

# Immunmodulierende Effekte von nicht-leukozytendepletierten und leukozytendepletierten Eigenblutkonserven\*

## Immunomodulatory effects of non-leukocyte-depleted and leukocyte-depleted autologous blood

R. Karger, Ch. Weber, J. Schmidt und V. Kretschmer

Institut für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie, Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Marburg  
(Leiter: Prof. Dr. V. Kretschmer)

► **Zusammenfassung: Hintergrund:** Auf der Grundlage einer Reihe von In-vitro-Experimenten wird vermutet, dass die autologe Transfusion immunmodulierende Effekte haben könnte und dass diese Effekte durch die Leukozytendepletion (LD) verhinderbar sind. Klinische Studien mit Surrogat-Endpunkten zeigten widersprüchliche Ergebnisse, während Studien mit klinisch relevanten Endpunkten entweder zu klein waren oder ein suboptimales Design hatten, um diese Frage eindeutig zu beantworten.

**Methoden:** Teilnehmer einer randomisierten, multi-zentrischen Studie wurden untersucht. Bei den Patienten war ein Hüftgelenkersatz und eine präoperative Eigenblutspende (PEBS) von zwei oder mehr autologen Vollblutkonserven (AVB) geplant. Immunologische Parameter wurden unmittelbar vor der 1. Spende, am Tag vor der geplanten Operation und an den postoperativen Tagen 1, 5 und 10 untersucht.

**Ergebnisse:** Leukozyten- und Lymphozyten-Subpopulationen zeigten geringe Veränderungen nach der Spende und deutliche Veränderungen nach der Operation. Die Monozytenfunktion war nach der Spende leicht und nach der Operation erheblich eingeschränkt. Autologe Transfusionen kompensierten diesen Effekt geringfügig. LD resultierte nicht in signifikanten Veränderungen der untersuchten immunologischen Parameter.

**Schlussfolgerung:** Nach PEBS kommt es zu immunologischen Veränderungen, die hauptsächlich durch den Spendevorgang und den operativen Eingriff bedingt sind. Die autologe Transfusion zeigt nur diskrete Effekte, während die LD keinen bedeutenden Einfluss auf diese Veränderungen zu haben scheint.

► **Schlüsselwörter:** Eigenblutkonserven – Immunmodulierende Effekte.

► **Summary: Background:** On the basis of a number of in-vitro experiments it has been suggested that autologous blood transfusion might lead to immunomodulation, and that this effect might be prevented by leukocyte depletion (LD). Clinical studies with surrogate endpoints have shown conflicting results, while studies documenting clinically relevant out-

comes were either too small or methodologically suboptimal to resolve the matter.

**Methods:** Participants in a randomized multicentre trial were studied. The patients were scheduled for elective total hip arthroplasty and preoperative autologous blood donation (PABD) of 2 or more autologous whole blood (AWB) units. Immunological parameters were investigated prior to the first donation, on the day before surgery and on days 1, 5, and 10 after surgery.

**Results:** Leukocyte and lymphocyte subsets showed slight changes after donation and considerable changes after surgery. Monocyte function was slightly suppressed following donation, and substantially impaired after surgery. Transfusion counteracted this effect to a small degree, but LD did not produce any significant changes in the immunological parameters investigated.

**Conclusion:** The immunological changes that occur following PABD can be attributed mainly to the donation process and surgery. Autologous transfusion has only a minor effect; while LD does not appear to impact substantially on these changes.

► **Keywords:** Autologous Blood – Immunomodulatory Effects.

