ersten 200 ml der VBS, die aus dem Blutkreislauf mit pH 7.4 in ein sehr viel saureres Umgebungsmilieu (pH 6.0 des Antikoagulans) geraten und dadurch hämolysiert bzw. membrangeschädigt werden. Die Vermeidung des Sammlungsschadens resultiert demnach in einer höheren Anzahl vitaler Zellen in den MKS-Präparaten. Dies spiegelt sich nach Sicht einiger Autoren in der erhöhten Glykolyserate sowie dem höheren Glucoseverbrauch wider^{2, 26}.

Trotz der ausreichenden Bereitstellung von Glucose und den Bemühungen um Erhaltung eines optimalen Umgebungsmilieus konnte im weiteren Verlauf der Lagerung eine Akkumulation der organischen Säuren Pyruvat und Laktat in dem geschlossenen Beutelsystem mit kontinuierlichem pH-Abfall, eine Verarmung an organischen Phosphaten (ATP, 2,3-DPG) sowie eine Störung der Ionen-Homöostase nicht verhindert werden.

4.2.1.2. Laktat

Laktat entsteht im Erythrozyten als Stoffwechselendprodukt. Aus einem mol Glucose entstehen in der Glykolyse 2 mol Laktat, die Laktat/Glucose-Ratio liegt demnach bei 2.0. Da die Erythrozyten sich während der Lagerung in einem geschlossenen System befinden besteht keine Möglichkeit einer Elimination der Stoffwechselmetabolite, es kommt zur Akkumulation.

Der Laktattransport über die Erythrozytenmembran erfolgt über einen Laktat-H⁺-Symporter und ist sehr stark pH-abhängig⁴⁴. So sorgt ein alkalisches Umgebungsmilieu für einen verstärkten Laktatefflux aus der Zelle. Im Gegenzug bedingt ein sinkender pH im Medium einen Laktat influx in die Zelle.

Die Laktatproduktion in den Erythrozyten unterliegt ebenfalls dem Einfluß des pH-Wertes, in diesem Fall ist der intrazelluläre pH entscheidend. Eine Alkalose steigert die Glykolyserate und dadurch die Laktatproduktion. Diese steigt jedoch nicht im gleichen

Maße wie die Glucoseutilisation, da es zu einer Verschiebung innerhalb der Glykolyse hin zu einer vermehrten 2,3-DPG-Synthese kommt ⁴⁵. Die Alkalose hemmt die 2,3-DPG-Phosphatase und stimuliert die 1,3-Diphosphoglyceratmutase. Daraus resultiert eine verminderte Pyruvat- und nachfolgende Laktatproduktion. Eine Azidose induziert umgekehrt die Aktivierung der 2,3-DPG-Phosphatase und Hemmung der 1,3-Diphosphoglyceratmutase mit Abfall der 2,3-DPG-Konzentration und einer vermehrten Laktatproduktion. Ab einem pH-Wert von 7.0 und weniger ist die Laktatproduktion annähernd proportional zur Glykolyserate.

In der vorliegenden Meßreihe zeigte sich erwartungsgemäß eine für Laktat und Glucose signifikante, gegensinnige Korrelation. Der höhere Gehalt an Glucose in der MKS zu Beginn der Lagerung ermöglichte eine längere Aufrechterhaltung des erythrozytären Stoffwechsels und damit eine bessere Präparatequalität in den ersten 14 Tagen. Über den weiteren Zeitraum der Lagerung fiel im Beutelsystem der MKS zunehmend Laktat als Stoffwechselabbauprodukt an. Trotz des höheren Laktatgehalts in den MKS-Präparaten war deren Qualität in den späteren Kontrollen im Vergleich zu den untersuchten VBS-Präparaten nicht nennenswert gemindert.

4.2.1.3. 2,3-DPG

Für die Sauerstoffversorgung des Gewebes ist die Sauerstoffabgabefähigkeit der Erythrozyten mitentscheidend. Diese wird beeinflußt unter anderem wesentlich durch die 2,3-DPG -Konzentration beeinflußt ⁴⁵.

1954 entdeckten Valtis und Kennedy, daß ACD-stabilisiertes Blut nach einer längeren Lagerung eine signifikante Sauerstoffaffinitätszunahme aufweist ⁴⁶. 1967 konnten Chanutin und Curnish diesen Effekt dem 2,3-DPG zuweisen ⁴⁷.

2,3-DPG entsteht aus 1,3-DPG auf einem Seitenweg der Glykolyse. Als Katalysator dieser Reaktion dient die 1,3-Diphosphoglyceratmutase. Mittels 2,3-DPG-Phosphatase wird 2,3-DPG unter Verlust von anorganischem Phosphat zu 3-Phosphoglycerat abgebaut, welches wieder in die Glykolyse aufgenommen wird. Das 2,3-DPG wird in das Hämoglobinmolekül eingebunden und stabilisiert die Desoxykonfiguration des Hämoglobins. Daraus folgt eine Affinitätsabnahme von Sauerstoff für Hämoglobin und der Sauerstoff kann besser an das Gewebe abgegeben werden. Die Sauerstoffdissoziationskurve des Hämoglobins verschiebt sich nach rechts.

Über die 2,3-DPG-Konzentration im Erythrozyten kann auch eine pH-bedingte Verschiebung der Sauerstoffbindungskurve ausgeglichen werden. Eine Azidose bewirkt einen Abfall der 2,3-DPG-Konzentration über eine Aktivierung der 2,3-DPG-Phosphatase, der der pH-bedingten Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve entgegenwirkt. Eine Alkalose hemmt die 1,3-Diphosphoglyceratmutase und hat den umgekehrten Effekt.

Die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten bedeutet für den Organismus eine Zufuhr nicht voll funktionsfähiger Erythrozyten, da deren Lagerung zu einem Abfall der 2,3-DPG-Konzentration und daraus folgend zu einer Sauerstoffaffinitätszunahme der Erythrozyten führt. Zwar erreicht die 2,3-DPG-Konzentration nach 36-48 h wieder Normalwerte, jedoch ist eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Gewebe häufig sofort zu gewährleisten, so z. B. bei akutem, hohem Blutverlust oder bei einer eingeschränkten kardiovaskulären Leistungsbreite. Der Grad der 2,3-DPG-Verarmung der Erythrozyten ist abhängig von der Lagerungszeit, den Lagerungsbedingungen sowie der Qualität der Stabilisatoren.

Die Zugabe von Inosin zur Konservierungslösung führt zu einem erhöhten 2,3-DPG-Spiegel in den Präparaten ⁴⁸. Anorganisches Phosphat ist dabei ein weiteres Substrat, das zur Verfügung stehen muß. Wood und Beutler fanden 1973 in ihren Studien, daß durch periodische Durchmischung der Präparate während der Lagerung ebenfalls verbesserte Konzentrationen für 2,3-DPG, gleichzeitig auch für Glucose und ATP, erzielt werden konnten ⁴⁹. Durch das schwerkraftbedingte Absinken der Zellen in den gelagerten Blutbeuteln entsteht ein metabolischer Gradient zwischen oberen und unteren Zellschichten. Während die oberen Zellschichten ausreichend von Substrat umspült sind, verarmen die unteren Schichten sehr schnell daran. pH-, ATP- und 2,3-DPG-Spiegel fallen dadurch viel rascher ab als in den oberen Zellschichten. Dieser Gradient ist um so größer, je größer der Abstand zwischen oberer und unterer Zellschicht ist.

Die in dieser Studie gemessenen Werte der gelagerten VBS zeigten von Beginn an einen exponentiellen Abfall des 2,3-DPG, wobei sich dessen Konzentration zwischen Tag 1 und Tag 7 sowie zwischen Tag 7 und Tag 21 jeweils annähernd halbierte. Dieser Verlauf entspricht Ergebnissen früherer Untersuchungen ⁵⁰. Im Vergleich dazu lagen die 2,3-DPG-Werte der MKS von Lagerungsbeginn an deutlich über den Werten der VBS. Die Konzentrationen blieben über 7 Lagerungstage konstant. Erst zwischen dem 7. und dem 21. Lagerungstag kam es zu einer deutlichen Reduktion des 2,3-DPG-Spiegels.

Von diesem Tag an lagen die Werte nur noch geringfügig über denen der VBS. Zu Lagerungsende waren die Werte für beide Präparategruppen identisch. Der initial erhöhte 2,3-DPG-Gehalt und seine längere Aufrechterhaltung in der MKS sind vermutlich auf die ebenfalls initial erhöhten Werte für Glucose und intrazellulären pH und die dadurch bedingte erhöhte Metabolisierungsrate in der MKS zurückzuführen, ein signifikanter Zusammenhang konnte jedoch nicht festgestellt werden.

4.2.1.4. ATP

ATP spielt eine zentrale Rolle im Energiestoffwechsel der Erythrozyten. Wie Dern et al. 1967 zeigen konnten, korreliert der intrazelluläre ATP-Gehalt relativ gut mit der Überlebensfähigkeit der Erythrozyten nach Transfusion⁵¹. Eine ATP-Verarmung der Präparate resultiert in einer Änderung der Zellform von Discozyten über Echinozyten hin zu Sphärozyten⁵². Die verminderte osmotische Resistenz der Zellmembran begünstigt den Wassereinstrom in die Zelle, es resultiert eine Zellschwellung⁵³. Durch das entstandene ungünstigere Verhältnis von Oberfläche zu Volumen kommt es zu einer reduzierten Verformbarkeit der Zellen und damit einer schlechteren Fließfähigkeit.

Aus rheologischer Sicht stellen die roten Blutzellen eine visköse Flüssigkeit dar, die von einer viskoelastischen Membran umhüllt wird. Eine Erhöhung der Rigidität des Erythrozyten wird parallel zu seiner Formveränderung beobachtet. Die erhöhte Rigidität äußert sich in einer schlechteren Filtrierbarkeit der roten Zellen. Sowohl die erhöhte Viskosität als auch die verminderte Filtrierbarkeit bedingen ein Hängenbleiben der Erythrozyten in der Mikrozirkulation von Milz, Knochen und Lungen und eine verfrühte Elimination aus dem Blutkreislauf⁵⁴.

Der Erhalt von Zellform und die rheologischen Eigenschaften der Erythrozyten hängen entscheidend von der Viskoelastizität der Zellmembran ab. Unter Lagerungsbedingungen kommt es zu einem verstärkten Membranverlust in Form von Mikrovesikeln. Dies geht einher mit einem Absinken des ATP-Spiegels in der Zelle. Untersuchungen von Schrier et al. zeigten, daß dem ATP offenbar eine wesentliche Rolle bei der Phosphorylierung von Membranproteinen zukommt⁵⁵.

Die hier ermittelten Ergebnisse für VBS und MKS zeigten ab dem 42. Tag der Lagerung einen deutlichen Abfall der ATP-Konzentration unter $1,5 \mu\text{mol/g Hb}$, was von Dern et al. als Grenzwert angesehen wurde, bei dessen Unterschreiten die Lebensfähigkeit der Erythrozyten vermindert ist⁵¹. Die ATP-Konzentrationen stiegen

innerhalb der ersten 14 Tage sowohl in der VBS als auch in der MKS nur geringfügig an. Ab dem 21. Tag konnte ein kontinuierliches, steiles Absinken des ATP-Gehalts in den Präparaten beobachtet werden. Dabei lagen die ATP-Werte in der VBS im Vergleich zur MKS zu Beginn der Lagerung auf signifikant höherem Niveau (Tag 1 und Tag 7). Dieser Unterschied hob sich jedoch im weiteren Verlauf der Lagerung auf. Der initial an Tag 1 und 7 der Lagerung signifikant geringere ATP-Gehalt der MKS ist mit dem höheren pH-Wert in den Präparaten zu erklären. Bei erhöhtem pH läuft die Glykolyse vermehrt über den Seitenweg zur 2,3-DPG-Neusynthese. Eine verminderte Begehung der Phosphoglyceratkinase-Reaktion ist die Folge. In diesem Stoffwechselschritt wird 1,3-Diphosphoglycerat unter Gewinnung von 1 mol ATP in 3-Phosphoglycerat umgewandelt. Die Meßergebnisse bestätigten für die MKS sowohl eine verstärkte 2,3-DPG-Synthese zu Beginn der Spende als auch eine signifikante, negative Abhängigkeit zwischen der ATP-Konzentration und dem pH-Wert.

Die Ergebnisse von Lang ⁹ bestätigten die bekannte Korrelation einer ATP-Depletion mit einer Verminderung der Verformbarkeit roter Zellen. Es wurde eine Zunahme der viskosen Viskosität η' bei hohen Schergeschwindigkeiten (OCRD $\eta' 150 \text{ s}^{-1}$) über die Dauer der Lagerung beschrieben. Dabei kam es zu keinem Zeitpunkt zu einem signifikanten Unterschied zwischen beiden Kollektiven. Desweiteren konnte eine Abnahme der initialen Filtrationsrate (calc rFR(0)) sowie der Erythrozytenaggregabilität (Myrenne M1) festgestellt werden. Signifikante Gruppenunterschiede bestanden zu keinem Zeitpunkt.

