

Aus der Abteilung für Neonatologie
der medizinischen Fakultät Charité/Virchow Klinikum
der Humboldt-Universität zu Berlin

DISSERTATION

Hämatologische Referenzwerte von Frühgeborenen unter 1500 g Geburtsgewicht

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité
der Humboldt-Universität zu Berlin

von Katharina Diepold, Dipl.Biol/USA
aus Göttingen

Dekan: Prof. Dr. J. Dudenhausen

Gutachter:

1. Prof. Obladen
2. Prof. Grauel
3. Prof. Tolxdorff
4. Prof. Wernecke

eingereicht: August 1999

Datum der Promotion: 8.2.02

Zusammenfassung

Diagnostische und therapeutische Entscheidungen hängen bei der Behandlung von VLBW Frühgeborenen (<1500g Geburtsgewicht) von hämatologischen Werten ab. Allerdings gibt es in der Literatur kaum Referenzwerte für diese Gruppe von sehr unreifen Neugeborenen. Daher wurden vier prospektive Kohortenstudien retrospektiv zusammengefasst, um hämatologische Referenzwerte der ersten sechs Lebenswochen anhand dieser 562 VLBW Frühgeborenen zu erstellen. Mit Hilfe einer Metaanalyse wurde gezeigt, dass sich die Werte zwischen den Studien nicht signifikant unterscheiden. Zur Bestimmung der Werte von Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten, Retikulozyten, Ferritin wurden nur Kinder ohne Erythropoietinbehandlung hinzugezogen, für die Bestimmung der Werte von Thrombozyten, Leukozyten, Neutrophile wurden nur Kinder ohne Antibiotikabehandlung hinzugezogen. Hämoglobin-, Hämatokrit-, Erythrozyten-, Retikulozyten- und Ferritinwerte sind signifikant niedriger als die von Reifgeborenen. 29% aller VLBW Frühgeborenen haben eine Thrombozytopenie. Die Neutrophilenwerte nehmen ständig ab, nach 6 Wochen hatten 35% der Kinder Werte unter $1,79 \times 10^9/l$.

Schlagwörter:

VLBW Frühgeborene, hämatologische Referenzwerte, Metaanalyse, Transfusion

Abstract

In very low birth weight (VLBW) infants, diagnostic and therapeutic decisions depend on hematologic values. As few data are available, we studied the course during the first 6 weeks of life. Four prospective longitudinal cohort studies were retrospectively combined assessing hematologic profiles of 562 VLBW infants. We showed by metaanalysis that the values between the different four studies are not significantly different. For characterization of red blood cells and ferritin, infants receiving erythropoietin were excluded. For characterization of white blood cells and platelets, infants receiving antibiotics were excluded. Red cell parameters of VLBW infants were significantly lower than those of mature newborns. 29% of VLBW infants have thrombocytopenia at the age of 3 days. Neutrophils decreased steadily, and were $<1.75 \times 10^9/L$ in 35% at 6 weeks.

Keywords:

VLBW infants, hematologic reference values, metaanalysis, transfusion

Inhaltsverzeichnis

<u>1</u>	<u>EINLEITUNG</u>	<u>1</u>
1.1	HÄMATOPOESE <i>IN UTERO</i>	1
1.2	REFERENZWERTE FÜR REIFE NEUGEBORENE	3
1.2.1	ERYTHROPOESE	3
1.2.2	THROMBOPOESE	4
1.2.3	LEUKOPOESE	4
1.3	HÄMATOLOGISCHE BESONDERHEITEN BEI NEU- UND FRÜHGEBORENEN	5
1.3.1	ERYTHROPOESE	5
1.3.2	THROMBOPOESE	6
1.3.3	LEUKOPOESE	6
1.4	INTERPRETATION VON BLUTWERTEN BEI NEUGEBORENEN	7
<u>2</u>	<u>FRAGESTELLUNG</u>	<u>8</u>
<u>3</u>	<u>PATIENTENPOPULATION</u>	<u>9</u>
3.1	STUDIE 1 (EPO1)	11
3.2	STUDIE 2 (EPO2)	11
3.3	STUDIE 3 (EPO3)	11
3.4	ZUSÄTZLICH ERHOBENE DATEN (KAVH)	12
<u>4</u>	<u>METHODIK</u>	<u>12</u>
4.1	BEHANDLUNGSMETHODEN	12
4.2	LABORMETHODEN	12
4.3	AUSWAHL DER KINDER	13
4.4	GRENZWERTE	14
4.5	STATISTISCHE AUSWERTUNG	14

5	ERGEBNISSE	18
<hr/>		
5.1	WERTE AM TAG 3	18
5.1.1	ERYTHROPOESE	18
5.1.2	THROMBOPOESE	22
5.1.3	LEUKOPOESE	24
5.2	WERTE IM VERLAUF DER ERSTEN SECHS LEBENSWOCHEN	26
5.2.1	ERYTHROPOESE	26
5.2.2	THROMBOPOESE	31
5.2.3	LEUKOPOESE	32
5.3	METANALYSE	35
5.4	EINFLUSSGRÖßEN	37
5.4.1	TRANSFUSIONEN	37
5.4.2	IATROGENER BLUTVERLUST	38
5.4.3	ANTIBIOTIKA	40
5.5	VERÄNDERTE TRANSFUSIONSINDIKATION	42
6	DISKUSSION	43
<hr/>		
6.1	DESIGN- UND METHODENKRITIK	43
6.2	REFERENZWERTE AM TAG 2-4	44
6.2.1	ERYTHROPOESE	44
6.2.2	THROMBOPOESE	46
6.2.3	LEUKOPOESE	46
6.3	WERTE IM VERLAUF DER ERSTEN SECHS LEBENSWOCHEN	49
6.3.1	ERYTHROPOESE	49
6.3.2	THROMBOPOESE	50
6.3.3	LEUKOPOESE	50
6.4	EINFLUSSGRÖßEN	51
6.4.1	TRANSFUSIONEN	51
6.4.2	IATROGENER BLUTVERLUST	52
6.4.3	ANTIBIOTIKA	53
6.5	VERÄNDERTE TRANSFUSIONSINDIKATION	54

<u>7</u>	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>56</u>
<u>8</u>	<u>LITERATUR</u>	<u>58</u>
	<u>ANHANG</u>	<u>66</u>
	<u>DANKSAGUNG</u>	<u>67</u>
	<u>EIDESTÄTTLICHE ERKLÄRUNG</u>	<u>68</u>