## Einleitung

Es wurde die Hypothese formuliert, dass die Transfusion autologen Blutes zu einer postoperativen Immunsuppression führen kann, ähnlich dem Effekt, der als transfusionsassoziierte Immunmodulation nach der Transfusion homologen Blutes auftritt. Es wird angenommen, dass die transfusionsassoziierte Immunmodulation zu einer erhöhten Rezidivrate nach kurativer Karzinom-Chirurgie, einer erhöhten Rate postoperativer infektiöser Komplikationen und sogar zu einer erhöhten postoperativen Mortalität führen kann [1, 2]. Während dieses Phänomen bei der homologen Transfusion vorwiegend den transfundierten Leukozyten und dem durch diese Zellen

\* Rechte vorbehalten

► induzierten antigenen Stimulus zugeschrieben wird, werden bei der autologen Transfusion andere Mechanismen vermutet, von denen die meisten gleichwohl auch mit der Transfusion der Leukozyten in Beziehung stehen. Als mögliche Mediatoren werden lösliche Moleküle der HLA-Klasse 1 und/oder Substanzen, die aus zerfallenden Leuko- und Thrombozyten freigesetzt werden, diskutiert.

Eine Fülle von möglichen bioaktiven Substanzen könnte hier eine Rolle spielen [3, 4]: Tumor-Nekrose-Faktor (TNF), Interleukin 1 und 6 (IL-1 und IL-6), Komplement-Faktor C3a, Histamin, Serotonin, Myeloperoxidase, eosinophiles kationisches Protein, eosinophiles Protein X, Plasminogenaktivator-Inhibitor 1 (PAI-1), vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF), Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Prostaglandin E2, Thromboglobulin, Plättchen-Faktor 4 (PF-4), Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) und andere. Zum Beispiel fanden Ghio et al. [5] erhöhte Konzentrationen von HLA-I- und Fas-Ligand-Antigenen in nicht leukozytendepletierten autologen Erythrozytenkonzentraten (EK) und konnten in vitro eine Inhibition antigen-spezifischer zytotoxischer T-Zell-Antworten, eine Inhibition autologer gemischter Lymphozytenkulturen und eine Induktion der Apoptose Fas-positiver Zellen durch diese Präparate nachweisen. In späteren Untersuchungen fand die gleiche Arbeitsgruppe TGF- $\beta$ 1 im Überstand nicht-leukozytendepletierter autologer EK, und mit diesem Überstand konnten Lokomotion und Chemotaxis autologer Leukozyten gehemmt werden [6]. Abgesehen von diesen In-vitro-Untersuchungen, gibt es auch klinische Studien zur Immunmodulation durch autologes Blut. Avall et al. [7] randomisierten Patienten, die sich einer Hüft-Prothesenimplantation unterzogen und Transfusionen erhielten, im Hinblick auf die Transfusion von entweder AVB oder buffy-coat-freien homologen EK. Sie untersuchten die Veränderung der Konzentration von Zytokinen und Komplementfaktoren nach Transfusion. Sie fanden einen Anstieg der Komplementkomponente C3a in beiden Gruppen, aber keine Veränderungen von C5a oder C5b-9-Komplex. Interessanterweise stiegen IL-

6 und IL-8 in der homolog transfundierten Gruppe stärker an, was die Autoren zu der Schlussfolgerung veranlasste, dass in dieser Gruppe die zelluläre Immunität offensichtlich supprimiert wurde. Allerdings konnten die Autoren keinen Vergleich mit nicht-transfundierten Patienten anstellen und somit fehlte ihnen ein Kontrollkollektiv, anhand dessen sie Ausgangswerte für die untersuchten Parameter hätten ermitteln können. Somit wären ihre Daten auch mit einem geringeren Anstieg der Interleukin-Konzentrationen in der autolog transfundierten Gruppe vereinbar, was eine Aktivierung des Immunsystems in dieser Gruppe bedeutet hätte. Als Avall et al. ihre Daten publizierten, galt das primäre wissenschaftliche Interesse aber der Immunsuppression durch homologe Transfusion, so dass die Autoren die alternative Erklärungsmöglichkeit für ihre Daten nicht in Betracht zogen. In einer anderen klinischen Studie mit einem ähnlichen Design untersuchten Frietsch et al. [8] ebenfalls immunologische Parameter, d. h. Surrogat-Endpunkte. Die Autoren randomisierten Patienten vor einem elektiven Hüftgelenkersatz, entweder nicht-leukozytendepletiertes AVB oder buffy-coat-freies autologes EK bei indizierter Transfusion zu erhalten. Die Phagozytose-Aktivität von Monozyten und Granulozyten wurde untersucht und ergab keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Es wurden noch nicht einmal Unterschiede gegenüber nicht transfundierten Patienten gefunden. Die Autoren schlossen aus ihren Untersuchungen, dass die autologe Transfusion keinen Einfluss auf die zelluläre Immunität habe. Zur Zeit existieren unseres Wissens nur drei klinische Studien, die klinisch relevante Endpunkte bei der Untersuchung von immunmodulatorischen Effekten der autologen Transfusion erhoben haben. Die Ergebnisse dieser Studien sind in [Tabelle 1](#) zusammengefasst. Die Studien waren entweder zu klein, um signifikante Unterschiede zwischen autologen Blutprodukten mit unterschiedlichem Leukozytengehalt aufzudecken [8, 9], oder das gewählte Studiendesign war nur bedingt geeignet, kausale Aussagen zu den immunmodulatorischen Effekten autologer Leukozyten zu erlauben [10]. ►