Dern et al. vermuteten in ihren Studien, daß die Dauer der Lagerung und die unter Lagerungsbedingungen schnellere Alterung der Erythrozyten eine entscheidende Rolle für die Qualität der Erythrozyten spielen ⁵¹. Der ATP-Gehalt der Erythrozyten ist dabei sicherlich ein wichtiger in-vitro Parameter zur Beurteilung der in-vivo-Überlebenswahrscheinlichkeit transfundierter Zellen. Der Einfluß der Additivlösung auf die ATP-Spiegel ist hinreichend untersucht, wobei PAGGS-M die besten Ergebnisse zur Aufrechterhaltung des ATP-Gehalts aufwies und heutzutage am häufigsten verwendet wird ⁵⁶.

4.2.1.5. pH-Wert

Der pH-Wert ist ein Maß für die H^+ -Ionenkonzentration im Organismus und beträgt unter physiologischen Bedingungen 7.4. Die Konstanterhaltung des pH-Wertes ist

essentiell für die Erhaltung der Molekülform der Proteine und die optimale Wirksamkeit der Enzyme im Stoffwechsel. Alle Enzyme katalysieren ihre spezifischen Reaktionen nur in einem geringen pH-Wertebereich mit einem individuellen pH-Optimum. Eine Änderung des pH-Wertes resultiert in einer Verlangsamung der Reaktion und demzufolge einer Störung des Stoffwechsels.

Für die Konstanterhaltung des pH-Wertes im Organismus sorgen verschiedene Puffersysteme. Ein wichtiger Puffer des Blutes und der Interstitiumflüssigkeit ist der Bicarbonat-Kohlendioxid-Puffer. Die Bedeutung dieses Puffersystems liegt nicht nur in der Abpufferung von H^+ -Ionen, die Pufferkomponenten können auch unabhängig voneinander verändert werden. So wird CO_2 über die Lungen abgeatmet, Bicarbonat in der Leber verstoffwechselt und über die Niere in Form von NH_4^+ und $H_2PO_4^-$ ausgeschieden. Pufferwirkung haben außerdem die Plasmaproteine und anorganische Phosphate. Wichtige intraerythrozytäre Puffer sind neben dem Bikarbonatpuffer das Hämoglobin und organische Phosphate. Die beschriebenen Sachverhalte gelten für die Physiologie des Organismus⁵⁷.

Die Lagerung der Erythrozyten erfolgt zumeist als Erythrozytenkonzentrate in Additivlösungen. Die plasmatischen Puffersysteme fehlen infolge der Abzentrifugation des Plasmas. Diesem Verlust wird versucht durch Zugabe von Citrat und Phosphat in der Nährlösung entgegenzuwirken. Dabei wird bewußt ein pH-Wert der Lösungen eingestellt, welcher für das Präparat einen Gesamtwert von pH 6.8 erwarten läßt (Optimum der Glykolyse bei 4° C). Die Entwicklung des pH-Wertes über die Lagerungsdauer zeigt, daß trotz dieser Zugabe eine Abnahme des pH-Wertes nicht verhindert werden kann.

Da die Lagerung in einem geschlossenen Beutelsystem erfolgt, ist eine Abgabe der anfallenden sauren Metaboliten aus dem System nur begrenzt möglich. CO_2 kann über die Beuteloberfläche abgegeben werden, jedoch kommt es über die Zeit zu einer Häufung der Stoffwechselendprodukte. Dies resultiert in einem pH-Abfall in den Präparaten, der die Stoffwechselprozesse in den Erythrozyten beeinflusst.

Die Glykolyserate ist bei 37° C und einem pH-Wert von 7.4 am höchsten, da das geschwindigkeitsbestimmende Enzym, die Hexokinase, in diesem Bereich ihr pH-Optimum und somit die höchste katalytische Aktivität besitzt. Da sowohl die Substratumsetzungsgeschwindigkeit als auch die Bildung des Enzym-Substrat-Komplexes pH-abhängig sind, bestimmen unter Lagerungsbedingungen bei 4° C andere Enzyme in der Reaktionskette die Geschwindigkeit der Glykolyse. Das pH-Optimum

verschiebt sich in den alkalischen Bereich und liegt bei 7,8, wobei das geschwindigkeitsbestimmende Enzym nicht sicher identifiziert werden kann⁴².

Neben dem pH-Wert wird die Katalyse zusätzlich durch die Umgebungstemperatur beeinflusst.

Die in dieser Arbeit erzielten Werte für den intrazellulären pH bestätigten die bereits beschriebenen Stoffwechselinteraktionen. Bei einem über 21 Lagerungstage höheren pH_i -Wert in der MKS gegenüber der VBS kam es aufgrund der relativen Nähe zum pH-Optimum der Glykolyse zu einem höheren Glucoseverbrauch, einer erhöhten Laktatproduktion, stabileren 2,3-DPG-Werten und niedrigerem ATP-Gehalt in den Präparaten. Zu allen folgenden Meßzeitpunkten glichen sich die pH-Werte von MKS und VBS mehr und mehr an, was sich auch im Verlauf der genannten biochemischen Parameter widerspiegelte.

Wie biochemische Untersuchungen nach Massivtransfusionen zeigten, treten schwere Azidosen unabhängig von der Anzahl transfundierter Präparate auf⁵⁸. Als Ursache der Azidosen wird vielmehr der persistierende Schock nach Polytrauma angesehen. Von einer Pufferung der Präparate vor Transfusion sollte daher abgesehen werden, zumal diese den Nachteil der Linksverschiebung der Sauerstoffbindungskurve mit sich bringt. Desweiteren ist nach einer Massivtransfusion ohnehin mit einer Alkalisierung des Organismus zu rechnen, da als Abbauprodukt der organischen Säuren (Pyruvat und Laktat) Bikarbonat gebildet wird.

4.2.1.6. Partialdrücke von Sauerstoff und Kohlendioxid, Sauerstoffsättigung

Der Gasaustausch von lebensnotwendigem Sauerstoff (O_2) und von Kohlendioxid (CO_2), dem Endprodukt des Energiestoffwechsels, findet in der Lunge statt. Das im Organismus entstandene CO_2 wird vom Gewebe ins Blut abgegeben und zum größten Teil im Erythrozyten chemisch an das Hämoglobinmolekül gebunden. Diese chemische Bindung setzt H^+ -Ionen frei, die von den intraerythrozytären Puffern abgefangen werden. Das so mit CO_2 angereicherte Blut hat einen Partialdruck (pCO_2) von 47 mmHg. Es wird als venöses Blut in die Lungenkapillaren transportiert und dort mit O_2 „arterialisiert“, wobei CO_2 , dem geringeren pCO_2 folgend, in die Alveolen diffundiert. Im arteriellen Blut beträgt der pCO_2 40 mmHg.

O_2 als Gegenpart dieses Austauschs wird im Blut an die Häm-Gruppen des Hämoglobins gebunden. Ein Mol Hämoglobin bindet bei voller Sauerstoffsättigung 4

mol O₂. Der pO₂ im arteriellen Blut beträgt 95 mmHg bei einer Sauerstoffsättigung von 97 %. Für venöses Blut liegt der pO₂ bei 40 mmHg, die O₂-Sättigung bei 73 %. Die zur Verfügung stehende Menge an Hämoglobin als Trägermolekül für den Sauerstofftransport in das Gewebe ist entscheidend zur Aufrechterhaltung des Energiestoffwechsels.

Die ausreichende Abgabe des Sauerstoffs vor Ort an das Gewebe spielt eine weitere wichtige Rolle. Dieser Mechanismus wird durch die Sauerstoffbindungskurve dargestellt. Der pO₂ wird dabei gegen den Anteil des mit O₂ gesättigten Hämoglobins aufgetragen. Der sigmoidale Kurvenverlauf beschreibt bei steigender Sättigung eine Affinitätszunahme des Hämoglobins für Sauerstoff. Mit sinkendem pO₂ nimmt die Affinität des Hb für O₂ deutlich ab und Sauerstoff wird leichter an das Gewebe abgegeben. Änderungen der Sauerstoffaffinität beeinflussen die Sauerstoffdissoziationskurve und äußern sich in Verschiebungen der Bindungskurve nach rechts oder links. Als Einflußfaktoren auf die Position der Sauerstoffbindungskurve sind die H⁺-Ionen-Konzentration, der Partialdruck von CO₂, die Temperatur sowie die Konzentration organischer Phosphate im System zu nennen⁵⁷.

Da der Organismus ein biologisch „offenes System“ ist, laufen die Gasaustauschprozesse in Lunge und Gewebe unter ständigem Austausch von Energie und Stoffen zwischen Organismus und Umgebung ab. Für gelagerte Erythrozyten ist die Aufrechterhaltung dieses Stoffwechsel-Gleichgewichts erschwert, da sie sich in einem geschlossenen System befinden, in dem dieser Austausch größtenteils unterbunden ist. Die in den ersten Jahren der Lagerung von Blutkonserven verwendeten Glasflaschen riegelten das gespendete Blut hermetisch von der Umgebung ab, ein Gasaustausch mit der Außenluft war nicht möglich und die Stoffwechselmetabolite akkumulierten im System⁵⁹. Die in den letzten Jahren zum Einsatz gekommenen gasdurchlässigen Plastikbeutel hingegen erlauben den Austausch von Gaspartikeln über ihre Oberfläche, abhängig von der Gasdurchlässigkeit des verwendeten Materials. Aufgrund der deutlich eingeschränkten Abgabe von Stoffwechselendprodukten und daraus resultierenden Veränderungen des Umgebungsmilieus wirken die oben genannten Faktoren im geschlossenen System stärker auf die Sauerstoffbindungskurve ein. Von besonderer Bedeutung ist hierbei das rasche Absinken des pH-Wertes. Die Azidose bewirkt zusammen mit einem Anstieg des pCO₂ und der Temperatur eine Rechtsverschiebung der O₂-Bindungskurve und demzufolge eine vermehrte Abgabe von O₂ an das Gewebe.

Im umgekehrten Fall bewirken ein pH-Anstieg, ein Absinken des $p\text{CO}_2$ sowie ein Temperaturabfall eine Linksverschiebung der O_2 -Bindungskurve und eine verminderte Abgabe von O_2 . Über die Konzentrationsänderungen von 2,3-DPG wird dabei im Erythrozyten den pH- und temperaturbedingten Verschiebungen der O_2 -Bindungskurve entgegengewirkt.

Die $p\text{O}_2$ -Werte in dieser Arbeit lagen nach fünf Wochen Lagerungsdauer deutlich oberhalb des normalerweise im arteriellen Blut herrschenden Partialdruckes. Der Grund hierfür liegt in der Durchführung der Blutgasanalyse bei 37°C . Die Erwärmung der Erythrozytensuspension von 4°C auf 37°C führt aufgrund der geringeren Löslichkeit von Sauerstoff bei höheren Temperaturen zu einer Freisetzung von O_2 und einem O_2 -Partialdruck, der mit 273.2 mmHg (MKS) bzw. 276.5 mmHg (VBS) höher liegt als der $p\text{O}_2$ der Außenluft von 158.8 mmHg bei 21°C . Im geschlossenen System bewirken der im Verlauf der Lagerung ansteigende $p\text{CO}_2$, die sinkende 2,3-DPG-Konzentration sowie das vermehrte Sauerstoffangebot durch Gasaustausch mit der Umgebungsluft eine Affinitätssteigerung des Hämoglobins für Sauerstoff⁴⁵. Da in den untersuchten Blutkonserven eine Abgabe des Sauerstoffs an die Umgebung durch die fehlende Zirkulation des Blutes in einem offenen System nicht erfolgen konnte, stiegen sowohl die Sauerstoffsättigung (100 % an Tag 49) als auch der $p\text{O}_2$ über die Lagerungsdauer.

Die Ausgangswerte für $p\text{CO}_2$ lagen in der VBS bei 69.3 mmHg, in der MKS bei 61.4 mmHg. Ein Anstieg des $p\text{CO}_2$ in den ersten 3 Wochen konnte in beiden Gruppen beobachtet werden. Nach 21 Lagerungstagen sank der $p\text{CO}_2$ beständig unter den Ausgangswert auf 25.5 mmHg in der VBS und 27.2 mmHg in der MKS. Im Verlauf der Lagerung bestand ein signifikanter Gruppenunterschied über sieben Wochen, bedingt durch einen niedrigeren Ausgangswert in der MKS, den Anstieg auf ein höheres Niveau an Tag 21 und einen dementsprechend steileren Kurvenabfall. Die Entwicklung der $p\text{CO}_2$ -Werte in der MKS von einem initial im Vergleich zur VBS geringeren $p\text{CO}_2$ hin zu einem signifikant höheren $p\text{CO}_2$ ab Tag 21 sowie der Anstieg in der VBS bis Tag 21 lassen sich mit den von Högman et al. gefundenen Ergebnissen erklären⁵⁹. Demzufolge überwiegt die CO_2 -Produktion über den Pentosephosphatweg gegenüber der CO_2 -Abgabe über die Beuteloberfläche. Der hohe Stoffwechselumsatz in der MKS (begünstigt durch den initial hohen pH-Wert) erklärt den steilen Anstieg des $p\text{CO}_2$. In den letzten beiden Wochen der Lagerung beschrieben Högman et al. ein Absinken des CO_2 -Wertes unter das Ausgangsniveau, was sich in gleichem Maße in den in dieser Arbeit erzielten Ergebnissen wiederfand. Der Austausch zwischen Beutelinhalt und

Umgebungsluft vollzog sich dabei für CO₂ langsamer als für O₂, da das Beutelmateriale für O₂ besser permeabel ist als für CO₂.