Abkürzungsverzeichnis

EPO1	erste Erythropoietinstudie (Obladen 1991)
EPO2	zweite Erythropoietinstudie (Maier 1994)
EPO3	dritte Erythropoietinstudie (Maier 1998)
KI	Konfidenzintervall
G-CSF	granulocyte colony stimulating factor
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony stimulating factor
KAVH	Fälle aus dem Zeitraum zwischen EPO1 und EPO2
rhEPO	rekombinantes humanes Erythropoietin
VLBW	very low birth weight: Geburtsgewicht < 1500g

1 Einleitung

In den westlichen Industrienationen machen VLBW Frühgeborene etwa 1,5% aller lebendgeborenen Kinder, 40-55% der Säuglingssterblichkeit und mehr als die Hälfte aller Kinder auf Intensivstationen aus. Sehr häufig erfolgen Bluttransfusionen (Sacher 1989, Strauss 1991, Levy 1993, Hume 1997). Um für diese Kinder diagnostische und therapeutische Entscheidungen treffen zu können, werden hämatologische Werte hinzugezogen. Die Transfusionsindikation wird z.B. mit Hilfe von Hämoglobin- oder Hämatokritwerten gestellt. Zur Diagnose von Infektionen werden Leukozytenwerte oder ein Differentialblutbild hinzugezogen. Gleichzeitig sind diese infektionsdiagnostischen Parameter aufgrund der funktionellen Unreife VLBW Frühgeborener nur bedingt brauchbar. Umso erstaunlicher ist es, dass es nur wenige Studien mit geringen Fallzahlen über hämatologische Werte von Frühgeborenen gibt (Zaizov 1976, Haque 1991, Mouzinho 1994, Lackmann 1998). Dies mag daran liegen, dass VLBW Frühgeborene zumeist schwere prä- oder postnatale Erkrankungen haben, die die Erstellung von hämatologischen Referenzwerten erschweren. Außerdem können Blutentnahmen bei dem geringen Gesamtblutvolumen von VLBW Kindern nur in Grenzen vorgenommen werden. Die vorliegende Arbeit soll diese Forschungslücke schließen, indem aus einer Population von 562 VLBW Kindern hämatologische Referenzwerte erstellt werden (Obladen 2000).

Außerdem wird aufgrund der vorliegenden Daten dargestellt werden, dass die Indikation zu einer Transfusion von Erythrozytenkonzentrat bei VLBW Frühgeborenen in den letzten Jahren zunehmend enger gestellt wird. Bluttransfusionen sind für VLBW Frühgeborene häufig notwendig. Gleichzeitig gibt es zunehmend Bemühungen, die Anzahl der notwendigen Transfusionen auf ein Minimum zu reduzieren. Zum einen werden die Risiken einer Transfusion in den letzten Jahren immer größer eingeschätzt und es wird deswegen weniger transfundiert, zum anderen können neue Behandlungsmethoden die Zahl der notwendigen Transfusionen verringern (Strauss 1991, Maier 1994, Bifano 1995, Alagappan 1998).

1.1 Hämatopoese *in utero*

Wenn die O₂-Versorgung des Embryos per diffusionem nicht mehr ausreicht, beginnt die Entwicklung der Hämatopoese (Brown 1988). Die embryonale und fetale Hämatopoese lässt sich in drei Phasen einteilen: die megaloblastische, die hepatolienale und die myeloische Phase. Abbildung 1 stellt die drei Phasen mit den dazugehörigen Zentren der Blutbildung, sowie dem Zeitpunkt des ersten Auftretens der verschiedenen Zellreihen dar.

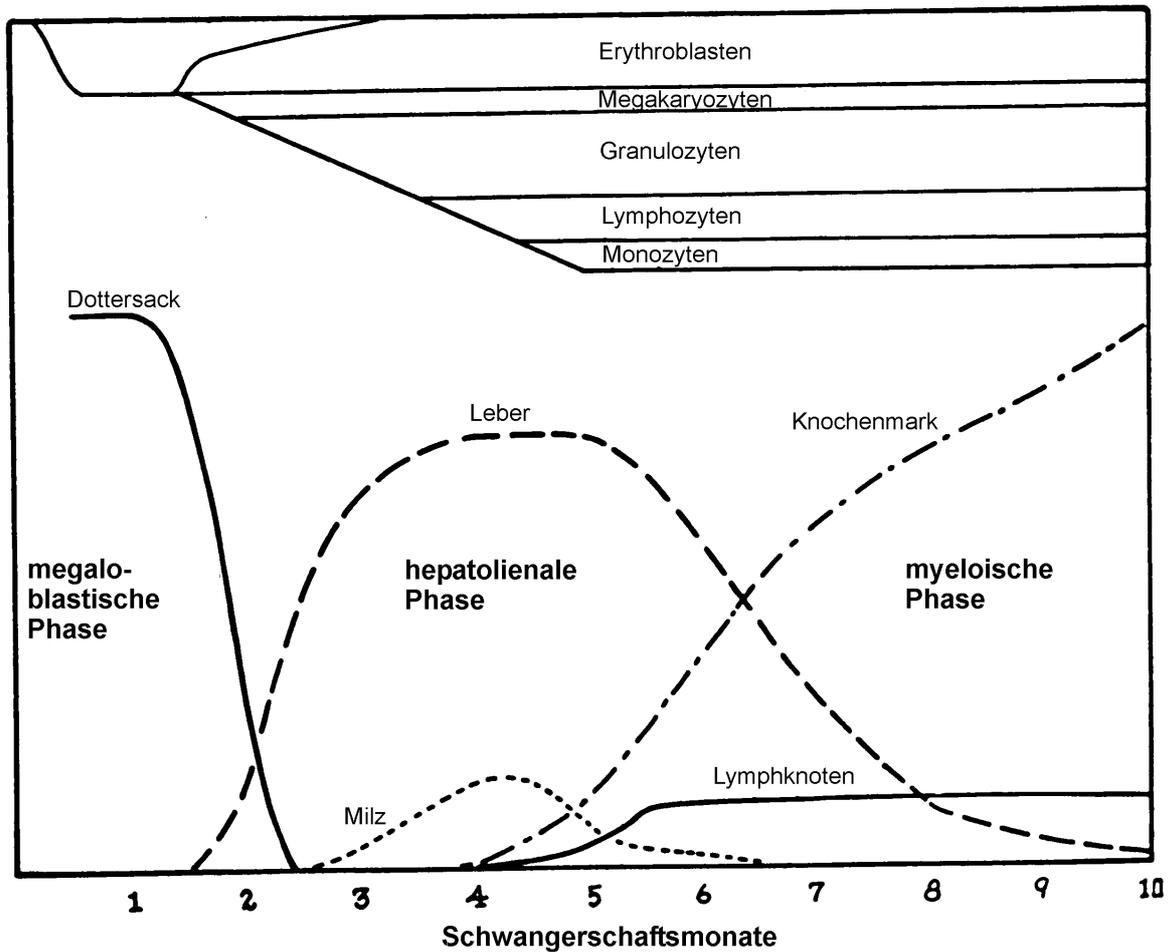


Abbildung 1: Stadien der Hämatopoese in utero (nach Oski 1982)