Tab. 1: Zusammenfassung der publizierten Studien mit klinisch relevanten Endpunkten.

Studie	Frietsch et al. [8]	Tasaki et al. [9]	Karger et al. [10]
Design	Randomisiert	Randomisiert	Vor/nach-Vergleich
Gruppen	Non-LD AWB vs. autologes EK*	Non-LD AWB vs. LD AWB	Non-LD AWB vs. autologes EK*
Patienten	25 / 24	21 / 13	120 / 52
Infektionen	0 / 0	0 / 0	10 (8.3 %) / 4 (7.7 %) ; n.s.†
Anmerkungen		Nur als Kongress-Abstract publiziert	Keine signifikanten Unterschiede auch für andere Komplikationen wie Thromboembolien oder Transfusionsreaktionen

\* buffy-coat-frei; † Unterschied nicht signifikant.

► Es wurde daher eine randomisierte, kontrollierte Studie mit einer genügend großen Patientenzahl initiiert, um signifikante Unterschiede in klinisch relevanten Endpunkten aufzudecken [11], deren vorläufige Ergebnisse in einem anderen Artikel in dieser Ausgabe von A & I dargestellt sind [Beitrag von Weiler-Lorentz und Frietsch (Seite S113)]. In der Untergruppe von Patienten, die im Studienzentrum der Philipps-Universität Marburg rekrutiert wurden, wollten wir untersuchen, welchen Effekt die Leukozytendepletion von AVB auf immunologische Parameter der Patienten hat, wenn man weitere relevante Faktoren wie Spendephase, Anästhesie und Operation, und die Transfusion an sich mit in Betracht zieht.

## Patienten und Methoden

Die Studie wurde von der lokalen Ethik-Kommission genehmigt. Bei allen Patienten war die Spende von zwei Einheiten AVB zu je 500 ml im Abstand von 7 Tagen, vor einem geplanten elektiven Hüftgelenkersatz vorgesehen. Die erste Spende fand gewöhnlich 3-5 Wochen vor dem geplanten Operationstermin statt, um dem Patienten Gelegenheit zu geben, seinen Hämoglobinwert in den mindestens 2 Wochen nach der letzten Spende bis zur Operation möglichst zu normalisieren. Alle Patienten bekamen orales Eisen verschrieben und wurden intensiv dazu angehalten, eine Dosis von 150 mg täglich bis zum Operationstermin einzunehmen.

## Laboruntersuchungen

Die Laboruntersuchungen wurden an Blutproben durchgeführt, die zu fünf verschiedenen Zeitpunkten abgenommen wurden: 1. unmittelbar vor der ersten Eigenblutspende, 2. am Tag vor der geplanten Operation, und 3.-5. an den postoperativen Tagen 1, 5 und 10. Wir bestimmten Leukozyten- und Lymphozyten-Subpopulationen. Außerdem wurde die TNF-Sekretion von Monozyten nach Stimulation mit Lipopolysaccharid (LPS) sowie die Sekretion der Zytokine Interleukin 2 (IL-2), IL-4, IL-10 und Interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) nach Stimulation der Lymphozyten mit entweder Concanavalin A (ConA) oder Phytohämagglutinin (PHA) untersucht. Die genauen Untersuchungsbedingungen sind an anderer Stelle ausführlich dargestellt [12] und werden hier kurz skizziert:

Die Leukozyten- und Lymphozyten-Subpopulationen wurden mit einem Durchflusszytometer analysiert (FACSCalibur, Becton Dickinson, Heidelberg). CD3+/CD4+-Zellen (T Helfer-Zellen), CD3+/CD8+-Zellen (zytotoxische T-Zellen), CD3-/CD19+-Zellen (B-Lymphozyten), und CD3-/CD16/56+-Zellen (NK-Zellen) wurden identifiziert.

Die Stimulation der Monozyten und Lymphozyten erfolgte in einem Vollblut-Zellkultur-System [13] bei

37 °C in feuchter, mit 5 % CO<sub>2</sub> angereicherter Atmosphäre in Flachboden-Mikrotiterplatten für Suspensionskulturen (Greiner, Frickenhausen). Die Monozyten wurden für 24 Stunden nach Hinzufügen von LPS (von Salmonella minnesota, Sigma, Taufkirchen) in einer Endkonzentration von 0.1  $\mu$ g/ml inkubiert. Die Lymphozyten wurden entweder mit ConA (Sigma, Taufkirchen) oder PHA (Sigma, Taufkirchen) in einer Endkonzentration von 5.0  $\mu$ g/ml bzw. 2.5  $\mu$ g/ml stimuliert und ebenfalls für 24 Stunden inkubiert.

Nach Inkubation wurden die Mikrotiterplatten zentrifugiert und Plasmaüberstand bis zur Bestimmung der freigesetzten Zytokine bei -70 °C gelagert. Die Zytokinbestimmungen erfolgten mit kommerziell erhältlichen ELISAs (Human OptEIA ELISA Sets; BD Biosciences PharMingen, Heidelberg). Die erhaltenen Rohdaten wurden auf eine Zytokin-Konzentration pro 10<sup>6</sup> Monozyten (für TNF) oder 10<sup>6</sup> Lymphozyten (für IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4 und IL-10) umgerechnet.

## Statistische Analyse

Die Veränderungen der untersuchten immunologischen Variablen im Zeitverlauf wurden mit einem generalisierten linearen Regressionsmodell für Longitudinaldaten [14] analysiert. Die Verwendung eines solchen Modells erlaubt es, die zeitlichen Veränderungen der Faktoren, von denen man annimmt, dass sie immunologische Variablen beeinflussen, in der Analyse zu berücksichtigen.

## Ergebnisse

Für eine Gruppe von 40 Patienten konnten wir die immunologischen Parameter an allen 5 festgelegten Untersuchungstagen analysieren. Wir untersuchten außerdem eine randomisiert ausgewählte Kontrollgruppe von 18 Patienten, die im Studienverlauf nicht transfundiert worden waren. Die Studienpopulation für diese In-vitro-Untersuchung bestand also aus insgesamt 58 Patienten. Ihre demografischen Charakteristika sind in [Tabelle 2](#) dargestellt. Um zu demonstrieren, dass die primäre Randomisation erfolgreich gewesen war, wurden die Daten für die nicht-leukozytendepletiert und die leukozytendepletiert transfundierten Patienten getrennt aufgeführt. Es lässt sich erkennen, dass diese beiden Gruppen sehr gut vergleichbar sind und keine nennenswerten Unterschiede in den untersuchten demografischen Daten aufweisen. Damit dürfte die Randomisierung selbst einer solch relativ kleinen Untergruppe erfolgreich durchgeführt worden sein. Die Kontrollgruppe unterscheidet sich allerdings von den beiden transfundierten Gruppen deutlich in Bezug auf die Geschlechterverteilung. Es ist offensichtlich, wenn ►

Tab. 2: Demografische Charakteristika der Patientengruppen.