4.2.2. Hämolyseparameter

Das Ausmaß der Erythrozytenschädigung während der Lagerung wird unter anderem anhand des Nachweises von Stoffen, die unter physiologischen Bedingungen nur intraerythrozytär vorkommen, geführt. Das Zugrundegehen der roten Zellen führt zur Freisetzung von Kalium, Laktatdehydrogenase (LDH) und Hämoglobin sowie deren extrazelluläre Anreicherung im Beutelsystem. Durch den fehlenden Abtransport dieser Substanzen spiegelt die Akkumulation das Ausmaß der Zellhämolyse wider. Ein weiterer Parameter zur Erfassung des Grades des Zelluntergangs ist die Konzentration von freiem Eisen. Die einzige Eisenquelle in den Präparaten ist das intrazellulär an Hämoglobin gebundene Eisen. Der Verlauf der Zellhämolyse kann daher anhand des Anstiegs von freiem Eisen verfolgt werden.

4.2.2.1. Kalium

Das Kalium ist ein überwiegend intrazelluläres Ion, dem wegen seiner Beteiligung an allen elektrophysiologischen Vorgängen in der Zelle eine besondere Bedeutung zukommt. Die intrazelluläre K⁺-Konzentration beträgt 100 mmol/l, die Plasmakonzentration liegt bei 3.4-5.2 mmol/l. Entlang des Konzentrationsgefälles diffundiert K⁺ stets passiv aus der Zelle in den Extrazellularraum. Zur Aufrechterhaltung des Konzentrationsgradienten wird es über die Na⁺/K⁺-ATPase aktiv wieder nach intrazellulär gepumpt⁵⁷. Der kontinuierliche K⁺-Efflux aus den Zellen gelagerter Erythrozytenkonzentrate ist zum einen bedingt durch die direkte Freisetzung von K⁺ aus hämolysierten Erythrozyten und zum anderen durch die Erlahmung der Na⁺/K⁺-ATPase unter Lagerungsbedingungen⁶⁰. Das Nachlassen der Enzymaktivität wird dabei nur unwesentlich vom ATP-Gehalt der Präparate beeinflusst; der limitierende Faktor ist vielmehr die Temperaturabhängigkeit der ATPase. Die Aktivität der Ionenpumpe ist bei 4° C deutlich eingeschränkt, es findet kaum ein aktiver Na⁺/K⁺-Austausch über die Membran statt. Die Konzentrationsgradienten der beiden Ionen bedingen den beständigen Austritt von K⁺ aus der Zelle und den Eintritt von Na⁺ in die Zelle. Bei Erwärmung der Präparate ist dieser Aktivitätsverlust der Na⁺/K⁺-ATPase voll

reversibel. Der Wiederaufbau der Ionenkonzentrationsgradienten nach Transfusion beträgt für Na^+ 24 Stunden während das K^+ -Verhältnis intra- zu extrazellulär erst nach 7 Tagen wiederhergestellt ist. Der Gehalt an extrazellulärem K^+ in den Präparaten und nach Transfusion ist von entscheidender Bedeutung, da eine Erhöhung des K_{ex}^+ -Spiegels zu einer Destabilisierung des Membranpotentials führt. Am Herzen können daraus lebensgefährliche Extrasystolien resultieren. Studien zufolge wird nach Massivtransfusion jedoch eher eine Hypokaliämie beobachtet, da sofort mehrere Kompensationsmechanismen in Kraft treten⁶¹. Die Ionenpumpen im Erythrozyten beginnen nach Erwärmung auf 37°C erneut mit dem aktiven Transport von K^+ nach intrazellulär. Desweiteren trägt eine Alkalisierung des Organismus durch den Citratmetabolismus zur Einschleusung des K^+ in die Zellen bei.

Die extrazellulären K^+ -Werte in dieser Studie zeigten über den gesamten Verlauf der Lagerung einen stetigen Anstieg in beiden Gruppen. Dieser Anstieg findet seine Ursache zum einen in der gleichmäßigen Diffusion von Kalium aus der Zelle entlang des Konzentrationsgefälles. Die verminderte Aktivität der Na^+/K^+ -ATPase bei niedrigen Temperaturen kann diesen Ausstrom nicht mehr ausreichend kompensieren. Zum anderen bewirkt die zunehmende Verarmung der Präparate an energiereichen Substraten sowie die Anhäufung metabolischer Stoffwechselprodukte im Beutelsystem eine Abnahme der Stoffwechselleistung der roten Zellen.

Die über 35 Tage der Lagerung signifikanten Gruppenunterschiede (MKS 6.3 mmol/ l, VBS 3.6 mmol/ l) sind vermutlich auf den initial erhöhten pH_{ex} -Wert in der VBS zurückzuführen. Da die Erythrozyten den intrazellulär herrschenden pH-Wert im physiologischen Bereich zu halten bestrebt sind, kam es zu Lagerungsanfang zu einem vermehrten Transport von Kalium in die Zelle und im Gegenpart zu einer Ausschleusung von H^+ -Ionen aus der Zelle. Dadurch sank die gemessene K_{ex} -Konzentration in der VBS. Im Verlauf der Lagerung glichen sich die Werte für das extrazelluläre Kalium durch die zunehmende Erlahmung der Na^+/K^+ -ATPase wieder an.

4.2.2.2. LDH (Laktatdehydrogenase)

Die LDH-Konzentrationen in VBS und MKS wiesen über den gesamten Lagerungszeitraum einen signifikanten Gruppenunterschied auf. Die LDH-Werte in den MKS-Präparaten waren initial bereits höher als in der VBS und blieben über die gesamte Lagerung auf einem unverändert höherem Niveau. Die gemessenen Ergebnisse

stehen im Widerspruch zu den bislang zusammengetragenen Resultaten, die zumindest initial eine bessere Qualität der MKS-Präparate zeigten. Eine höhere LDH-Konzentration und damit eine höhere Hämolyserate würde allerdings auf eine schlechtere Stoffwechsellistung der Erythrozyten bereits zu Beginn der Lagerung hinweisen.

In der Studie von Mansouri wurde nachgewiesen, daß die Filtration von Vollblut im Vergleich zur Filtration von Erythrozytenkonzentrat eine schonendere Methode der Präparategewinnung darstellt ⁶². Beim Erythrozytenkonzentrat wurden vermehrt ältere Erythrozyten durch die Filtration lysiert, was sich in den höheren Hämolyseparametern im Präparat widerspiegelte.

Vergleicht man die verwendeten Spendeverfahren, so zeigte sich bereits in früheren Studien, daß der geringere Sammlungsschaden während der Spende in den Präparaten der MKS im Vergleich zur VBS eine verbesserte Erhaltung des Stoffwechsels ermöglicht ². Demzufolge sind die Hämolyseparameter als Indikator für eine Schädigung der Erythrozyten in MKS-Präparaten niedriger als in den herkömmlich gewonnenen Präparaten. Entgegen dieser Ergebnisse waren die Hämolyseparameter in dieser Arbeit zu jedem Meßzeitpunkt in der MKS deutlich höher als in der VBS. Eine ursächliche Klärung dieser Konstellation war mittels der untersuchten Parameter nicht möglich.

Interessant ist, daß die LDH-Konzentration sich in den ersten drei Lagerungswochen im Vergleich zum Ausgangswert in beiden Gruppen nicht veränderte. Dieser Qualitätserhalt der Erythrozyten über drei Wochen zeichnete sich als Trend bereits bei den in diesem Zeitraum nur langsam ansteigenden K^+ -Werten ab.

Die Zunahme der LDH-Konzentrationen ab Tag 35 zeigte die ab diesem Zeitpunkt zunehmende Schädigung der gelagerten Erythrozyten.

4.2.2.3. Eisen

Der Eisenbestand des Organismus gliedert sich in Hämeisen (70%), Speichereisen (18%), Funktionseisen (12%) und Transporteisen (0.1%). Eisen wird intrazellulär in Form von Ferritin oder Hämosiderin gebunden, der Transport erfolgt über den Transferrin-Eisen-Komplex. Das Funktionseisen findet sich im Myoglobin und in eisenhaltigen Enzymen. Der größte Teil des Körpereisens findet sich im Hämoglobin gebunden. 1 g Hämoglobin enthält 3.4 mg Eisen. Die Konzentration an freiem Eisen in

den Präparaten ist ein Indikator für das Ausmaß der Zellschädigung über die Lagerungszeit, da das Hämeisen durch die Abzentrifugation von Plasma und Plasmaproteinen die einzige Quelle für Eisen im Beutelsystem darstellt. Weitere Bedeutung kommt dem Eisen bei der Entstehung freier Radikale zu. Die Radikale reagieren mit den mehrkettigen ungesättigten Fettsäuren der Zellmembran, was als Lipidoxidation bezeichnet wird ⁶³. Die Lipidoxidation spielt eine entscheidende Rolle bei der Zelldegeneration und führt zu einem verfrühten Zelltod. Der Verlust ungesättigter Fettsäuren führt zu einer erhöhten Membranrigidität, einer Reduktion des Membranpotentials, erhöhter Permeabilität für Ionen und schließlich zur Membranruptur ⁶⁴. Im geschlossenen Entnahmesystem wird dieser Zelluntergang noch verstärkt durch die vermehrte Exposition der roten Zellen mit Sauerstoff und die fehlende Regenerationsmöglichkeit zerstörter Zellstrukturen durch den fehlenden Stoffaustausch.

Die in dieser Arbeit ermittelten Konzentrationen an freiem Eisen lagen für die MKS in jeder untersuchten Lagerungswoche signifikant über den Werten der VBS. Die Endwerte betragen in der VBS 39.5 µg/ dl und 106.8 µg/ dl in der MKS. Als Indikatoren für die verbesserte Produktequalität der MKS aufgrund des geringeren Sammlungsschadens während der Spende werden von anderen Autoren insbesondere die niedrigeren Hämolyseparameter angeführt ^{2, 26, 32}. Dieses traf im untersuchten Fall allenfalls (statistisch nicht signifikant), und beschränkt auf die ersten beiden Wochen der Lagerung, für das freie Hb zu. Dagegen waren für die LDH-Konzentration sowie für das freie Eisen von Anfang an bei den MKS-Präparaten hochsignifikant höhere Spiegel zu verzeichnen. Die Ursache für diese Werteentwicklung in den Apheresepräparaten bleibt unklar.

4.2.2.4. Mikrovesikel, freies Hämoglobin (Hb) und Hämolyserate

Zur genaueren Quantifizierung des Ausmaßes der direkten Zellschädigung bzw. einer verminderten Überlebensfähigkeit der Zellen durch Membranschäden wird der Gehalt an freiem Hämoglobin im Entnahmesystem gemessen. Hämoglobin wird zum einen aus lysierten Erythrozyten freigesetzt, zum anderen kommt es zu einem Substanzverlust an der Erythrozytenmembran. Membranbestandteile werden in Form von Mikrovesikeln abgeschieden, welche ebenfalls freies Hämoglobin enthalten ⁶⁵. Die Mikrovesikelbildung in gelagerten Erythrozyten geht einher mit dem Verlust von ATP und ist

demzufolge ein Indikator für die zunehmende Funktionsbeeinträchtigung und verminderte Überlebensfähigkeit der Zellen. 70% des freien Hämoglobins im Beutelsystem ist in den Mikrovesikeln gebunden, nur knapp 30% sind durch Zellhämolysen bedingt⁶⁶. Dieser Vorgang der Membranvesikulation tritt nicht nur unter Lagerungsbedingungen *in vitro* auf, sondern wird von Dumaswala et al. auch *in vivo* nachgewiesen⁶⁷. Die verlorene Membransubstanz der roten Zellen verursacht eine Veränderung der Zellform von bikonkav hin zu sphärozytisch. Die verringerte Verformbarkeit der sphärozytischen Erythrozyten beeinflusst die Fließfähigkeit der Zellen und führt zu ihrer frühzeitigen Entfernung aus der Zirkulation durch das retikuloendotheliale System der Milz. Auch die Mikrovesikel, welche ebenfalls potentiell die Mikrozirkulation beeinträchtigen, werden in der Milz aus der Zirkulation gefiltert⁶⁸.

Das Ausmaß der Zellhämolysen in den Präparaten über den untersuchten Lagerungszeitraum wird über die Berechnung der Hämolyserate dargestellt. Die Hämolyserate ist definiert als Qualitätsmarker der Erythrozyten am Ende der Lagerung und soll 0.8 % der Erythrozytenmasse nicht übersteigen⁶⁹.

Die in dieser Studie untersuchten Konzentrationen des freien Hbs stiegen in beiden Gruppen bis Tag 35 der Lagerung nur mäßig an. Danach kam es zu einem steilen Anstieg auf einen Endwert von 191.5 mg/ dl in der VBS und 209.8 mg/ dl in der MKS. Ein signifikanter Gruppenunterschied bestand nur am ersten Tag der Lagerung. Die Ausgangskonzentration an freiem Hb war in der VBS mit 43.8 mg/ dl signifikant höher als in der MKS mit 32.8 mg/ dl. Erklärt wird dieser höhere Gehalt an freiem Hb mit der durch den Sammlungsschaden während der Spende in der VBS verstärkt auftretenden Hämolysen der Zellen. Die schnelle Angleichung der Werte im weiteren Verlauf der Lagerung ist auf die vermehrte Mikrovesikulation in der MKS zurückzuführen. Die ATP-Depletion der Zellen sowie die vor Beginn der Lagerung niedrigere ATP-Konzentration begünstigte die Entstehung von Membranvesikeln in der MKS⁵⁵.