Die megaloblastische Phase beginnt ab dem 15. Gestationstag aus Zellen des Mesenchyms (Zon 1995). Im Dottersack finden sich Blutinseln, deren Zellen sich in zwei Richtungen weiterdifferenzieren: aus peripheren Zellen entstehen Angioblasten (primitive Gefäßwandzellen), zwischen denen Freiräume als Anlage der Strombahn bestehen. Aus der Vereinigung der verschiedenen Teilstücke geht der primitive Kreislauf hervor, in dem während der megaloblastischen Phase nur Zellen der Erythrozytenreihe zirkulieren. Diese entstehen aus den zentralen Anteilen der Blutinseln, den Hämozytoblasten (Bloom 1940). Ab dem 22. Gestationstag finden sich ähnliche Blutinseln auch im Mesoderm der Körperanlage. Die megaloblastische Hämatopoese bildet sich ab der 6. Woche zurück und ist nach dem 3. Monat nicht mehr nachzuweisen (Gilmour 1941)

Die **hepatolienale Phase** beginnt in der 5. Gestationswoche in der Leber, ist maximal im 3. bis 6. Schwangerschaftsmonat ausgeprägt und bis zur 1. Woche postnatal nachzuweisen. Das Mesenchym der Leber wird von Stammzellen aus den extraembryonalen Blutbildungsstätten besiedelt. In der Leber findet hauptsächlich die Erythrozytenbildung statt. So sind im 3. bis 5. Monat 50% aller kernhaltigen Zellen der Leber Erythrozytenvorstufen (Thomas 1964). Außer Erythroblasten finden sich in der Leber Vorläuferzellen von Granulozyten, Megakaryozyten und vereinzelt Lymphozyten, die teils in reifer, teils in unreifer Form ins Blut gelangen. Ab dem 4. Embryonalmonat entstehen in der Milz Zellen der Erythrozytenreihe. Für die Lymphopoese ist die Milz erst unmittelbar vor der Geburt zuständig. Im Thymus und in den Lymphknoten werden nach dem 6. Fetalmonat fast ausschließlich Lymphozyten produziert (Oski 1982).

Die **myeloische Phase** beginnt schon ab dem 3. Embryonalmonat im Schlüsselbein und wird ab dem 6. Monat quantitativ bedeutsam. Im dritten Trimenon findet die meiste Blutbildung im Knochenmark statt (Oski 1982).

1.2 Referenzwerte für reife Neugeborene

Im folgenden soll auf normale Blutwerte bei Neugeborenen eingegangen werden, um einen Vergleich zu den in dieser Studie erstellten Werten für VLBW Frühgeborene zu ermöglichen.

1.2.1 Erythropoese

Hämoglobinwerte direkt nach der Geburt werden aus dem Nabelschnurblut bestimmt, wobei das Hämoglobin im arteriellen Nabelschnurblut etwa 0,5 g/dl höher als im venösen ist (Chaplin 1961). Nach Oski und Naiman (1982) ist ein Mittelwert von 16,8 g/dl für reife Neugeborene normal. Die Werte für Hämatokrit, Erythrozyten und Retikulozyten betragen 53%, $5,25 \times 10^{12}/l$ und 3-7%. Ein ähnlicher Hämoglobinwert von 16,9 g/dl wurde von Blanchette und Zipsursky (1987) im Nabelschnurblut von gesunden, reifen Neugeborenen bestimmt. Am ersten Tag nach der Geburt ist insbesondere bei spät abgenabelten Kindern die Hämoglobinkonzentration, ebenso der Hämatokrit und die Erythrozytenzahl höher als direkt nach der Geburt (Usher 1963). Durch transplazentare Transfusion kommt es zu einer Volumenzunahme, die durch einen Abfall des Plasmavolumens wieder rückgängig gemacht wird und somit eine Polyglobulie hervorruft.

In den darauffolgenden Wochen fällt dann die Hämoglobinkonzentration langsam ab, bis sie bei reifen Säuglingen im Alter von 8 - 12 Wochen ihren Tiefstwert von $11,4 \pm 0,9$ g/dl erreicht (Stockman 1978). Dies wird als "physiologische Neugeborenenanämie" bezeichnet (Schulman 1959), die gesunde Neugeborene ohne medizinische Intervention gut tolerieren. Als Kompensation für niedrigere Hämoglobinwerte steigt mit dem Wechsel von HbF zu HbA_{2,3} DPG in den Erythrozyten. Dadurch wird die O₂-Abgabe in das Gewebe erhöht. Wie kommt es zu dieser Anämie? Durch den Übergang vom Plazentar- zum Lungenkreislauf ist der O₂-Partialdruck erhöht. Dadurch kommt es zu einer Abnahme der Erythrozytenproduktion mit einer Abnahme der Retikulozytenzahl. Die Hämoglobinkonzentration fällt im Rahmen der Neugeborenenanämie aufgrund einer verminderten Erythrozytenbildung, durch die kürzere Lebensdauer der fetalen Erythrozyten und das schnelle Körperwachstum. Retikulozytenzahlen reflektieren die Erythrozytenproduktion: kurz nach der Geburt sind 7% aller Erythrozyten Retikulozyten (Zaizov 1976), deren Zahl aber schon nach drei Tagen rapide abnimmt und während der ersten zwei Lebensmonate mit etwa 1% gering bleibt (Brown 1988). Es ist schwierig, bei Neugeborenen zwischen physiologischer und pathologischer Anämie zu unterscheiden, da bislang keine klinisch relevanten Parameter definiert sind, die eine therapiebedürftige Anämie kennzeichnen (Alverson 1995).

1.2.2 Thrombopoese

Bei Geburt ist die Thrombozytenzahl vergleichbar mit der von Erwachsenen. Thrombozytenzahlen unter $150 \times 10^9/l$ werden als pathologisch gewertet (George 1995): eine solche Thrombozytopenie kann bei Neugeborenen durch eine Reihe von Faktoren wie z.B. Infektionen, Atemnotsyndrom und andere Stresssituationen ausgelöst werden. Die Zahl der Megakaryozyten im Knochenmark unterliegt keinen großen Schwankungen (Carbonell 1982).