	Nicht transfundiert	Transfundiert	
		LD AWB	Non-LD AWB
N	18	22	18
Alter*	58 (10)	58 (10)	62 (8)
Geschlecht* männlich / weiblich	12 / 6	9 / 13	5 / 13
ASA-Score* 1 / 2 / 3	4 / 12 / 1	6 / 13 / 3	2 / 14 / 2
Body mass index*	27.1 (2.8)	26.2 (3.7)	26.6 (3.8)
Hämoglobin vor Spende* (g/dl)	14.8 (1.3)	14.6 (1.0)	14.2 (0.7)
Hämoglobin vor Op.* (g/dl)	13.5 (1.6)	13.0 (1.2)	12.6 (0.8)

Daten dargestellt als \*Mittelwert (Standardabweichung) oder \*Anzahl.

► auch wenig überraschend, dass in der nicht-transfundierten Gruppe der Anteil der Männer den der Frauen bei weitem übersteigt, während in den transfundierten Gruppen das Verhältnis umgekehrt ist. Dies hat uns veranlasst, in das verwendete Regressionsmodell das Geschlecht als weiteren Faktor aufzunehmen, um etwaige Verzerrungen zu berücksichtigen, die durch die Unterschiede im Geschlechterverhältnis der verschiedenen Patientengruppen bedingt sein könnten.

Leukozyten- und Lymphozyten-Subpopulationen: In dem verwendeten Regressionsmodell wurde immer der Einfluss von 5 Faktoren auf Veränderungen immunologischer Parameter im Verlaufe von PEBS und Operation untersucht: 1. autologe Spende, 2. Operation, 3. Transfusion, 4. Leukozytendepletion, 5. Geschlecht. Der relative Anteil eines jeden dieser Faktoren an den Veränderungen der Leukozyten- und Lymphozyten-Subpopulationen im Zeitverlauf ist in **Tabelle 3** dargestellt. Die Zeichen in den einzelnen

Zellen repräsentieren jeweils Vorzeichen und Ausmaß der statistischen Signifikanz des Regressionskoeffizienten für einen immunologischen Parameter und den ihn beeinflussenden Faktor. Ein Plus-Zeichen zeigt einen Anstieg eines immunologischen Parameters an, wenn der entsprechende Faktor vorliegt, ein Minus-Zeichen bedeutet einen Abfall dieses Parameters. Beim Geschlecht bedeutet das Plus-Zeichen, dass ein Parameter bei Frauen im Vergleich zu Männern ansteigt. Eine leere Zelle bedeutet einen p-Wert von  $> 0.1$ . Ein Vorzeichen in Klammern bedeutet einen p-Wert von  $> 0.05$  und  $\leq 0.1$ , ein einfaches Vorzeichen bedeutet einen p-Wert von  $> 0.01$  und  $\leq 0.05$ , ein doppeltes Vorzeichen bedeutet einen p-Wert von  $\leq 0.01$ . Das „++“ in der Zelle, wo sich die Reihe „Leukozyten“ mit der Spalte „Operation“ kreuzt, bedeutet zum Beispiel, dass die Operation zu einem Anstieg der Leukozytenzahl führte, der hoch signifikant war (in diesem Fall  $p < 0.0001$ ). Alle Faktoren wurden im Regressionsmodell mit 0 oder 1 kodiert, je nachdem ob ein Faktor an einem bestimmten Untersuchungstag vorhanden war oder nicht, mit Ausnahme des Faktors „Transfusion“, der mit 0, 1 oder 2 kodiert wurde, je nach Zahl der vor einem Untersuchungstag transfundierten AVB-Einheiten. Eine nützliche und praktische Konsequenz dieser Kodierung ist, dass der p-Wert für einen Faktor i. Allg. auch das Ausmaß des Einflusses dieses Faktors auf den jeweiligen immunologischen Parameter reflektiert, d. h. je kleiner der p-Wert, umso größer ist der Einfluss eines Faktors auf einen immunologischen Parameter. Es lässt sich aus **Tabelle 3** entnehmen, dass die auffälligsten Änderungen der Leukozyten- und Lymphozyten-Subpopulationen durch die Operation zustande kamen, gefolgt von Spende, Transfusion und Geschlecht. Die Leukozytendepletion hatte auf keinen der Parameter einen signifikanten Einfluss.