In den Korrelationsrechnungen spiegelte sich der Zusammenhang zwischen ATP-Depletion und Mikrovesikelbildung in den Präparaten in einer signifikanten, gegensinnigen Korrelation wider.

Die Hämolyserate stieg in beiden Gruppen über den Lagerungszeitraum kontinuierlich an. An Tag 56 wurde dabei der definierte Schwellenwert von 0.8 % in der MKS (0.81 %) überschritten, in der VBS lag der gemessene Wert mit 0.75 % noch knapp darunter. Die Hämolyserate bestätigte damit die gute Produktequalität in den ersten Wochen der Lagerung. Im weiteren Verlauf stieg sie bis zu einem Endwert von 1.01 % in der VBS

und 1.29 % in der MKS. Ein signifikanter Gruppenunterschied konnte zu keinem Meßzeitpunkt festgestellt werden. Eine im Vergleich zur VBS deutlich erhöhte Hämolyserate als mögliche Ursache der erstmals gemessenen hohen Werte für LDH, Eisen und freies Hämoglobin in der MKS konnte nicht festgestellt werden. Somit findet sich nach wie vor keine ausreichende Erklärung für diesen Tatbestand.

4.2.3. Zusammenfassung

Die biochemischen Eigenschaften gelagerter Erythrozyten werden von vielen Einzelfaktoren beeinflusst. Die vielschichtigen Interaktionen zwischen diesen Einflußgrößen erschweren die Interpretation der gemessenen Ergebnisse. Die Rolle einzelner Meßparameter bei den stattfindenden metabolischen Umwandlungsprozessen ist daher schwer zu beurteilen und in der Zusammenschau sicherlich komplexer als dargestellt.

Die Qualitätserhaltung gelagerter Erythrozyten wird vor allem durch ein ausreichendes Substratangebot in der Nährlösung und die Aufrechterhaltung eines hohen intrazellulären pH-Wertes gewährleistet. Ein Vergleich beider Präparategruppen in den ersten drei Lagerungswochen hinsichtlich der Veränderungen der Zellmorphologie und der Verschlechterung der funktionellen Integrität der roten Zellen zeigte eine geringfügig bessere Qualität der Apheresepräparate.

Der initial höhere intrazelluläre pH in der MKS verbesserte die Stoffwechselleistung in den Zellen und erhöhte die Glykolyserate. Demzufolge sank der Glucosegehalt der Präparate in den ersten drei Wochen schneller als in der VBS. Gleichzeitig konnte der 2,3-DPG-Gehalt in der MKS durch die vermehrte Produktion im Stoffwechsel und den günstigen pH-Wert aufrecht erhalten werden. Dies ist entscheidend für die Gewährleistung eines ausreichenden Sauerstofftransportes im Organismus. Die 2,3-DPG-Konzentration in der VBS fiel hingegen bereits nach einer Woche stark ab. Der ATP-Gehalt beider Präparate blieb drei Lagerungswochen lang auf konstantem Niveau und fiel erst ab Beginn der vierten Woche kontinuierlich ab. Die gute Präparatequalität spiegelte sich ebenfalls in den erhobenen Hämolyseparametern wider. Die Konzentration der intrazellulären LDH war über drei Wochen in beiden Gruppen unverändert zum Ausgangswert, der Gehalt an freiem Hb und freiem Eisen stieg in der VBS nur mäßig an. Nach der dritten Lagerungswoche nahm die Qualität der Erythrozytenkonzentrate aufgrund der zunehmenden Schädigung der Erythrozyten

durch Stoffwechselmetabolite, saures Umgebungsmilieu und ATP-Verarmung ab. Ab Tag 49 war der Energieverlust so ausgeprägt, daß mit einer verminderten posttransfusionellen Überlebensfähigkeit der roten Zellen zu rechnen ist ¹². Die Entwicklung der gemessenen Parameter verlief dabei in beiden Gruppen parallel, ein signifikanter Gruppenunterschied bestand nicht mehr. In den MKS-Präparaten wurden gegen Ende der Lagerungszeit erstmals im Vergleich zu früheren Studien sehr hohe Werte für LDH, Eisen und freies Hb beobachtet. Die Hämolyserate war dabei nur geringfügig höher als in der VBS und bietet ebenso wie alle übrigen erhobenen Hämolyseparameter keine ausreichende Erklärung für diesen Sachverhalt.

Ein von Matthes et al. (1994) sowie Zeiler et al. (1997) durchgeführter Vergleich der beiden von Haemonetics eingesetzten Zellseparatoren MCS 3p und dem Nachfolgemodell MCS+ zeigte für die biochemischen Parameter eine gleichwertige Produktqualität ^{26, 32}. Die in dieser Arbeit erstmals deutlich erhöhten Hämolysewerte in der MKS sind dabei nach wie vor nicht erklärt.

4.3. Kapillarmikroskopie

Die Kapillarmikroskopie ist eine Methode zur qualitativen und quantitativen Darstellung des Durchblutungszustands der Haut und dient in der klinischen Anwendung der Beurteilung der Mikrozirkulation. Zur Untersuchung des Einflusses der konventionellen Vollblutspende auf die Mikrozirkulation wurde die Blutflußrate an Einzelkapillaren des dritten Fingers am Fingermitteglied vor, eine Stunde nach sowie 24 Stunden nach der Spende gemessen.

4.3.1. Strömungstypen, Flußdifferenzen und Fließgeschwindigkeit der kapillären Mikrozirkulation

Die Einführung der Videotechnik in den 70er Jahren machte erstmals eine Darstellung der Perfusion in der Mikrozirkulation möglich. Erste Untersuchungen wurden an Tieren vorgenommen und zeigten verschiedenartige Strömungsmuster. Im Kapillarnetz des Mesenteriums von Katzen und Ratten wurde zwischen einem Strömungsverhalten vom kontinuierlichen Typ sowie vom intermittierenden Typ unterschieden^{70, 71}.

In ersten Studien am menschlichen Kapillarnetz der Nagelfalz fanden sich ähnliche Strömungsmuster⁷². Das Strömungsverhalten vom kontinuierlichen Typ zeigt dabei im Verlauf der Messung eine nahezu konstante Blutflußrate wohingegen es beim intermittierenden Typ zu starken Schwankungen der Blutflußrate kommt. Die gemessenen Geschwindigkeitsschwankungen innerhalb einer Kapillare betragen beim kontinuierlichen Typ 0-2.5 mm/s und können beim intermittierenden Typ Stasen von 2-40 Sekunden verursachen⁷³. Bei Patienten mit Morbus Waldenström verringert sich die Blutflußrate beim kontinuierlichem Flußtyp sogar auf Werte unter 0.1 mm/s, die mittlere Fließgeschwindigkeit liegt zwischen 0.04 mm/s und 0.07 mm/s⁷². Die beobachteten Geschwindigkeitsänderungen treten beim Gefäßgesunden simultan und gleichgerichtet in allen Kapillaren innerhalb eines Gesichtsfelds auf, was als konkordanter Strömungstyp bezeichnet wird. Sehr selten kommt es zu einem diskordanten Strömungsverhalten. Diskordante Flußverhältnisse bis hin zur Strömungsumkehr in einzelnen Kapillaren finden sich häufiger bei Patienten mit Akrozyanose⁷³.

Der mittlere kapilläre Blutfluß im der Kapillare vorgeschalteten arteriellen Schenkel bewegt sich zwischen 0.60 mm/s und 0.80 mm/s, für den venösen Schenkel werden

Flußraten von 0.30 mm/s bis 0.50 mm/s gefunden⁷². Stücker et al. konnten mit ihren Messungen einen Mittelwert von 0.47 mm/s für die Fließgeschwindigkeit im venösen Schenkel der kleinsten Gefäße ermitteln⁷.

Die Untersuchungen der Laser Doppler Anemometrie in dieser Arbeit bestätigten die Ergebnisse früherer Studien⁷⁴. Mit ca. 80 % aller untersuchten Kapillaren überwog die Durchblutung vom kontinuierlichen Flußtyp deutlich gegenüber dem intermittierendem Typ (20 %).

In den gemessenen Kapillaren der Vollblutspender herrschte zu allen Meßzeitpunkten ein kontinuierlicher Strömungstyp vor, intermittierende Flußmuster fanden sich kaum. Die Aufrechterhaltung einer kontinuierlichen Durchströmung im Gefäß wird dabei durch autoregulatorische Mechanismen wie die Vasomotion gewährleistet.

Die CBV-Differenzen zwischen zwei unterschiedlichen Kapillaren betragen zwischen 0.30 und 1.72 mm/s. Um diese Flußfluktuationen in die Berechnung der Blutflußgeschwindigkeit einzubeziehen, wurden die Kapillaren über einen Zeitraum von 5 Minuten vermessen.

Die aufgezeichnete mittlere Blutflußrate lag nach der konventionellen Vollblutspende in Ruhe bei 0.70 mm/s. Sowohl eine Stunde nach der Spende als auch 24 Stunden danach zeigte sich keinerlei Veränderung in der Blutflußrate, die beständig bei 0.70 mm/s lag. Das Ausbleiben der erwarteten Zunahme der Blutflußgeschwindigkeit nach der Spende ist am ehesten auf eine zu diesem Meßzeitpunkt bereits erfolgte Adaptation der Mikrozirkulation an die veränderten Fließbedingungen zurückzuführen. Eine weitere mögliche Erklärung ist die vermehrte Vasokonstriktion der Gefäße nach der Spende. Durch den großen Volumenverlust von 500 ml kam es bei vielen Spendern zu einem Kältegefühl. Als Reaktion des Körpers erfolgte eine Vasokonstriktion der Gefäße mit Verlangsamung des Blutflusses in den gemessenen Kapillaren.

Die Ergebnisse von Lang beschreiben das Vorliegen eines überwiegend intermittierenden Flusses nach der Multikomponentenspende. Starke Strömungsschwankungen zwischen 0.02 mm/s- 1.25 mm/s sowie kurzzeitige Stasen in der Mikrozirkulation waren die Folge⁹.

Auch der Vergleich zur Vollblutspende zeigte nur einen tendenziellen Abfall der BFR ($p= 0.060$), weshalb diese Entwicklung im Rahmen der physiologischen Geschwindigkeitsschwankungen gesehen werden konnte.

Faßte man alle 40 Spender in einer Gruppe zusammen, ergaben sich keine signifikanten Unterschiede im Verlauf der Blutflußgeschwindigkeit zu allen Meßzeitpunkten. Die

BFR betrug 0.68 mm/s vor der Spende, 0.59 mm/s eine Stunde nach der Spende und 0.66 mm/s im 24-Stundenwert (Werte nicht graphisch dargestellt). Eine Steigerung der Fließgeschwindigkeit wie sie in der Literatur beschrieben ist, fand sich auch jetzt nicht, was mit der kleinen Fallzahl in dieser Studie zu erklären ist.

4.3.2. Vasomotion

Zur Aufrechterhaltung einer ungehinderten Durchblutung der kleinsten Gefäße muß der Strömungswiderstand in den Kapillaren gesenkt werden. Nach dem Hagen-Poiseuille'schen Gesetz ist der Widerstand in dem Gefäß am geringsten, dessen Durchmesser sich periodisch verändert ³. Veränderungen im Gefäßdurchmesser entstehen durch rhythmische Kontraktionen der glatten Muskulatur in den Arteriolen. Da mehrere Arteriolen ein Kapillargebiet versorgen, wirkt sich der ständig wechselnde Flußwiderstand bis in die kleinsten Gefäße des Organismus aus. Rhythmische Durchblutungsänderungen im Kapillarnetz sind die Folge, es resultiert ein intermittierendes Flußprofil.

Ein Volumenverlust, z. B. durch eine Blutspende, bewirkt eine Veränderung der Strömungsverhältnisse in der Mikrozirkulation. Durch die Hypovolämie kommt es zu einer Verminderung der Blutflußrate. Zur Aufrechterhaltung einer ausreichenden Perfusion reagiert der Organismus autoregulatorisch mit einer vermehrten myogenen Aktivität der Arteriolen ⁷¹.

Der Volumenverlust durch die in dieser Studie durchgeführte Blutspende betrug in der Vollblutspende 500 ml. Das kontinuierliche Flußprofil zu allen Meßzeitpunkten läßt vermuten, daß der Volumenverlust durch myogene Gegenregulation in den kleinen Gefäßen vollständig kompensiert werden konnte.

Die Ergebnisse der parallel von Lang ⁹ untersuchten Veränderungen des Flußprofils nach einem Volumenverlust von 650 ml nach Multikomponentenspende zeigten, daß die durch die MKS bedingte Hypovolämie einen größeren Einfluß auf die Mikrozirkulation der Spender ausübte als die der VBS. Eine Stunde nach der Spende wurde vermehrt ein intermittierendes Flußprofil mit periodisch wiederkehrenden, kurzzeitigen Stasen bei gleichzeitig vermindertem kapillären Blutfluß beobachtet.