1.2.3 Leukopoese

Die Leukozyten sind direkt nach der Geburt mit $10,0 - 26,0 \times 10^9/l$ relativ hoch und fallen bis zum dritten Tag auf $5,0 - 14,5 \times 10^9/l$ ab (Oski 1982). Am ersten Tag überwiegen die neutrophilen Granulozyten, während der ersten Woche nehmen aber die Lymphozyten zu und stellen dann den größten Anteil der Leukozyten. Die Neutrophilenwerte unterliegen während der ersten Tage nach der Geburt großen Schwankungen (Strauss 1988). Bei reifen Neugeborenen kommt es zu einer transienten, physiologischen Neutrophilie, die vermutlich auf die hohe Aktivität von G-CSF zurückzuführen ist (Barak 1980).

1.3 Hämatologische Besonderheiten bei Neu- und Frühgeborenen

1.3.1 Erythropoese

Die bei Reifgeborenen beschriebene physiologische Säuglingsanämie ist bei Frühgeborenen noch ausgeprägter und wird daher "Frühgeborenenanämie" genannt. Diese Anämie kann nicht als physiologisch bezeichnet werden (Wardrop 1978). Frühgeborene können nicht im selben Ausmaß wie Reifgeborene den Hämoglobinabfall kompensieren und die Anämie kann sich z.B. durch Apnoen und Gedeihstörungen bemerkbar machen. Als Faktoren für die Frühgeborenenanämie sind zum einen die für die physiologische Neugeborenenanämie beschriebenen zu nennen. Zusätzlich kommen besonders bei VLBW Frühgeborenen verschiedene Faktoren hinzu, die das Ausmaß der Anämie beeinflussen. Bei sehr unreifen Frühgeborenen kann spätes Abnabeln und ein dadurch vergrößertes Blutvolumen eine Anämie vermindern (Kinmond 1993). Da VLBW Frühgeborene oft intensivmedizinisch behandelt werden müssen, kommt es zu einem beträchtlichen iatrogenen Blutverlust. Dies trifft insbesondere auf beatmete Kinder zu, da bei diesen häufige Blutgasanalysen vorgenommen werden müssen. Hinzu tritt die Tatsache, dass bei Frühgeborenen Erythropoietin hauptsächlich in der Leber hergestellt wird, der Wechsel von der hepatischen zur renalen Produktion findet erst um den Geburtstermin statt (Obladen 1995). Der O₂-Sensor der Leber scheint weniger sensibel auf Hypoxie als der O₂-Sensor der Niere zu reagieren, so dass Frühgeborene mit persistierender hepatischer Erythropoietinproduktion nur eingeschränkt auf Hypoxie mit erhöhter Erythropoietinproduktion und damit verbundener Erythrozytenproduktion reagieren können. Zusätzlich haben Frühgeborene gegenüber Reifgeborenen einen erniedrigten respiratorischen Quotienten und eine verminderte Stoffwechselrate. Durch Ernährungsdefizite kann die Frühgeborenenanämie verstärkt werden (Stockman 1978). Die wichtigsten Faktoren sind Mangel an Eisen, Vitamin E und Folsäure.

Prävention und Therapie der Frühgeborenenanämie stützen sich auf mehrere Ansätze. Es ist auf das genaue Monitoring von Blutentnahmen zu achten, bzw. diese sind auf ein Minimum zu reduzieren. Des Weiteren ist in Betracht zu ziehen, dass keine Eisen, Folsäure oder Vitamin E-Mangelzustände entstehen. Therapeutisch werden bei Bestehen einer schweren Anämie Erythrozytenkonzentrate transfundiert. In den letzten Jahren haben verschiedene Studien die Anwendung von rekombinantem Erythropoietin bei Frühgeborenen zur Vermeidung der Frühgeborenenanämie getestet (Maier 1994, Meyer 1994, Shannon 1995, Maier 1998). Es wurde gezeigt, dass durch die prophylaktische Gabe von Erythropoietin die Anzahl der Blut-

transfusionen bei Kindern mit Geburtsgewicht zwischen 1000 g und 1500 g signifikant herabgesetzt werden konnte.

1.3.2 Thrombopoese

In den ersten Lebenstagen kommt es bei kranken Frühgeborenen häufig zu einer Thrombozytopenie (Castle 1986). Bei der Mehrzahl dieser Kinder ist die Anzahl von zirkulierenden Megakaryozyten und Megakaryozytenvorläuferzellen deutlich reduziert (Murray 1996). Assoziiert ist dies in der Regel mit Schwangerschaftskomplikationen wie hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen oder Plazentainsuffizienz, so dass postuliert wird, dass es schon während der fetalen Entwicklung zu einer Störung der Thrombozytenproduktion kommt, deren Pathogenese aber nicht bekannt ist (Watts 1999).

Watts (1999) hat nachgewiesen, dass bei thrombozytopenischen Frühgeborenen die Thrombopoietinkonzentration invers mit der Thrombozyten- und Megakaryozytenvorläuferzellzahl korreliert ist. Jedoch steigt die Thrombopoietinkonzentration im Vergleich zu älteren thrombozytopenischen Kindern nur auf suboptimale Werte an. Ob dies an einer verringerten Produktion von Thrombopoietin in der Leber, dem Hauptproduktionsort von Thrombopoietin (Wolber 1999), liegt, ist bislang nicht bekannt.

Im Vergleich zu älteren Kindern und Erwachsenen ist die neonatale Hämostase durch eine reduzierte Reservekapazität beeinträchtigt (Kuhne 1998). Morphologisch und biochemisch sind neonatale Thrombozyten unreif und zeichnen sich durch eine Hyporeaktivität aus (Rajasekhar 1997). Dadurch kann es bei Neu- und besonders Frühgeborenen zu Blutungen kommen, die durch Risikofaktoren wie Asphyxie oder Infektionen verstärkt werden können.

1.3.3 Leukopoese

Neugeborene und besonders Frühgeborene sind im Gegensatz zu älteren Kindern und Erwachsenen nicht in der Lage, während akuter bakterieller Infektionen die Zahl der zirkulierenden Neutrophilen drastisch zu erhöhen. Dies erklärt die Neutropenie, die mit hoher Inzidenz und Mortalität bei neonataler Sepsis einhergeht (Al-Mulla 1995). Das Neugeborene kann seine Neutrophilenproduktion nicht ausreichend aus Vorläuferzellen stimulieren (Christensen 1986), ausserdem ist die Anzahl von Vorläuferzellen und gespeicherten Neutrophilen gegenüber älteren Kindern und Erwachsenen vermindert (Erdman 1982). Funktionelle Aktivitäten wie z.B. Adhärenz, Chemotaxis, Phagozytose neonataler Neutrophiler sind herabgesetzt (Anderson 1989). Die G-CSF Konzentration korreliert mit dem Gestationsalter und ist beson-

ders bei Frühgeborenen niedrig (Gessler 1993). Da dieses Zytokin die Plazentaschranke passieren kann, hat der Fetus eine ausreichende Granulopoese (Medlock 1993). Die postnatale Neutropenie kann erfolgreich mit GM-CSF therapiert werden (Cairo 1995, Carr 1999). Der Erfolg einer Behandlung mit G-CSF ist dagegen in Frage gestellt worden (Schibler 1998).