Stimulationsuntersuchungen: Die Ergebnisse der Stimulationsexperimente sind in **Tabelle 4** dargestellt. Die autologe Spende führte zu einer leichten Verminderung der Monozyten-Funktion, während die Zytokin-Sekretion der Lymphozyten tendenziell ►

Tab. 3: Veränderungen von Leukozyten- und Lymphozyten-Subpopulationen während Spende und stationärem Aufenthalt.

	Spende	Operation	Transfusion	LD	Geschlecht
Leukozyten (10 <sup>9</sup> /μL)		++			
Granulozyten (%)		++			-
Lymphozyten (%)		--			++
Monozyten (%)			++		-
T-Lymphozyten (%)	++				(-)
B-Lymphozyten (%)	++	++	-		
NK-Zellen (%)	--	--			-
T-Helferzellen (%)	++	+	++		+
Zytotoxische T-Zellen (%)	-				

Tab. 4: Veränderungen der stimulierten Zytokin-Sekretion von Monozyten und Lymphozyten während Spende und stationärem Aufenthalt.

	Spende	Operation	Transfusion	LD	Geschlecht
TNF	-	--	++		
IL-2 (PHA)	+	(-)			(-)
IL-2 (ConA)	++	--			
IFN- $\gamma$ (PHA)			(-)		
IFN- $\gamma$ (ConA)	(+)	-			
IL-4 (PHA)		-			
IL-4 (ConA)	(+)	-			
IL-10 (PHA)			(-)		(-)
IL-10 (ConA)	(+)	-	(-)		-

gesteigert wurde. Dieser Effekt war besonders deutlich nach Stimulation mit ConA erkennbar. Im Gegensatz dazu führte die Operation zu einer generellen Suppression der Zytokin-Sekretion der Lymphozyten. Darüber hinaus wurde die durch die Spende bereits eingeschränkte Monozyten-Funktion durch die Operation nochmals erheblich beeinträchtigt. Die Transfusion hatte, abgesehen von einem die Wirkung von Spende und Operation ausgleichenden positiven Einfluss auf die Monozyten-Funktion, nur fragliche immunsuppressive Wirkungen. Der Einfluss des Geschlechts war noch geringer. Leukozyten-depletion führte wiederum zu keinen signifikanten Veränderungen der stimulierten Zytokin-Sekretion von Monozyten oder Lymphozyten.

## Diskussion

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass im Zeitverlauf von PEBS, Operation und postoperativem Krankenhausaufenthalt erhebliche Veränderungen immunologischer Parameter auftraten. Während der Phase der Spenden sank die Zahl der NK-Zellen ab, ein Befund, der auch in einer früheren Untersuchung bereits festgestellt wurde [15]. In unserer Untersuchung fand sich darüber hinaus ein relativer Anstieg der T-Helfer- und B-Lymphozyten. Bei einer Untersuchung einer größeren Patientenzahl mit Fokussierung auf die Veränderungen während Eigenblutspende konnten wir außerdem signifikante Veränderungen für fast alle Leukozyten- und Lymphozyten-Subpopulationen nachweisen [12]. Auf der funktionellen Ebene führte PEBS zu einer Suppression der LPS-stimulierten TNF-Sekretion von Monozyten. Dieser Effekt könnte von Bedeutung sein, da er eine noch deutlich stärkere, gleichsinnige Einschränkung der Monozyten-Funktion durch die Operation vorwegnimmt. Die relative Zunahme von B-Lymphozyten und Abnahme von NK-Zellen war auch ein deutlicher Effekt der Operation. Auf der anderen Seite führte die Operation zu einem absolu-