4.3.3. Der mikrozirkulatorische Hämatokrit

Der Anteil der roten Blutzellen im Körper ist in den kleinen Gefäßen wesentlich geringer als in den großen Arterien. Der Hämatokrit in großen Gefäßen beträgt 10-15 % des Gesamt-Körper-Hämatokrits, der kapilläre Hämatokrit liegt hingegen nur bei rund 50 % des Aortenhämatokrits. Das liegt zum einen an der in der Endstrombahn schnelleren Passagezeit (Fahraeus-Effekt) der Erythrozyten, zum anderen an der Entmischung des Blutes an Gefäßaufzweigungen im Kapillarsystem (Plasma-skimming)⁷⁵. Der Fahraeus-Effekt beschreibt eine Reduktion des dynamischen Hämatokrits um 40-50 % in den Kapillaren. Grund hierfür ist eine im Verhältnis zu den zellfreien Blutbestandteilen schnellere Passage der roten Blutzellen durch ihre Anreicherung im Gefäßzentrum (Axialmigration), dem Ort des schnellsten Flusses. Das Blut kann somit nicht mehr als homogene Flüssigkeit angesehen werden, sondern bildet eine Zwei-Phasen-Suspension⁷⁶.

Daraus erklärt sich die ungleiche Perfusion des kapillären Stromgebiets. Einige Kapillaren enthalten vermehrt zellfreie Blutbestandteile, in anderen kommt es zu einer Hämokonzentration. In den vorwiegend von Erythrozyten durchströmten Kapillaren steigt die Viskosität, es resultiert eine Perfusionsminderung mit einem intermittierenden Strömungsmuster. Da die roten Blutzellen mit dem schnelleren Strom fließen, bedeutet die ständige Umverteilung des Erythrozytenflusses im Stromgebiet einen Autoregulationsmechanismus zur Aufrechterhaltung der Perfusion⁵⁴. Sind die Hämatokritwerte unter pathophysiologischen Bedingungen (z.B. poststenotisch gestörte Blutverteilung) erhöht, laufen diese Kompensationsmechanismen zur Flußverbesserung jedoch langsamer ab als bei niedrigen Hämatokritwerten, was über eine erhöhte Viskosität und ein daraus resultierendes vermindertes Stromzeitvolumen schnell zu einem *circulus vitiosus* führt⁷⁷.

Nicht nur der geringe Gefäßdurchmesser und die dadurch bedingte Entmischung des Blutes beeinflussen den kapillären Hämatokrit. Auch die vorgeschalteten Arteriolen spielen eine bedeutende Rolle. Sie regulieren nicht nur den Strömungswiderstand und den Perfusionsdruck sondern bestimmen über Vasodilatation bzw. -konstriktion den Hämatokritwert, wobei die Gefäßdilatation mit einem Hämatokritanstieg, die Vasokonstriktion mit einem Abfall des Hämatokrits einhergeht⁷⁶.

Störungen des regionalen Blutflusses im Sinne eines intermittierenden Flusses bzw. einer kurzzeitigen Stase, können desweiteren durch temporäre Kapillarokklusionen bedingt sein. Rigide Erythrozyten oder Leukozyten, die zu einem reversiblen Verschuß des Gefäßes führen können, sind dabei als Auslöser bekannt.

In dieser Studie zeigte sich in der ersten Stunde nach der Vollblutspende nur ein tendenzieller Abfall des Hämatokritwertes. Im Rahmen des bereits beschriebenen Hämodilutionseffekts durch die Spende erklärt sich die Verminderung des Hämatokrits im Blut. Die zum Zeitpunkt 24 Stunden nach der Vollblutspende beobachtete weitere deutliche Verminderung des Hämatokrits ist am ehesten durch die zwischenzeitlich eingetretene Kompensation des spendebedingten Volumenverlusts bedingt (Hämodilutionseffekt). Trotz der verbesserten rheologischen Eigenschaften des Spenderbluts blieb die erwartete Zunahme der Blutflußgeschwindigkeit in den Kapillaren aus. Die gemessene Fließgeschwindigkeit stagnierte auf Ausgangsniveau. Grund hierfür könnte eine zu diesem Meßzeitpunkt bereits erreichte Adaptation der Mikrozirkulation an die veränderten Fließbedingungen sein.

Ein Vergleich mit den von Lang erhobenen Ergebnissen der MKS-Spender zeigt, daß es zum Zeitpunkt eine Stunde nach der Spende aufgrund des langsameren Absinkens des Hk in der MKS bereits zu einem signifikanten Gruppenunterschied kommt. Der gefundene signifikante Gruppenunterschied ist vermutlich auf den größeren Volumenverlust in der MKS zurückzuführen. Durch die Abgabe von 400 ml Plasma stieg der Hämatokrit im Gefäß und dies konnte trotz erfolgtem Hämodilutionseffekt noch eine Stunde nach der Spende beobachtet werden. 24 Stunden nach der Spende zeichnete sich eine deutliche Verminderung des Hämatokrits in beiden Gruppen ab (jeweils $p < 0.001$). Der zuvor beschriebene Gruppenunterschied bestand 24 Stunden nach der Spende nicht mehr⁹.

4.3.4. Die kapilläre Durchströmungshomogenität

Die Fließbedingungen (Schubspannung oder Fließgeschwindigkeit) sowie die Fließeigenschaften (Hämatokrit oder Plasmaviskosität) bestimmen das Fließverhalten des Blutes im Körper⁷⁸.

In der Makrozirkulation ist der Fluß stabil, da Fließfähigkeit und Fluidität aufgrund hoher Strömungsgeschwindigkeiten nur wenig variieren. In der Mikrozirkulation ändern sich die Strömungsverhältnisse. Die Fließgeschwindigkeit wird kapillarwärts immer kleiner, die Schubspannung immer größer. Die latente Neigung zur Aggregation der Erythrozyten in den postkapillären Venolen bewirkt erhebliche Schwankungen in der Fluidität des Blutes. Das Ausmaß der rouleauxartigen Aggregation der Erythrozyten ist

dabei abhängig von dem im Gefäß herrschenden Hämatokrit sowie von der Plasmakonzentration hochmolekularer Eiweiße.

Die Fließeigenschaften des Blutes sorgen in der Mikrostrombahn für eine Aufrechterhaltung der Fließgeschwindigkeit. Hier sind besonders die Verformbarkeit der Erythrozyten, ihre Orientierungsstabilität im Gefäß sowie ihre panzerkettenartige Membranrotation zu nennen. Ein weiterer wesentlicher Faktor ist der bereits beschriebene Fahraeus-Effekt, der eine Erniedrigung des Strömungswiderstandes erzielt.

Die Erhaltung der kapillären Durchströmungshomogenität ist entscheidend für die Gewährleistung einer ausreichenden Blutversorgung und eines ständigen Metabolitenabtransports. Störungen der Perfusionshomogenität durch Strömungsverlangsamung resultieren in einer Abnahme der Blutfluidität, die dadurch erhöhte Viskosität führt zu einer Zunahme des Strömungswiderstands bis hin zur Stase. Über die Anhebung der Strömungsgeschwindigkeit reguliert der Körper die Stabilisation der Fließeigenschaften und verhindert so eine Stase im Gefäß. Trotz des niedrigen mikrovaskulären Hämatokrits wird somit eine ausreichende Sauerstoffversorgung des Kapillarbettes gewährleistet.

Neben der Stase als einem Strömungsbild bei gestörter Durchblutungshomogenität tritt in bestimmten Kreislaufabschnitten eine Überperfusion auf, welche jedoch pathognomonisch weniger wichtig ist als die Blutstase.

Im Rahmen der konventionellen Vollblutspende konnte in der vorliegenden Arbeit keine signifikante Veränderung der Blutflußrate beobachtet werden. In Kenntnis der physiologischen Grundlagen und in Anbetracht deutlich verbesserter rheologischer Parameter wäre eine Zunahme des Flusses aufgrund des Hämodilutionseffekts zu erwarten. Die rheologischen Eigenschaften des Blutes spiegelten, erkennbar im signifikanten Abfall des Hämatokrits ($p < 0.001$), der Verringerung der Plasmaviskosität auf 64 % sowie der Abnahme des Albumins und Fibrinogens, eindeutig den Hämodilutionseffekt der Spende wider⁹. Jedoch blieb eine reaktive Erhöhung der Blutflußgeschwindigkeit aus.

Die Blutströmungsgeschwindigkeit stellt einen Mittler zwischen Hämodynamik und Fließverhalten dar. Daß die Ergebnisse dieser Arbeit die beschriebenen rheologischen Regulationsmechanismen nicht wiedergeben, läßt sich mit dem begrenzten Gesichtsfeld in der kapillarmikroskopischen Untersuchung erklären. Die Messung erfolgte vermutlich vor allem in Kapillaren, in denen eine Stase als Folge des Volumenverlustes

und autoregulatorisch bedingter starker Flußschwankungen zu verzeichnen war. Weiterhin denkbar wäre, daß das untersuchte Kapillargebiet zufällig jenen Gefäßbereich erfaßte, in dem durch die Entmischung des Blutes bei niedrigem Hämatokrit nur wenige Erythrozyten den Gefäßdurchmesser durchströmten. Für 24 Stunden nach der Spende ist eine bereits eingetretene Anpassung des Strömungsverhaltens an die verbesserte Rheologie zu postulieren. Der Blutfluß zeigte sich entsprechend im Normbereich.

4.3.5. Die Hautdurchblutung und ihre Regulation

Vasokonstriktion und Vasodilatation regulieren die Blutzufuhr in den Gefäßen der Haut und gewährleisten dadurch ihre konstante Durchblutung. Die Tonusveränderung der glatten Muskelfasern in den Gefäßwänden ist sowohl für die Vasokonstriktion mit einer Verminderung der Blutzufuhr als auch für die Vasodilatation mit einer Vermehrung der Durchblutung verantwortlich. Der Gefäßtonus unterliegt neuronalen, myogenen und humoralen Einflußfaktoren. In Ruhe überwiegt ein leicht vasokonstriktorisches Grundtonus³.

Eine wichtige Einflußgröße auf die Perfusion der Haut stellt die Hauttemperatur dar. Der temperaturneutrale Bereich liegt zwischen 27.3° C und 30.5° C. Unterhalb dieses Referenzbereiches verringert sich der Blutfluß bis hin zur Stase, oberhalb kommt es zu einem starken Anstieg der Durchblutung³⁹.

Provokationsmanöver wie arterielle Okklusion sowie thermische Reizung üben ebenfalls Einfluß auf die Durchblutung der Haut aus. Die Stauung arterieller Gefäße führt zu einer überschießenden, passageren Mehrdurchblutung. Dabei ist die Dauer des Staus entscheidend für die Reaktion des Gefäßsystems. Erfolgt die Stauung nur für Sekunden, kommt es durch das einschießende Blut zu einer Dehnung der Gefäßwand, welche reflektorisch wiederum eine Vasokonstriktion bewirkt. Auf eine Blutflußnormalisierung folgt demnach ein erneuter Stopp der Durchblutung. Dauert die Okklusion mehrere Minuten an, kann eine reaktive Mehrdurchblutung über den Ruheflußwert beobachtet werden. Ursache hierfür sind metabolische Faktoren.

Auf eine Wärmeprovokation reagiert die Haut mit Hyperämie und einer Mehrperfusion durch Vasodilatation. An den Akren werden dabei verstärkt die arterio-venösen Anastomosen durchströmt. Die Fließgeschwindigkeit erhöht sich dabei auf bis zu 1.01 ± 0.57 mm/s. Bei der Kälteprovokation der Haut werden Kühlmedien von 4° C bis 16° C eingesetzt. Ab einer Temperatur von 10° C empfindet der Körper die Exposition als

unangenehm. Gleich nach Eintauchen der kontralateralen Hand in ein Wasserbad von 15° C beobachtet Butti eine drei bis zehn Sekunden anhaltende Verminderung der Blutflußrate sowie einen Flußstopp von fünf bis zehn Sekunden bei gleichbleibender Hauttemperatur⁷⁹. Der Grund liegt in einer reflektorischen Vasokonstriktion. Insgesamt ist die Blutflußrate gegenüber dem Ausgangswert nicht signifikant vermindert. Desweiteren besteht eine Zunahme der Flußfluktuationen während kontralateraler Kühlung, welche sich nur auf das Kapillargebiet erstreckt und in der digitalen arteriellen Pulsamplitude nicht nachweisbar ist.

Die Kontrolle der Hauttemperatur der zwanzig Spender während der kapillarmikroskopischen Untersuchungen wurde durch einen Thermofühler am Fingergrundglied gewährleistet. Die ermittelten Hauttemperaturen lagen überwiegend im Referenzbereich. Bei einem Probanden lag die Fingertemperatur nach der Spende unterhalb des Normbereiches, was eine Flußminderung zur Folge hatte und im Rahmen der Kreislaufbelastung durch die Spende betrachtet werden kann. Ebenso ist ein häufig auftretendes Kältegefühl bei den Spendern während und nach der Spende zu interpretieren. Möglicherweise ist die Vasokonstriktion der Gefäße bei Kälte und die daraus resultierende Verlangsamung des Blutflusses mitverantwortlich für die trotz verbesserter Rheologie unveränderte Blutflußgeschwindigkeit nach der Spende.