1.4 Interpretation von Blutwerten bei Neugeborenen

Die Blutwerte von Neugeborenen werden von verschiedenen Faktoren beeinflusst, die für eine korrekte Interpretation der Werte berücksichtigt werden müssen. Im folgenden soll auf einige dieser Faktoren eingegangen werden.

Linderkamp et al. (1977) untersuchten bei 92 Neugeborenen mit Gestationsalter zwischen 26 und 41 Wochen den venösen und kapillären Hämatokrit. Bei 89 Kindern war der kapilläre Hämatokrit höher als der venöse, dieser Unterschied war besonders deutlich bei Frühgeborenen, die unreifer als 30 Gestationswochen waren. Dieser Unterschied ist durch verminderte Perfusion und daraus resultierender Stase und Plasmatranssudation in peripheren Gefäßen zu erklären, die z.B. durch eine metabolische Azidose hervorgerufen werden kann. Bei Frühgeborenen unter 1500g konnte sogar nach 8 bis 10 Wochen noch ein Unterschied von 5% zwischen dem kapillären und dem venösen Hämatokrit und Hämoglobin festgestellt werden (Rivera 1982). Aus diesem Grund sollte kurz nach der Geburt eine venöse Blutentnahme zur Beurteilung der Hämoglobin- und Hämatokritwerte einer kapillären Blutentnahme vorgezogen werden, bzw. bei der Interpretation von Hämatokrit- und Hämoglobinwerten der Entnahmeort berücksichtigt werden. Auch bei der Interpretation des weißen Blutbildes sollte der Entnahmeort berücksichtigt werden. Leukozytenwerte einer venösen Blutprobe sind 82% derer einer kapillären, die arteriellen Werte sind sogar nur 77% die der kapillären (Christensen 1979).

Nach der Geburt konstringieren die Nabelarterien, die Nabelvenen dagegen bleiben offen, so dass Blut gemäß der Schwerkraft zum Neugeborenen fließen kann, wenn es unterhalb des Introitus vaginae gehalten wird. Bei vollständiger Entleerung der Plazentagefäße kann das Blutvolumen des Neugeborenen um bis zu 60% erhöht werden (Usher 1963, Yao 1969). Dadurch werden u.a. auch Hämoglobin-, Erythrozyten- und Hämatokritwerte beeinflusst. In der oben genannten Studie von Usher wird berichtet, dass Neugeborene, die spät, d.h. nach Sistieren der Nabelschnurpulsation, abgenabelt wurden, eine durchschnittliche Erythrozytenmasse von

49 ml/kg hatten. Neugeborene, die unmittelbar nach der Entwicklung abgenabelt wurden, hatten dagegen nur eine Erythrozytenmasse von 31 ml / kg Körpergewicht. Es wird deutlich, dass bei der Interpretation von Blutwerten von Neugeborenen der Zeitpunkt der Abnabelung zu berücksichtigen ist. In der Literatur ist kontrovers diskutiert worden, ob Frühgeborene sofort abgenabelt werden sollten (s. z.B. Peltonen 1981). In einer kontrollierten, prospektiven Studie zeigten Kinmond (1993), dass die Abnabelung nach erst 30 sec. sowie das Positionieren des Frühgeborenen 20 cm unterhalb des Introitus vaginae klinische und ökonomische Vorteile bringt und widerlegte somit die Annahme, dass besonders Frühgeborene von einer sofortigen Abnabelung profitieren.

Durch plazentare Transfusion unter und nach der Geburt kommt es zu einem Anstieg des Blutvolumens, das in den ersten Lebensstunden durch einen Abfall des Plasmavolumens reguliert wird, wobei das Erythrozytenvolumen konstant bleibt. So kommt es indirekt einige Stunden nach der Geburt zu einem Anstieg des Hämoglobins, des Hämatokrits und der Erythrozyten (Usher 1963). Diese Veränderungen treten in der Regel immer auf, ihr Ausmaß ist von der Menge der plazentaren Transfusion abhängig (Oh 1966). Pietra (1968) konnte im Elektronenmikroskop nachweisen, dass die Fenestrierungen im Epithel peripherer Kapillaren bei Kindern, die nach Sistieren der Nabelschnurpulsation abgenabelt wurden, stärker ausgebildet sind als bei Kindern, die sofort nach der Entwicklung abgenabelt wurden. Diese anatomische Beobachtung kann die verstärkte Plasmatrassudation bei ersteren erklären. Es wird deutlich, dass nach der Geburt Anpassungsvorgänge stattfinden, die die Werte für Hämatokrit, Hämoglobin und Erythrozyten beeinflussen. Bei der Interpretation dieser Werte in der neonatalen Periode muss die Blutentnahmezeit berücksichtigt werden.

Die Leukozytenwerte werden durch verschiedene Faktoren beeinflusst. Zu diesen Faktoren gehören maternale Einflüsse wie Hypertonus oder Fieber, perinatale Faktoren wie ein verlängertes Stadium I der Geburt, kindliche Faktoren wie intrakranielle Blutungen, Sepsis, Asphyxie und iatrogene Faktoren wie Steroidtherapie (Mouzinho 1994, Barak 1992).

2 Fragestellung

Wie in der Einleitung dargestellt, werden aus unterschiedlichen Gründen hämatologische Daten für VLBW Frühgeborene im klinischen Alltag benötigt. Man nimmt an, dass sich die hämatologischen Werte von VLBW Frühgeborenen von denen reiferer Frühgeborener und Reif-

geborener unterscheiden. Da es aber in der Literatur nur wenige Studien mit geringen Fallzahlen gibt, die sich speziell mit VLBW Frühgeborenen beschäftigen, sollen in dieser Arbeit die hämatologischen Werte von 562 VLBW Frühgeborenen in den ersten sechs Lebenswochen untersucht werden. Der Begriff "Referenzwerte" wird dem Begriff "Normalwerte" vorgezogen, da die hier erstellten Werte keine physiologischen Werte darstellen, sondern vielmehr durch den nichtphysiologischen Zustand dieser bis zu 16 Wochen zu früh geborenen Kinder beeinflusst werden. Es werden anhand der vorliegenden Daten Referenzwerte für Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten, Retikulozyten, Ferritin, Thrombozyten, Leukozyten und Neutrophile am 3. Lebenstag und im Verlauf der ersten sechs Lebenswochen erstellt.