ten Anstieg der Granulozytenzahlen, wahrscheinlich als Ausdruck einer systemischen inflammatorischen Reaktion. Der operative Eingriff führte auch zu einer Suppression der Mitogen-stimulierten Zytokin-Sekretion von Lymphozyten. Die Transfusion autologen Vollbluts hatte nur geringfügige Veränderungen immunologischer Parameter zur Folge. Wir fanden einen Anstieg an T-Helferzellen und eine partielle Wiederherstellung der TNF-Sekretionskapazität der Monozyten. Die beobachteten immunologischen Veränderungen wurden außerdem geringfügig durch das Geschlecht der Patienten moduliert; dieser Einfluss war aber nur noch sehr diskret nachweisbar. Wurden all diese Einflussfaktoren berücksichtigt, spielte die Tatsache, ob die transfundierten AVB-Einheiten leukozytendepletiert waren oder nicht, keine messbare Rolle für die Veränderungen der gemessenen immunologischen Parameter.

Zusammengefasst zeigen die Daten dieser Studie, dass PEBS und Operation synergistisch die angeborene bzw. unspezifische Immunität supprimieren. Der Einfluss dieser Faktoren auf die zelluläre Immunität ist komplex und teilweise divergierend. Die autologe Transfusion ist von geringerer Bedeutung. Die klinische Relevanz dieser Befunde ist unklar, da der Nettoeffekt all der beobachteten Veränderungen derzeit nicht abgeschätzt werden kann. Hierfür sind weitere Untersuchungen notwendig. Eine Reihe weiterer Fragen bleibt unbeantwortet. Wir können nicht definitiv ausschließen, dass andere Faktoren, die sich zeitgleich mit der Eigenblutspende veränderten, die immunologischen Veränderungen, die wir der Spende zuschrieben, (mit)verursacht haben könnten. Allerdings sind uns keine solchen, im Rahmen dieser Studie nicht kontrollierten Faktoren bekannt, die ähnlich ausgeprägte Veränderungen, wie sie hier beobachtet wurden, hätten bewirken können. Ähnliches gilt für die Operation. Die Veränderungen zwischen dem unmittelbar präoperativen und den postoperativen Untersuchungstagen könnten natürlich nicht nur durch den postoperativen Eingriff selbst, sondern auch durch andere Maßnahmen wie präoperative Medikation, Anästhesie etc. verursacht worden sein. Da diese Maßnahmen aber mit dem operativen Eingriff untrennbar verbunden sind, ist diese Unterscheidung eher akademischer Natur und von nur geringer klinischer Relevanz. Eine weitere unbeantwortete Frage betrifft den Einfluss des Konservenalters zum Transfusionszeitpunkt auf die Immunität der Patienten [16]. Wir haben diese Frage in dieser Studie nicht untersucht, da aufgrund des zeitlichen Ablaufs von Spende und operativem Eingriff keine besonders große Variabilität im Alter der transfundierten Konserven zu erwarten war, so ▶

► dass wir davon ausgehen, dass diese Studie nicht die nötige Power besitzt, diese Frage zu beantworten. Offen bleibt ebenfalls die Frage, ob die immunologischen Veränderungen, die wir der Transfusion zugeschrieben haben, nicht eher durch die Umstände bedingt sind, die zur Transfusion führen, so dass die Transfusion nur eine mittelbare Ursache dieser Veränderungen darstellen würde. Und schließlich, wie bereits erwähnt, bleibt unklar, wie sich die beobachteten immunologischen Veränderungen zu klinisch relevanten Endpunkten, wie der Rate postoperativer Infektionen, verhalten. Die bereits erwähnte randomisierte Studie, von der die hier präsentierten In-vitro-Daten einen Teil darstellen, wird diese Frage möglicherweise beantworten.

Schlussfolgernd bleibt festzuhalten, dass PEBS und der darauf folgende operative Eingriff beträchtliche Veränderungen immunologischer Parameter nach sich ziehen. Die Hauptfaktoren sind (in dieser Reihenfolge): Anästhesie/Operation (Hüftgelenkersatz), autologe Spende, autologe Transfusion (Vollblut), Geschlecht. Leukozytendepletion spielt in diesem Zusammenhang keine Rolle.