4.3.6. Fließgeschwindigkeit in Fingerarterie und Mikrozirkulation

Schon die vergleichende Untersuchung von Richardson zeigten unterschiedliche Fließgeschwindigkeiten in der Fingerarterie und Nagelfalzkapillare⁸⁰. Die Messung der Flußrate bei einer Hauttemperatur von 32° C über 5 Minuten ergab für beide Gefäße aperiodische Fluktuationen, wobei in der Fingerarterie anders als in der Nagelfalzpulsabhängige Schwankungen eine Rolle spielten. Die Flußgeschwindigkeit lag in der Fingerarterie bei 4.0 cm/s, die Durchschnittsfließgeschwindigkeit der Nagelfalzkapillaren betrug 0.2 mm/s.

Die Flußveränderungen in Fingerarterie und Nagelfalzkapillare verliefen dabei völlig unabhängig voneinander. Eine Verringerung des Flusses der Digitalarterie von 72 % trat gleichzeitig mit einer Steigerung des Flusses um 34 % in der Nagelfalz auf. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen liegt Richardson zufolge im Verschluß arterio-venöser Anastomosen. Der Fluß in der Digitalarterie wird dadurch verlangsamt während in der Nagelfalz eine Flußerhöhung zu beobachten ist.

Nicht nur die Änderung der Flußraten erfolgte in den Fingerarterien unabhängig von den Veränderungen in der Nagelfalz. Auch die Druckverhältnisse sowohl im zentralarteriellen als auch im prä- und postkapillären System korrelierten nicht miteinander.

Die Hämodynamik in den regionalen Versorgungsgefäßen läßt demnach keinen Rückschluß auf kapilläre Verhältnisse zu⁸⁰.

Die Resultate der in dieser Arbeit durchgeführten kapillarmikroskopischen Untersuchungen nach herkömmlicher Vollblutspende zeigten keine wesentlichen Veränderungen der Blutflußrate im Vergleich zur Ruhefließgeschwindigkeit des Blutes im kapillären System. Allerdings läßt dieser begrenzte Ausschnitt aus den kapillären Flußverhältnissen keine repräsentative Aussage über das Fließverhalten in der Mikrozirkulation zu⁸⁰. Die Laseranemometrie bietet demnach nur einen lokalen Befund und sollte durch ergänzende Untersuchungen, z.B. die Messung des regionalen Blutflusses, bei der klinischen Einschätzung pathologischer Strömungsverhältnisse ergänzt werden. Die in dieser Studie erzielten Ergebnisse für die Blutflußrate sind im Sinne einer lokalen Anpassung an die veränderten Flußbedingungen zu verstehen, können jedoch keinen Aufschluß über das Flußverhalten in anderen Bereichen der Mikrozirkulation geben.

4.3.7. Zusammenfassung

Die Regulation der Blutflußgeschwindigkeit in der kapillären Mikrozirkulation unterliegt einer Vielzahl von Einflußfaktoren. Größere Volumenschwankungen, wie sie durch eine Vollblutspende verursacht werden, aktivieren eine Reihe von Regulationsmechanismen zur Aufrechterhaltung einer ausreichenden Sauerstoffversorgung des Kapillarbetts.

Die eine Stunde nach Spende weiterhin unveränderte Blutflußgeschwindigkeit ist am ehesten mit einer autoregulatorischen, vasomotorischen Mehrkompensation des eingetretenen Volumenverlustes bei noch fehlendem Hämodilutionseffekt zu erklären. 24 Stunden nach der Spende ist die Fließgeschwindigkeit nach wie vor auf Ausgangsniveau. Bei jetzt deutlich verbesserter Rheologie muß von einer zu diesem Zeitpunkt bereits erfolgten Anpassung an die veränderten Strömungsverhältnisse ausgegangen werden.

Die Komplexität im Zusammenspiel der genannten hämodynamischen Wirkgrößen läßt jedoch vermuten, daß die Regulation der Blutflußgeschwindigkeit vielschichtiger erfolgt als dargestellt.

Zur genaueren Erfassung der rheologischen und hämodynamischen Veränderungen wäre es daher überlegenswert, diese zu anderen Meßzeitpunkten zu untersuchen, falls die gewählten Zeiträume eine Stunde nach sowie 24 Stunden nach der Spende die ablaufenden Korrekturmechanismen nicht bzw. nicht mehr erfassen.

Desweiteren ermöglichte die Kapillarmikroskopie lediglich die Darstellung vereinzelter Kapillaren in einem begrenzten Gesichtsfeld. In den durchgeführten Untersuchungen fand sich keine Veränderung der Blutflußrate, was jedoch keine repräsentative Aussage über das Fließverhalten in der Mikrozirkulation erlaubt. Um einen genaueren Eindruck von den Strömungsverhältnissen nach der Spende zu erlangen, würde die kombinierte Laser Doppler Anemometrie von Kapillargebiet und regionalem Blutfluß über eine größere Aussagekraft verfügen.

Insgesamt zeigten die Ergebnisse dieser Arbeit im Vergleich zu den Resultaten von Stücker et al. eine durchschnittliche Blutflußgeschwindigkeit entsprechend den Vorbefunden⁷. Die Interpretation dieser Werte erlaubt demnach die Behauptung, auch unter Berücksichtigung der besonderen thermalen und nutritiven Verhältnisse an der Nagelfalz, daß auch die Darstellung der Kapillaren am Fingermittelglied Veränderungen in der Mikrozirkulation erkennen und sich somit als eine geeignete Methode in der klinischen Medizin etablieren kann.

V Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersuchte im ersten Teil in einem prospektiven Paarvergleich mit cross-over die biochemische Qualität von Erythrozytenkonzentraten, die mittels konventioneller Vollblutspende bzw. maschineller Multikomponentenspende gewonnen und über einen Zeitraum von 63 Tagen gelagert wurden. Je zehn gesunde Probanden spendeten 500 ml Vollblut (VBS) bzw., mittels Zellseparator, 200 ml Erythrozytenkonzentrat und 400 ml Plasma (MKS). Nach acht Wochen erfolgte ein cross-over der Gruppen. Nach Komponentenseparation des Vollblutes wurden die Erythrozytenkonzentrate beider Gruppen gefiltert und in PAGGS-M Additivlösung gelagert. Über einen Beobachtungszeitraum von 63 Tagen erfolgte eine wöchentliche bzw. 14-tägige Untersuchung ausgewählter biochemischer Parameter, um Auswirkungen der unterschiedlichen Spendeverfahren auf die Blutproduktequalität zu erfassen. Dabei wurde die Überlebensfähigkeit der roten Zellen anhand des ATP-Gehaltes, ihre Sauerstoffabgabefähigkeit mittels des 2,3-DPG-Spiegels sowie die Zellschädigung durch die Bestimmung mehrerer Hämolyseparameter bewertet. Dabei fanden sich, ungeachtet des Herstellungsganges (VBS - MKS), in den ersten drei Wochen nur geringfügige Hinweise auf eine lagerungsbedingte Alteration der Erythrozyten. Dies wird durch den unveränderten Gehalt an ATP sowie die nur langsame Abnahme des 2,3-DPG-Spiegels deutlich. Nach der dritten Lagerungswoche nahm die Qualität der Erythrozytenkonzentrate aufgrund einer zunehmenden Zellschädigung und Verarmung an Energieträgern ab. Aus den erzielten Resultaten geht hervor, daß keines der beiden Spendeverfahren dem anderen wesentlich überlegen ist, sondern beide Methoden Präparate von hoher Qualität lieferten. Eine ursächliche Klärung der höheren Konzentrationen von LDH, Eisen und freiem Hb in der MKS konnte nicht erfolgen. Wenngleich die Anwendung der automatisierten Blutkomponentenspende keine entscheidenden Verbesserungen in der Produktequalität verspricht, so sind der Wegfall der Komponentenseparation und die Gewinnung mehrerer Präparate von nur einem Spender wichtige Aspekte, die den Einsatz der Zellseparatoren zu rechtfertigen vermögen. Bei einem verlängertem Spendeintervall ist die Multikomponentenspende als eine unbedenkliche Methode der Blutpräparategewinnung einzustufen.

Der zweite Teil der Arbeit befaßte sich mit den Auswirkungen der Spende auf die Blutflußgeschwindigkeit und Blutflußrate in den Fingerkapillaren der Blutspender.

Bei jeweils 20 gesunden Probanden wurde eine 500 ml umfassende Vollblutentnahme durchgeführt. Zum Zeitpunkt vor, eine Stunde nach sowie 24 Stunden nach der Spende wurde die Blutflußrate kapillarmikroskopisch mit dem CAM 1 Laser Doppler Anemometer am Fingermittelglied des dritten Fingers der linken Hand bestimmt.

Dabei ließen sich, im Gegensatz zu in der Literatur beschriebenen Ergebnissen, keine signifikanten Steigerungen der kapillären Blutflußrate nachweisen. Vermutlich sind die relativ geringen Entnahmemengen und die hierdurch bedingten, minimalen Meßunterschiede, nicht zuletzt auch deren hohe Standardabweichungen, dafür verantwortlich.

VI Meßwerteübersicht

Vergleich des Einflusses von konventioneller Vollblutspende und Multikomponentenspende auf die klinisch-chemischen Veränderungen im Blut der Spender sowie die metabolischen Umwandlungsprozesse in den gelagerten Präparaten über einen Zeitraum von 63 Tagen. Darstellung der Blutflußrate in Kapillaren des Mittelgliedes des 3. Fingers nach konventioneller Vollblutspende.

Dargestellt sind die Mittelwerte (MW) der einzelnen Meßparameter zu den jeweiligen Meßzeitpunkten mit den zugehörigen Standardabweichungen (SD). Signifikante Unterschiede zwischen den untersuchten Kollektiven sind durch Sternchen (*) gekennzeichnet:

*signifikant ($p < 0.05$), ** hoch signifikant ($p < 0.01$), ***höchst signifikant ($p < 0.001$)

Meßparameter Spender		Vor Spende VBS/MKS	Eine Stunde nach Spende VBS/MKS	24 h nach Spende VBS/MKS
Hb (g/dl)	MW	14,4 / 14,5	14,1 / 14,5**	13,1 / 13,3
	SD	±1,06 / 0,94	±1,24 / 1,05	±1,22 / 1,33
Hk (%)	MW	43,8 / 44,4	43,4 / 44,7**	40,0 / 40,7
	SD	±2,96 / 2,72	±3,55 / 3,15	±3,66 / 3,94
Albumin (g/dl)	MW	4,6 / 4,6	4,5 / 4,5	4,4 / 4,5
	SD	±02,3 / 0,26	±0,29 / 0,29	±0,26 / 0,29
Fibrinogen (g/l)	MW	2,59 / 2,57	2,51 / 2,46	2,39 / 2,35
	SD	±0,51 / 0,56	±0,40 / 0,51	±0,35 / 0,51
Gesamteiweiß (g/dl)	MW	7,10 / 7,13	6,87 / 6,85	6,73 / 6,75
	SD	±0,32 / 0,40	±0,40 / 0,43	±0,38 / 0,39

Tabelle 4: Klinisch-chemische Parameter im Spenderblut vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende ($x \pm SD$, $n = 20$).