Des Weiteren wird untersucht, wie diese Werte durch Transfusionen, iatrogenen Blutverlust oder die Gabe von Antibiotika beeinflusst werden, da diese drei Faktoren in der Behandlung von VLBW Frühgeborenen eine große Rolle spielen.

Es wird die Frage gestellt, ob sich im Zeitraum der Studien veränderte Transfusionsrichtlinien in den vorliegenden Daten widerspiegeln. Daher wird untersucht, ob sich die Werte von Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozyten über den untersuchten Zeitraum verringern. Hierzu wird die Population in drei Gruppen aus unterschiedlichen Jahren aufgeteilt und deren Werte verglichen.

3 Patientenpopulation

Die Daten dieser Untersuchung stammen zum Großteil aus drei großen multizentrischen Studien und wurden in insgesamt 19 europäischen Zentren erhoben. Im Rahmen dieser Studien, die den Effekt von rekombinantem Erythropoietin (rhEPO) zur Verringerung von Transfusionen bei VLBW Frühgeborenen untersuchten, wurden Daten von 492 VLBW Frühgeborenen erhoben. Die erste Studie (EPO 1) wurde in den Jahren 1989 und 1990, die zweite (EPO 2) in den Jahren 1991 und 1992 und die dritte (EPO3) im Jahr 1995 durchgeführt. Außerdem wurden für die Zeit zwischen der ersten und zweiten Studie die Daten von 70 Kindern erhoben, die zu dieser Zeit im Kaiserin-Auguste-Victoria Krankenhaus der Freien Universität Berlin behandelt wurden und die Einschlusskriterien für die Studien erfüllt hätten. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Gesamtpopulation und die einzelnen Untergruppen.

Tabelle 1: Charakteristika der Patientenpopulation am Tag 3

Zeitraum der Studie	EPO1 (1989-90)	KAVH (1990-91)	EPO2 (1991-92)	EPO3 (1994-95)	alle Kinder
lebend am Tag 3, n	122	108	598	267	1095
ausgeschlossen wegen					
- Polyzythämie	10	7	24	0	41
- hämolytischer Erkrankung	3	3	17	1	24
- Teilnahme an anderer Studie	22	0	9	9	40
- fehlende Einwilligung	14	0	155	34	203
- andere Gründe	6	28	152	39	225
Studienpopulation Tag 3, n	67	70	241	184	562
kein EPO	38	70	121	0	229
weiblich (%)	29 (43)	30 (42)	119 (49)	101 (55)	279 (50)
beatmet (%)	39 (58)	36 (50)	118 (49)	120 (66)	313 (56)
transfundiert (%)	18 (27)	42 (48)	45 (19)	80 (44)	185 (33)
antibiotisch behandelt (%)	45 (67)	62 (89)	194 (80)	173 (94)	474 (84)
Gestationsalter (kompl. Wochen)*	30 (29 - 31)	28 (27 - 30)	29 (27 - 31)	26 (25 - 28)	28 (27 - 30)
Geburtsgewicht (g)*	1240 (950 - 1390)	1130 (970 - 1320)	1183 (995 - 1340)	798 (676 - 898)	990 (849 - 1262)
beobachtet bis (Lebenstag)	25	42	42	42	

* Median (Quartilen)

3.1 Studie 1 (EPO1)

Ziel dieser randomisierten offen-kontrollierten Studie war es zu untersuchen, ob rekombinantes Erythropoietin die Frühgeborenenanämie und in Folge die Anzahl der Transfusionen verringern kann (Obladen 1991). In fünf europäischen Zentren von April 1989 bis Februar 1990 nahmen 67 Kinder mit einem Gestationsalter von 28-32 Wochen an der Studie teil. Die Ausschlusskriterien sind in Tabelle 1 dargestellt. Kinder der Erythropoietin-Gruppe erhielten 30 U/kg rhEPO subkutan ab dem 3. bis 5. Lebenstag jeden dritten Tag. Eine Eisensubstitution wurde ab dem 14. Tag mit 2mg eines oralen Eisenpräparates durchgeführt. Die Transfusionsindikation wurde nach einem vorgegebenen Schema gestellt.

3.2 Studie 2 (EPO2)

Diese Doppelblindstudie wurde vom September 1991 bis Dezember 1992 in 12 Neonatologiezentren in sechs europäischen Staaten durchgeführt, um die Auswirkung von rekombinantem Erythropoietin auf die benötigte Anzahl von Transfusionen bei Kindern mit Geburtsgewicht von 750 bis 1499 g zu untersuchen (Maier 1994). An dieser Studie nahmen 241 Kinder teil. Die Ausschlusskriterien sind in Tabelle 1 dargestellt. Kinder in der Erythropoietin-Gruppe erhielten 250 IU/kg rekombinantes Erythropoietin subkutan an drei Tagen in der Woche. Die Therapie wurde am 3. bis 5. Lebenstag begonnen und bis Tag 40-42 fortgeführt. Zusätzlich bekamen alle Kinder ab Tag 14 ein orales Eisenpräparat (2mg pro Tag). Transfusionsindikationen wurden von den behandelnden Ärzten gestellt. Es wurde weiterhin empfohlen, die Kinder nach der Geburt spät abzunabeln (Kinmond et al. 1993).

3.3 Studie 3 (EPO3)

Diese randomisierte Doppelblindstudie wurde von Januar bis November 1995 in 13 europäischen Zentren durchgeführt (Maier 1998). Es wurde untersucht, ob bei Kindern mit Geburtsgewicht von 500 bis 999 Gramm eine Dosisverdopplung von 750 IU/kg/Woche rhEPO auf 1500 IU/kg/Woche die Frühgeborenenanämie und benötigte Transfusionen verringern kann. Die Ausschlusskriterien sind in Tabelle 1 dargestellt. Die rhEPO Therapie wurde ab Tag 3 bis 5 bis zur vollendeten 37. Woche oder Entlassung nach Hause mit 250 bzw. 500 IU/kg Erythropoietin subkutan durchgeführt. Eisen wurde in Abhängigkeit von der Transferrinsättigung oral substituiert. Die Transfusionsindikation war im Protokoll festgelegt.

3.4 zusätzlich erhobene Daten (KAVH)

Um die Daten der beschriebenen drei Studien zu komplettieren, wurden im Rahmen dieser Arbeit für den Zeitraum zwischen der ersten (EPO1) und der zweiten (EPO2) Studie zusätzliche Daten aus Akten von 71 Kindern erhoben, die zu diesem Zeitpunkt in Behandlung im Kaiserin-Auguste-Viktoria Krankenhaus der FU-Berlin waren. Alle dieser Kinder hätten die Kriterien für eine Teilnahme an EPO1 oder EPO2 erfüllt.