#### Literatur

- Vamvakas EC, Blajchman MA.** Deleterious clinical effects of transfusion-associated immunomodulation: fact or fiction? *Blood* 2001;97:1180-1195.
- Blajchman MA, Dzik S, Vamvakas EC, Sweeney J, Snyder EL.** Clinical and molecular basis of transfusion-induced immunomodulation: summary of the proceedings of a state-of-the-art conference. *Transfus Med Rev* 2001;15:108-135.
- Nielsen HJ.** Clinical impact of bioactive substances in blood components. Implications for leukocyte filtration. *Infusionsther Transfusionsmed* 1998;25:296-304.
- Nielsen HJ.** Influence on the immune system of homologous blood transfusion and autologous blood donation: impact on the routine clinical practice/differences in oncological and non-tumour surgery? *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2000;35:642-645.
- Ghio M, Contini P, Mazzei C, Merlo A, Filaci G, Setti M, et al.** In vitro immunosuppressive activity of soluble HLA class I and Fas ligand molecules: do they play a role in autologous blood transfusion? *Transfusion* 2001;41:988-996.
- Ghio M, Ottonello L, Contini P, Amelotti M, Mazzei C, Indiveri F, et al.** Transforming growth factor- $\beta$ 1 in supernatants from stored red blood cells inhibits neutrophil locomotion. *Blood* 2003;102:1100-1107.
- Avall A, Hyllner M, Bengtson JP, Carlsson L, Bengtsson A.** Postoperative inflammatory response after autologous and allogeneic blood transfusion. *Anesthesiology* 1997;87:511-516.
- Frietsch T, Krombholz K, Tolksdorf B, Nebe T, Segiet W, Lorentz A.** Cellular immune response to autologous blood transfusion in hip arthroplasty: whole blood versus buffy coat-poor packed red cells and fresh-frozen plasma. *Vox Sang* 2001;81:187-193.
- Tasaki T, Tasaki S, Gotoh K, Satoh S, Takadate J, Tachibana M, et al.** The significance of prestorage leukoreduction of autologous blood. *Transfusion* 2003;43S:113A.
- Karger R, Stangenberg K, Hinrichs F, Griss P, Kretschmer V.** Safety and efficacy of unmodified whole blood versus buffy coat-depleted red cell concentrates in autologous transfusion of elective orthopaedic surgery patients. *Transfus Med* 2004;14:347-357.
- Frietsch T, Karger R, Kretschmer V, Tolksdorf B, Lorentz A.** How to store autologous blood - Invitation to participate in a prospective randomized double blind multicenter study (poster). Second Annual NATA Symposium Internationales Congress Centrum Berlin, 23.-24. April 2001.
- Karger R, Weber C, Schmidt J, Kretschmer V.** Characterisation of immune system alterations following preoperative autologous blood donation for elective hip replacement surgery. *Transfer Med* (in press).
- Wilson BMG, Severn A, Rapson NT, Chana J, Hopkins P.** A convenient human whole blood culture system for studying the regulation of tumour necrosis factor release by bacterial lipopolysaccharide. *J Immunol Methods* 1991;139:233-240.
- Fitzmaurice GM, Laird NM, Ware JH.** Applied longitudinal analysis. Hoboken: Wiley & Sons; 2004.
- Lange S, Riggert J, Humpe A, Dittmann J, Simson G, Köhler M.** Immunologische Auswirkungen der Blutspende. *Beitr Infusionsther Transfusionsmed* 1996;33:93-97.
- Mynster T.** Effects of red cell storage and lysis on in vitro cytokine release. *Transfus Apheresis Sci* 2001;25:17-23.

#### Korrespondenzadresse:

Dr. Ralf Karger, M.Sc.  
 Institut für Transfusionsmedizin und  
 Hämostaseologie  
 Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH  
 Standort Marburg  
 Conradstraße  
 D-35043 Marburg  
 Tel.: 06421 286-4486  
 Fax: 06421 7286-5655  
 E-Mail: karger@mail.uni-marburg.de