Meß- para- meter		Tag 1	Tag 7	Tag 21	Tag 35	Tag 49	Tag 63
		VBS/MKS	VBS/MKS	VBS/MKS	VBS/MKS	VBS/MKS	VBS/MKS
Glucose (%)	MW	100,0/ 100,0	89,5/ 81,1***	68,6/ 53,1***	54,1/ 32,6***	40,5/ 17,9***	31,6/ 7,2***
	SD	±0,0/ 0,0	±6,9/ 5,5	±4,9/ 5,3	±6,1/ 5,3	±8,7/ 7,9	±8,5/ 6,6
Laktat (mmol/l)	MW	3,6/ 4,2	10,1/ 11,8**	21,0/ 24,8**	30,2/ 34,9**	36,0/ 41,0**	41,2/ 45,0**
	SD	±1,49/ 1,36	±1,71/ 1,34	±2,13/ 1,91	±2,89/ 2,07	±2,99/ 3,30	±3,55/ 3,54
2,3-DPG (µmol/g Hb)	MW	10,8/ 14,5**	6,2/ 14,8***	2,7/ 3,3	1,7/ 2,1	1,4/ 1,7	1,3/ 1,3
	SD	±2,80/ 2,03	±3,15/ 2,40	±1,60/ 1,22	±0,67/ 1,10	±0,35/ 0,62	±0,35/ 0,24
ATP (µmol/g Hb)	MW	2,12/ 1,95*	2,17/ 2,00*	2,04/ 2,03	1,69/ 1,63	1,26/ 1,24	0,86/ 0,76
	SD	±0,18/ 0,22	±0,22/ 0,23	±0,27/ 0,20	±0,28/ 0,22	±0,23/ 0,24	±0,20/ 0,19
pH_{in}	MW	7,21/ 7,33***	7,10/ 7,20***	6,93/ 7,00***	6,75/ 6,77	6,57 / 6,59	6,43/ 6,45
	SD	±0,06/ 0,03	±0,05/ 0,04	±0,05/ 0,07	±0,07/ 0,05	±0,05/ 0,08	±0,06/ 0,11
pH_{ex}	MW	8,36/ 8,25	8,10/ 7,83**	7,70/ 7,65	7,25/ 7,24	6,88/ 6,90	6,62/ 6,55
	SD	±0,29/ 0,41	±0,22/ 0,26	±0,11/ 0,15	±0,09/ 0,08	±0,07/ 0,09	±0,05/ 0,04
pO₂ (mmHg)	MW	62,2/ 64,4	73,7/ 84,9	113,8/ 113,2	233,2/ 215,8	264,9/ 259,5	276,5/ 273,2
	SD	±14,9/ 17,9	±20,9/ 25,9	±43,1/ 52,0	±34,5/ 48,7	±17,5/ 17,0	±14,4/ 15,6
SO₂ (%)	MW	53,1/ 65,2**	59,0/ 70,7*	77,3/ 85,5	92,6/ 91,9	99,8/ 99,8	99,8/ 99,8
	SD	±17,5/ 15,5	±18,3/ 13,7	±23,0/ 16,1	±11,1/ 10,0	±0,0/ 0,0	±0,0/ 0,0
pCO₂ (mmHg)	MW	69,3/ 61,4*	82,2/ 76,3*	87,7/ 97,1**	69,4/ 82,3**	50,2/ 57,4*	25,5/ 27,2
	SD	±9,4/ 7,2	±7,5/ 7,8	±8,7/ 11,4	±10,9/ 8,7	±7,2/ 8,2	±6,3/ 6,7
Kalium (mmol/l)	MW	3,6/ 6,3***	18,8/ 29,1***	41,2/ 48,1*	57,0/ 61,8*	67,5/ 71,9	78,1/ 77,8
	SD	±0,99/ 1,54	±1,82/ 8,40	±3,06/ 8,15	±4,50/ 8,16	±6,33/ 8,98	±6,89/ 8,01

Meßparameter		Tag 1	Tag 7	Tag 21	Tag 35	Tag 49	Tag 63
		VBS/MKS	VBS/MKS	VBS/MKS	VBS/MKS	VBS/MKS	VBS/MKS
LDH (U/l)	MW	30,8/ 60,0***	34,9/ 67,5***	36,3/ 68,8***	47,4/ 76,6***	64,6/100,9***	11,5/ 175,3**
	SD	±11,3/ 12,1	±10,4/ 13,8	±12,3/ 12,8	±14,9/ 17,4	±20,4/ 22,2	±38,3/ 66,6
Eisen (µg/ dl)	MW	7,2/ 26,3***	14,9/ 40,3***	24,1/ 70,1***	30,3/ 90,8***	36,1/98,6***	39,5/106,8***
	SD	±5,9/ 8,8	±4,4/ 8,0	±6,8/ 13,2	±5,1/ 13,2	±9,7/ 17,6	±8,6/ 15,5
Hämolyserate (%)	MW	0,28/ 0,22	0,30/ 0,26	0,28/ 0,30	0,37/ 0,39	0,54/ 0,58	1,01/ 1,29*
	SD	±0,09/ 0,05	±0,11/ 0,06	±0,05/ 0,05	±0,10/ 0,09	±0,17/ 0,18	±0,63/ 0,68

Tabelle 5: Verlauf biochemischer Parameter in VBS und MKS über 63 Tage ($x \pm SD$, n= 20).

Meßparameter		Vor Spende VBS	Eine Stunde nach Spende VBS	24 h nach Spende VBS
Blutflußrate mm/s	MW	0,72	0,68	0,71
	SD	±0,37	±0,24	±0,25
Blutflußrate mm/s (schnellste Kapillare)		1,72	1,32	1,47
Blutflußrate mm/s (langsamste Kapillare)		0,30	0,38	0,27

Tabelle 6: Blutflußrate in der VBS vor, eine Stunde nach und 24 Stunden nach der Spende ($x \pm SD$, n= 20). Schnellste bzw. langsamste BFR.

VII Abkürzungsverzeichnis

Abb.= Abbildung

ACD= Acid-Citrat-Dextrose

ADP= Adenosindiphosphat

ATP= Adenosintriphosphat

BFR= Blutflußrate

CBV= Capillary blood cell velocity

CDP= Citrat-Phosphat-Dextrose

° C= Grad Celsius

CO₂= Kohlendioxid

DEHP= Diethylhexylphtalat

DPG= Diphosphoglycerat

EDTA= Ethylendiamintetraacetat

GAPDH= Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase

GDH= Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase

Hb= Hämoglobin

Hk= Hämatokrit

H₂PO₄⁻= Dihydrogenphosphat

K⁺= Kalium

KG= Körpergewicht

LDH= Laktatdehydrogenase

MgCl₂= Magnesiumchlorid

MKS= Multikomponentenspende

MW= Mittelwert

Na⁺= Natrium

NAD⁺= Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid

NADH= Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid, reduzierte Form

NH₄⁺=Ammonium

O₂= Sauerstoff

p= Wahrscheinlichkeit

PAGGS-M= Phosphat-Adenin-Glucose-Guanosin-Natrium-Mannitol

PG= Phosphoglycerat

PGA= Phosphoglycerat, gepuffert

PGK= Phosphoglycerat-Kinase
PGM= Phosphoglycerat-Mutase
P_i= anorganisches Phosphat
pCO₂= Kohlendioxidpartialdruck
pO₂= Sauerstoffpartialdruck
PVC= Polyvinylchlorid
SAG-M= Saline-Adenin-Glucose-Mannitol
SD= Standardabweichung
SO₂= Sauerstoffsättigung
TIM= Triosephosphat-Isomerase
U= Umdrehungen/ min
VBS= Vollblutspende

VIII Literaturverzeichnis

- ¹ Mansouri Taleghani B., Reith H. B., Wiebecke D., Thiede A.: „*Hämotherapie in der operativen Medizin (Teil 1+2)*“, *Zentralbl Chir*, **1999**;124:W19-41.
- ² Matthes G.: „*Multikomponentenspende- eine Zukunftstechnologie in der Transfusionsmedizin*“, *Infusionstherapie und Transfusionsmedizin* **1997**; 24: 68-70.
- ³ Altmeyer P., Hoffmann K., Stücker M. (Hrsg.) : „*Kutane Mikrozirkulation*“, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, **1997**.
- ⁴ Intaglietta M., Silverman N.R., Tompkins W.R.: „*Capillary flow velocity measurements in vivo and in situ by television methods*“, *Microvascular Research*, **1975**; 10: 165-179.
- ⁵ Butti P., Intaglietta M., Reimann H., Holliger Ch., Bollinger A., Anliker M.: „*Capillary red blood cell velocity measurements in human nailfold by viedodensitometric method*“, *Microvascular Research*, **1975**; 10: 220-227.
- ⁶ Intaglietta M., Tompkins W.R.: „*Capillary video red blood cell velocimetry by cross correlation and spatial filtering*“, *Microvascular Research*, **1987**; 34: 108-115.
- ⁷ Stücker M., Baier V., Reuther T., Hoffmann K., Kellam K., Altmeyer P.: „*Capillary blood cell velocity in human skin capillaries located perpendocularly to the skin surface: measured by a new laser doppler anemometer*“, *Microvascular Research*, **1996**; 52: 188-192.
- ⁸ Mansouri Taleghani B., Manke F., Langer R., Henrich H.A.: „*Veränderungen der Blutrheologie und Mikrozirkulation nach präparativer kombinierter Thrombozytapherese und Plasmapherese*“, *Beitr. Infusionsther. Tansfusionsmed.*, Basel, Karger, **1997**; 34: 123-127.
- ⁹ Lang T.: „*Vergleich der rheologischen Qualität von Erythrozytenkonzentraten, gewonnen durch herkömmliche Vollblutspende oder Multikomponentenspende und Einfluß der Entnahmeverfahren auf ausgewählte rheologische Laborparameter und in-*

vivo Mikrozirkulation des Spenders“, *Dissertation in Vorbereitung*, Med. Fak. Würzburg, **2001**.

¹⁰ Wissenschaftliche Tabellen Geigy, Teilband „*Hämatologie und Humangenetik*“, 8.Auflage, Ciba Geigy, Basel, **1979**.

¹¹ Stryer L.: „*Biochemie*“, Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH, Heidelberg, **1990**.

¹² Gibson J., Murphy W., Scheitlin W.A., Rees S.B.: „*The influence of extracellular factors involved in the collection of blood in ACD on maintenance of red cell viability during refrigerated storage*“, *Am J Clin Path* **1956**; 26: 855-873.

¹³ Matsuda T., Taube R., Dern R.J., Elwyn D.H., Baker R.J., Shoemaker W.C.: „*Red cell survival of 42 day ACD-adenine preserved blood after transfusion into traumatized patients*“, *J Lab and Clin Med* **1969**; 74 (1): 42-46.

¹⁴ Sasakawa S., Tokunaga E.: „*Physical and chemical changes of ACD-preserved blood: a comparison of blood in glass bottles and plastic bags*“, *Vox Sanguis* **1976**; 31: 199-210.

¹⁵ Zuck T.F., Bensinger T.A.: „*Implications of sterile docking devices*“, *Transfusion* **1975**; 15 (5): 399-401.

¹⁶ Högman C.F., Eriksson L., Hedlund K., Wallvik J.: „*The bottom and top system: a new technique for blood component preparation and storage*“, *Vox Sanguis* **1988**; 55: 211-217.

¹⁷ Estep T.N., Pedersen R.A., Miller T.J., Stupar K.R.: „*Characterization of erythrocyte quality during refrigerated storage of whole blood containing Di-(2-ethylhexyl)-Phthalate*“, *Blood*, **1984**; 6: 1270-1276.

¹⁸ Barras J.P., Jung T., Haberthür C., Koerner K.: „*Vergleichende Untersuchungen der rheologischen Eigenschaften von Erythrozytenkonzentraten während einer*

Lagerungszeit von sechs Wochen in verschiedenen Konservierungslösungen“, *VASA* **1989**; 18 (2): 122-127.

¹⁹ Meryman H.T., Bross J., Lebovitz R.: „*The preparation of leukocyte-poor red blood cells: a comparative study*“, *Transfusion* **1980**; 20 (3): 285-292.

²⁰ Brecher M., Pineda A.A., Torlino A.S., Harbaugh C.A., Emery R.L., Moore S.B., Carmen R., Nelson E.: „*Prestorage leukocyte depletion: effect on leukocyte and platelet metabolites, erythrocyte lysis, metabolism and in vivo survival*“, *Seminars in Hematology* **1991**; 28 (3), Suppl 5: 3-9.

²¹ Högman C.F., Hedlund K., Akerblom O., Venge P.: „*Red blood cell preservation in protein-poor media. I. Leucocyte enzymes as a cause of hemolysis*“, *Transfusion*, **1978**; 18 (2): 233-241.

²² Riggert J., Humpe A., Simson G., Köhler M.: „*Leukozytenfiltration zur Verbesserung der Lagerqualität von Vollblut*“, *Hämatologie, München, Sympomed.*, **1997**; 6: 71-79.

²³ Lefevre H., Walther-Wenke G., Burkhard J.: „*Leukozytendepletion*“, *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, Springer-Verlag, **1999**; 42: 121-131.

²⁴ Frewin D.B., Jonsson J.R., Frewin C.R., Russell W.J., Russell M.W., Davis K.G., Beal R.W.: „*Influence of blood storage time and plasma histamine levels on the pattern of transfusion reactions*“, *Vox Sang.*, **1989**; 56: 243-246.

²⁵ Bergmann H., Blauhut B.: „*Klinische Relevanz der Mikroaggregate in der gelagerten Blutkonserve*“, *Infusionstherapie*, **1983**; 10: 246-249.

²⁶ Matthes G., Tofoté U.: „*Improved red cell quality after erythroplasmapheresis with MCS 3p*“, *Journal of Clinical Apheresis* **1994**; 9:183-188.

²⁷ Regan F., Teesdale P.: „*Comparison of in vivo red cell survival of donations collected by Haemonetics MCS versus conventional collection*“, *Transfusion Medicine* **1997**; 7: 25-28.

²⁸ Bäumler H., Radtke H., Franz B., Tofoté U., Pawlow I., Kiesewetter H.: „*Comparative investigation of quality of erythrocyte concentrates in preservation media SAG-M, PAGGS-M and Adsol without and with leukocyte depletion*“, *Beitr. Infusionstherapie und Transfusionsmedizin*, **1997**; 34: 58-62.

²⁹ Matthes G., Tofoté U., Pawlow I.: „*Automated blood donation improves red cell quality*“, *DGTI-Kongress, Saarbrücken, Oktober 1994*.

³⁰ Zeiler T., Kretschmer V.: „*Automatisierte Blutkomponentensammlung mit der MCS 3p*“, *Beitr. Infusionstherapie Transfusionsmedizin*, Basel, Karger **1996**; 33: 145-149.

³¹ Elfath M., Whitley P., Sawyer S.: „*In vivo and in vitro quality of red cells collected by apheresis using the MCS+ machine and stored for 42 days*“, *World Apheresis Association, 6th International Congress, Florenz November 1996*.