4 Methodik

4.1 Behandlungsmethoden

Blutentnahmen wurden am Tag 3 (nach der postnatalen Adaptation und vor Beginn der rhEPO Therapie) und nach 2, 4 und 6 Wochen im Rahmen der üblichen Routineuntersuchungen vorgenommen. Das Blut wurde venös oder arteriell und nicht kapillär entnommen. Dabei wurde die entnommene Blutmenge aufgezeichnet. Das über den beobachteten Zeitraum von sechs Wochen entnommene Gesamtblutvolumen (iatrogener Blutverlust) wurde auf das Geburtsgewicht normiert (Blutvolumen in ml / Geburtsgewicht in kg). Um einen Vergleich des transfundierten Gesamtvolumens zwischen den einzelnen Fällen zu ermöglichen, wurde das transfundierte Gesamtvolumen auf das Geburtsgewicht normiert (transfundiertes Gesamtvolumen in ml / Geburtsgewicht in kg).

Bei der Mehrzahl der Kinder wurde die Mutter antenatal zur Lungenreifung des Feten mit Beta-methason behandelt, allerdings wurde dies im Rahmen der Studien nicht im Detail festgehalten. Das Abklemmen der Nabelschnur erfolgte nach 10 (0;20) Sekunden (Median; Quartilen). Der Großteil der Kinder erhielt eine enterale Eisensupplementation von 2 - 9 mg/kg pro Tag in Abhängigkeit von der Ferritinkonzentration oder der Transferrinsättigung.

4.2 Labormethoden

Der Hämatokrit wurde durch Zentrifugation oder in der EPO3 Studie im Coulter Counter gemessen. Die Erythrozyten-, Hämoglobin-, Thrombozyten- und Leukozytenwerte wurden im Coulter Counter gemessen. Für das Differentialblutbild wurde ein Ausstrich mit der May-Grünwald Giemsa Methode gefärbt und ausgezählt; der Leukozytenwert wurde nach Bestimmung von kernhaltigen Erythrozyten korrigiert. Die Neutrophilenwerte wurden aus dem Leukozytenwert und der im Blutaustrich bestimmten Neutrophilenprozentzahl berechnet und setzen sich aus reifen und unreifen Neutrophilenformen zusammen. Die Retikulozytenwerte wurden auf einen Hämatokrit von 45

normalisiert, indem der im Blutaussstrich bestimmte Wert mit dem tatsächlichen Hämatokrit multipliziert und durch 45 geteilt wurde.

4.3 Auswahl der Kinder

Für die Berechnung der Referenzwerte am Tag 3 wurden die Daten aller Kinder hinzugezogen. Für die Berechnung der Referenzwerte im Alter von 2, 4 und 6 Wochen von Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, Retikulozyten und Ferritin wurden Daten derjenigen Kinder hinzugezogen, die kein rhEPO erhalten hatten. Um für die Erstellung der Referenzwerte von Thrombozyten, Leukozyten und Neutrophilen im Verlauf der ersten sechs Lebenswochen Kinder auszuschließen, die wahrscheinlich eine Infektion haben, wurden nur Werte von Kindern verwendet, die zu dem jeweiligen Zeitpunkt keine Antibiotika bekommen hatten. Wenn ein Kind Antibiotika bekommt, ist dies zwar nicht gleichbedeutend mit einer vorliegenden Infektion, ein Kind ohne Antibiotika hat aber mit großer Wahrscheinlichkeit keine Infektion. Ebenso wurden die Kinder ausgeschlossen, die zum jeweiligen Zeitpunkt Glukokortikoide bekommen hatten. Dagegen wurden Daten von Kindern mit rhEPO Therapie einbezogen.

Für die Untersuchung der Einflussgröße "Transfusionen" (s. 5.3.1) wurde die Population in zwei Untergruppen geteilt. In einer Gruppe ("nicht transfundiert") befinden sich Kinder, die bis zum 3. Tag noch keine Transfusion erhalten hatten, in der anderen ("transfundiert") befinden sich jene, die bis zum 3. Tag schon mindestens eine Transfusion erhalten hatten.

Für die Untersuchung der Einflussgröße "iatrogener Blutverlust" (s. 5.3.2) wurden die Kinder aus den Jahren 91/92 in zwei gleich große Gruppen geteilt, eine Gruppe mit niedrigem entnommenen Gesamtblutvolumen (weniger als 27 ml/kg Geburtsgewicht in sechs Wochen), sowie eine Gruppe mit hohem entnommenen Gesamtblutvolumen (mehr als 27 ml/kg Geburtsgewicht). Diese Grenze wurde gewählt, da der Median der Blutverluste für diese Kinder bei 27 ml/kg liegt. Kinder aus EPO1 konnten für diese Untersuchung nicht herangezogen werden, da sie nur über einen Zeitraum von 4 Wochen untersucht wurden und dadurch einen geringeren Blutverlust haben. Von dem über 4 Wochen entnommenen Blutvolumen kann nicht auf 6 Wochen hochgerechnet werden, da in den ersten Wochen mehr Blut abgenommen wird als in den Wochen danach. Werte von Kindern aus EPO 3 wurden nicht verwendet, da alle Kinder dieser Studie rhEPO bekommen hatten.

Für die Untersuchung der Einflussgröße "veränderte Transfusionsindikation" (s. 5.4) wurde die Population der Kontrollkinder in drei Gruppen geteilt. Die erste Gruppe stammt aus den Jahren

1989 bis 1990, die zweite aus dem Jahr 1991 und die dritte aus dem Jahr 1992. Aus dem Jahr 1995 konnten keine Kinder in die Untersuchung einbezogen werden, da es in dieser Studie keine Kontrollkinder gab.

4.4 Grenzwerte

Neutrophilenwerte unter $1,1 \times 10^9/l$ wurden nach Mouzinho (1994) als Neutropenie bezeichnet. In Anlehnung an Zachman (1988) galten Leukozytenwerte über $40 \times 10^9/l$ als leukämoide Reaktion. Des Weiteren wurde eine Thrombozytopenie als Thrombozytenwerte unter $150 \times 10^9/l$ definiert (George 1995). Eisenmangel war definiert als Ferritinkonzentration unter 20 ng/ml (Lozoff 1991, Arad 1988, Hall 1993).