³² Zeiler T.A., Kretschmer V.: „*Automated blood component collection with the MCS 3p cell separator: evaluation of three protocols for buffy coat-poor and white cell-reduced packed red cells and plasma*“, *Transfusion* **1997**; 37:791-79.

³³ Meyer D., Bolgiano D.C., Sayers M., Price T., Benson D., Slichter S.J.: „*Red cell collection by apheresis technology*“, *Transfusion* **1993**; 33 (10): 819-824.

³⁴ Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer: „*Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion*“, *Deutscher Ärzteverlag, Köln, 1996*.

³⁵ Ericson A., Verdier C.H.: „*A modified method for the determination of 2,3-diphosphoglycerate in erythrocytes*“, *Scand J Clin Lab Invest*, **1972**; 29: 84-90.

³⁶ Jaworek D., Gruber W., Bergmayer H.U.: „Adenosin-5-Phosphat-Bestimmung mit 3-Phosphoglycerat-Kinase“, in: Bergmayer H.U. (Hrsg.) „Methoden der enzymatischen Analyse“, 3. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim, **1974**:2147-2151.

³⁷ „CAMI Capillary Anemometer User's Guide“, KK Technology, Braeside, Axminster, Devon, England, **1997**.

³⁸ Grehn J. (Hrsg.): „Metzler Physik“, J.B. Metzlersche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, **1984**.

³⁹ Jung F., Wappler M., Nüttgens H.P., Kiesewetter H., Wolf S., Müller G.: „Zur Methodik der Videokapillaroskopie: Bestimmung geometrischer und dynamischer Parameter“, *Biomedizinische Technik*, **1987**; 32: 204-213.

⁴⁰ Jung F., Toonen H., Mrowietz C., Wolf S., Kiesewetter H., Wenzel E., Gersonde K., Müller G.: „Fehleranalyse, biologische Einflußfaktoren und Varianz der periungualen Videokapillarmikroskopie“, *Biomed. Technik*, **1990**; 35: 195-204.

⁴¹ Stangel W.: „Gewinnung, Konservierung, Lagerung von Transfusionsblut“, in: Mueller-Eckhardt C. (Hrsg.) „Transfusionsmedizin“, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokio, **1996**.

⁴² Guppy M., Attwood P.V., Hansen I.A., Sabaratnam R., Frisina J., Whisson M.E.: „pH, temperature and lactate production in human red blood cells: implications for blood storage and glycolytic control“, *Vox Sang.*, **1992**; 62: 70-75.

⁴³ Voet D., Voet J.G.: „Biochemie“, VCH, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, **1994**.

⁴⁴ Dubinsky W.P., Racker E.: „The mechanism of lactate transport in human erythrocytes“, *J. Membrane Biol.*, **1978**; 44: 25-36.

⁴⁵ Schmitt H.J., Götz E.: „Metabolische Störungen durch Bluttransfusionen“, *Infusionstherapie*, **1988**; 15: 254-260.

⁴⁶ Valtis D.J., Kennedy A.C.: „*Defective gas-transport function of red blood cells*“, *Lancet*, **1954**; 119.

⁴⁷ Chanutin A., Curnish R.R.: „*Effects of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes*“, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1976**; 121: 96.

⁴⁸ Oski F.A., Travis S.F., Miller L.D., Delivoria-Papadopoulos M., Cannon E.: „*The in vitro restoration of red cell 2,3-Diphosphoglycerate levels in banked blood*“, *Blood*, **1971**; 37 (1): 52-58.

⁴⁹ Wood L.A., Beutler E.: „*The effect of periodic mixing on the preservation of 2,3-DPG levels in stored blood*“, *Blood*, **1973**; 42 (1):17-25.

⁵⁰ von Eisenhart-Rothe B., Dominka T., Rödiger W., Ganschow I., Ivens B., Reckhaus M.-L., Renner V., Wirsig H.-W.: „*Sauerstoffaffinität und Regenerationsfähigkeit in SAG-M und PAGGS-M gelagerter Erythrozyten*“, *Beitr. Infusionsther.*, Basel Karger, **1992**; 30: 136-139.

⁵¹ Dern R.J., Brewer G.J., Wiorkowski J.J.: „*Studies on the preservation of human blood. II. The relationship of erythrocyte adenosine triphosphate levels and other in vitro measures to red cell storageability*“, *J. Lab. & Clin. Med.*, **1967**; 69 (6): 968-978.

⁵² Haradin A.R., Weed R.I., Reed C.F.: „*Changes in physical properties of stored erythrocytes*“, *Transfusion*, **1969**; 9 (5): 229-237.

⁵³ Horne W.C.: „*Molecular mechanisms of the red cell storage lesion*“, *Plasma Ther. Transfus. Technol.*, **1988**; 9: 259-273.

⁵⁴ Ernst E.: „*Hämorrhologie Theorie, Klinik, Therapie*“, Schattauer Verlag, Stuttgart, **1989**.

⁵⁵ Schrier S.L., Hardy B., Bensch K., Junga I., Krueger J.: „*Red blood cell membrane storage lesion*“, *Transfusion*, **1979**; 19 (2): 158- 165.

⁵⁶ von Eisenhart-Rothe B., Ganschow I., Dominka T., Kühnl P.: „Vergleich der erythrozytären Konzentrationen von ATP, ADP, AMP und 2,3-BPG bei Lagerung in fünf verschiedenen additiven Lösungen und in Serum“, *Beitr. Infusionther.*, Basel Karger, **1992**; 30: 131-135.

⁵⁷ Klinker R., Silbernagl S.: „Lehrbuch der Physiologie“, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, **1994**.

⁵⁸ Collins J.A., Simmons R.L., James P.M., Bredenberg C.E., Anderson R.W., Heisterkamp C.A.: „Acid base status of seriously wounded combat casualties: resuscitation with stored blood“, *Ann. Surg.*, **1971**; 173: 6.

⁵⁹ Högman C.F., de Verdier C.-H., Ericson A., Hedlund K., Sandhagen B.: „Effects of oxygen on red cells during liquid storage at + 4° C“, *Vox Sang.*, **1986**; 51: 27-34.

⁶⁰ Wallas C.H.: „Sodium and potassium changes in blood bank stored human erythrocytes“, *Transfusion*, **1979**; 19 (2): 210-215.

⁶¹ Schweizer O., Howland W.S.: „Potassium levels, acid balance and massive blood replacement“, *Anesthesiology*, **1962**; 23: 735.

⁶² Mansouri Taleghani B.: „Leukozytenfiltration vor der Lagerung: Verbesserung der hierdurch bedingten biochemischen und rheologischen Qualität von Vollblut und Erythrozytenkonzentraten“, *Habilitation*, Med. Fak. Würzburg, **2000**.

⁶³ Knight J.A., Woorhees R.P., Martin L., Anstall H.: „Lipid peroxidation in stored red cells“, *Transfusion*, **1992**; 32: 347-357.

⁶⁴ Hershko C.: „Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage“, *Seminars in Hematology*, **1989**; 26 (4): 277-285.

⁶⁵ Bocci V., Pessina G.P., Paulesu L.: „*Studies of factors regulating the ageing of human erythrocytes. III. Metabolism and fate of erythrocytic vesicles*“, *Int. J. Biochem.*, **1980**; *11*: 139-142.

⁶⁶ Greenwalt T.J., McGuinness C.G., Dumaswala U.J.: „*Studies in red blood cell preservation: 4. Plasma vesicle hemoglobin exceeds free hemoglobin*“, *Vox Sang.*, **1991**; *61*: 14-17.

⁶⁷ Dumaswala U.J., Greenwalt T.J.: „*Human erythrocytes shed exocytic vesicles in vivo*“, *Transfusion*, **1984**; *24*: 490-492.

⁶⁸ Heaton W.A.L., Holme S., Smith K., Brecher M.E., Pineda A., Aubuchon J.P., Nelson E.: „*Effects of 3-5 log₁₀ pre-storage leucocyte depletion on red cell storage and metabolism*“, *British Journal of Haematology*, **1994**; *87*: 363-368.

⁶⁹ Vorstand und wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer: „*Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten*“, *Deutscher Ärzteverlag*, Köln, **1995**.

⁷⁰ Johnson P.C., Wayland H.: „*Regulation of blood flow in single capillaries*“, *Amer. J. Physiol.*, **1967**; *212*: 1405-1415.

⁷¹ Driessen G. K., Heidtmann H., Schmid-Schönbein H.: „*Effect of hemodilution and hemoconcentration on red cell flow velocity in the capillaries of the rat mesentery*“, *Pflügers Archiv*, **1979**; *380*: 1-6.

⁷² Bollinger A., Butti P., Barras J.-P., Trachsler H., Siegenthaler W.: „*Red blood cell velocity in nailfold capillaries of man measured by a television microscopy technique*“, *Microvascular Research*, **1974**; *7*: 61-72.

⁷³ Meier B., Mahler F., Bollinger A.: „*Blutflußgeschwindigkeit in Nagelfalzkapillaren bei Gesunden und Patienten mit vasospastischen und organischen akralen Durchblutungsstörungen*“, *VASA*, **1978**; *7* (2): 194-198.

⁷⁴ Mahler F., Bollinger A.: „*Flow velocity and pressure patterns in human nailfold capillaries*“, *Bibliotheca anatomica*, Karger Basel, **1981**; No. 20: 667-670.

⁷⁵ Gaethgens P.: „*Distribution of flow and red cell flux in the microcirculation*“, *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, **1981**; 41 (Suppl. 156): 83-87.

⁷⁶ Gaethgens P.: „*Mikrorheologie des Blutes in Kapillaren*“, *Arzneimittel-Forschung/Drugs Res.*, **1981**; 31 (11a): 1995-1998.

⁷⁷ Ehrly A.M., Landgraf H.: „*Therapeutische Beeinflussung der gestörten Sauerstoffversorgung des Gewebes bei Mikrozirkulationsstörungen*“, *Therapiewoche* **1983**; 33: 824-830.

⁷⁸ Schmid-Schönbein H., Wells R.E.: „*Rheological properties of human erythrocytes and their influence upon the „anomale“ viscosity of blood*“, *Ergebn. Physiol.* **1971**; 63: 145-219.

⁷⁹ Butti P., Fagrell B., Fronck A., Intaglietta M.: „*The response of blood flow velocity in finger nailfold capillaries to contralateral cooling*“, *Int. Journal of Microcirculation: Clinical and Experimental*, **1982**; 1: 19-27.

⁸⁰ Richardson D.: „*Relationship between digital artery and nailfold capillary flow velocities in human skin*“, *Microcirculation* **1982**; 2(3): 283-296.

Dank

Herrn Prof. Dr. D. Wiebecke danke ich für die interessante Themenstellung und die Möglichkeit zur Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Priv.-Doz. Dr. B. Mansouri Taleghani möchte ich herzlich für seine ständige Diskussionsbereitschaft während der experimentellen Durchführung dieser Arbeit sowie für sein großes Engagement beim Korrekturlesen danken.

Herrn Priv.-Doz. Dr. R. Langer, Frau S. Emmert und Frau A. Elter danke ich für die gute Zusammenarbeit sowie die zuverlässige und unkomplizierte Hilfestellung bei allen Problemen, die während der Arbeit im Labor aufgetaucht sind. Herrn Dr. A. Opitz danke ich für die stete Unterstützung bei allen Fragen rund um die Transfusionsmedizin.

Ein herzlicher Dank gebührt den Schwestern der Abteilung für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie, die die Probanden während der Blutspenden betreuten und mir jederzeit unterstützend zur Seite standen. Frau B. Lang und Frau E. Schön (Firma Haemonetics) danke ich für ihre engagierte Betreuung nicht nur bei technischen Fragen. Ebenso möchte ich den Mitarbeitern des Zentrallabors für die Durchführung der Blutanalysen danken.

Insbesondere danke ich Thomas für die gute Zusammenarbeit, das angenehme Arbeitsklima und die vielen aufmunternden Worte und Geschichten.

Ganz besonders danken möchte ich meinem Mann Jürgen und meinen Eltern, ohne deren Unterstützung und stete Ermutigung diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Ulrike Stephan, geb. Osswald
geboren am: 17.Mai 1974 in Worms
Familienstand: verheiratet
Eltern: Hans-Joachim Osswald, Vertriebsleiter
Elke Osswald, geb. Schmitt, Hausfrau

Schulbildung:

08/1980-07/1984 Kerschensteiner Grundschule, Worms-Horchheim
08/1984-06/1993 Eleonorengymnasium, Worms; Abschluss:
allgemeine Hochschulreife

Studium:

06/1993-05/1994 Medizinertest, Krankenpflegepraktikum im
Evangelischen Krankenhaus Hochstift, Worms
05/1994 Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
03/1996 Ärztliche Vorprüfung
03/1997 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
seit 03/1998 Dissertation in der Abteilung für
Transfusionsmedizin und Immunhämatologie
09/1999 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/1999-09/2000 Praktisches Jahr in den Fächern Innere Medizin
und Neurologie, Universitätsklinik Würzburg
Chirurgie: Chesterfield & North Derbyshire
Royal Hospital Trust, Chesterfield, England
11/2000 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
seit 15.01.2001 Ärztin, Innere Klinik II, Stadt Krankenhaus Worms

Mannheim, 03. August 2002