4.5 Statistische Auswertung

Die Originaldaten der EPO1 Studie wurden in einer SPSS Datei gesammelt. Originaldaten von EPO2 wurden in 16 verschiedenen dBASE Dateien erfasst. Daten der EPO3 Studie wurden in 3 ASCII Dateien zusammengestellt. Die selbst erhobenen KAVH Daten wurden direkt in eine SPSS Datei eingegeben. Um eine Auswertung aller Daten vornehmen zu können, musste aus den verschiedenen Dateien und Dateiformaten eine einheitliche SPSS Gesamtdatei erstellt werden, die Grundlage der vorliegenden Arbeit war.

Alle statistischen Analysen wurden mit dem Statistikprogramm SPSS für Windows durchgeführt. Die Normalverteilung der Werte wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test geprüft. Eine signifikante Abweichung von der Normalverteilung wurde bei $p < 0,2$ angenommen. Da die Annahme einer Normalverteilung bei allen Variablen nicht aufrechterhalten werden konnte, wurden nicht-parametrische statistische Testverfahren angewendet. Zum Vergleich der Mediane zwischen den 19 verschiedenen Zentren wurde der Kruskal-Wallis-Test angewandt. Um zwei Gruppen hinsichtlich quantitativer Variablen statistisch zu vergleichen, wurde der U-Test nach Mann-Whitney durchgeführt. Da beim Vergleich von Untergruppen aus verschiedenen Jahren mehr als zwei unabhängige Stichproben vorlagen, wurden diese mit dem Kruskal-Wallis Test verglichen. Zum Vergleich von Variablen im Verlauf der Behandlungsdauer, d.h. von mehreren abhängigen Stichproben, wurde der Friedmann Test angewendet. Als Signifikanzniveau wurde bei allen Testverfahren außer dem Kolmogorov-Smirnov-Test $p < 0,05$ festgelegt.

Die verteilungsfreien Konfidenzintervalle der Quantilen wurden nach den Formeln 5.5.61 und 5.5.64 der "Formeln und Tabellen der angewandten mathematischen Statistik" berechnet (Graf 87). Um den Zusammenhang zwischen ausgewählten Blutparametern und dem Gestationsalter zu quantifizieren, wurden einfache lineare Regressionsanalysen mit Berechnung des Intercept a , Anstieg b und Bestimmtheitsmass r^2 durchgeführt. Zur graphischen Darstellung wurden die Einzelwerte entweder in Abhängigkeit vom Gestationsalter (s. 5.1) oder in Abhängigkeit vom Lebensalter (s. 5.2) aufgetragen. Durch die Punktwolken wurden Quantilenkurven gelegt (25%, 50%, 75%), diese wurden nicht geglättet.

Da prinzipiell nicht auszuschliessen ist, dass Inhomogenitäten in den zusammengeführten Datensätzen (aus EPO1, EPO2, EPO3, KAVH) bestehen können, verbietet sich ein einfaches Poolen der Daten. Aus diesem Grund wurde eine Methode der Metaanalyse unter Zugrundelegung eines Modells mit zufälligen Effekten zur Schätzung mittlerer Effekte (gewichtete Mittelwerte) herangezogen. Zur Berechnung der über die Studien gewichteten Mittelwerte, deren Varianz und das zugehörige Konfidenzintervall wurde die von Wernecke beschriebene "statistische Methode zum Schätzen eines gemeinsamen Effektes aus k unabhängigen Studien" (Wernecke 01) in Anlehnung an die von Laird und Mosteller (Laird 90) beschriebene Vorgehensweise durchgeführt. Im folgenden wird aus der Arbeit von Wernecke zitiert (mit freundlicher Genehmigung des Autors):

Schätzung der Varianz zwischen den Studien

Mit dem Mittelwert \bar{x}_i des Merkmals X in der i -ten Studie sei auch dessen (geschätzter) quadratischer Standardfehler s_i^2/n_i gegeben. Ist μ_i der durch \bar{x}_i geschätzte Erwartungswert der i -ten Studie, so setzen wir allgemein $E[\mu_i] = \mu$ und $Var[\mu_i] = \sigma_a^2$ voraus, wobei σ_a^2 die Varianz der (wahren) Mittelwerte μ_i bezeichnet (Varianz zwischen den Studien). Nimmt man weiterhin an, dass die Stichprobenumfänge n_i so groß sind, dass man von einer approximativen Normalverteilung der \bar{x}_i um den Erwartungswert μ_i mit der Varianz $S_i^2 = \sigma_i^2/n_i$ ausgehen kann, so ist σ_a^2 über die Q -Statistik

$$Q = \sum_{i=1}^k w_i^{(1)} (\bar{x}_i - \bar{x}_w^{(1)})^2$$

mit

$$\bar{x}_w^{(1)} = \sum_{i=1}^k w_i^{(1)} \bar{x}_i / \sum_{i=1}^k w_i^{(1)}$$

als gewichtetes gemeinsames Mittel aus allen Studien zu ermitteln. Die Gewichte $w_i^{(1)}$ ($i = 1, 2, \dots, k$) werden, reziprok zu den Stichprobenvarianzen (je präziser die Studie, desto größer ihr Gewicht), zu $w_i^{(1)} = 1/S_i^2 = n_i/\sigma_i^2$ gewählt und aus der Stichprobe durch $\hat{w}_i^{(1)} = 1/\hat{S}_i^2 = n_i/s_i^2$ geschätzt.

Bemerkung: Die Voraussetzung der approximativen Normalverteilung bezieht sich auf die Verteilung der \bar{x}_i um ihren Erwartungswert $E[\bar{x}_i] = \mu_i$ und nicht auf die Verteilung des Merkmals X_i in der Stichprobe der i -ten Studie, die durchaus nicht normal zu sein braucht; die X_i müssen lediglich unabhängig sein. Die gewünschte Eigenschaft ist als erreichbar anzusehen, wenn die Stichprobenumfänge $n_i > 50$ sind.

Die Schätzung von σ_a^2 erreicht man durch Gleichsetzen von Q mit seinem zugehörigen Erwartungswert

$$E[Q] = (k-1) + \sigma_a^2 \left(\sum_{i=1}^k w_i^{(1)} - \sum_{i=1}^k [w_i^{(1)}]^2 / \sum_{i=1}^k w_i^{(1)} \right)$$

und Auflösen nach σ_a^2 (die Schätzung von σ_a^2 werde mit s_a^2 bezeichnet, wir setzen ausserdem die Schätzwerte $\hat{w}_i^{(1)}$ für die Gewichte $w_i^{(1)}$ ein, woraus eine Schätzung \hat{Q} resultiert):

$$s_a^2 = \begin{cases} 0 & , \text{ wenn } \hat{Q} - (k-1) < 0 \\ (\hat{Q} - (k-1)) / (\sum_{i=1}^k \hat{w}_i^{(1)} - \sum_{i=1}^k [\hat{w}_i^{(1)}]^2 / \sum_{i=1}^k \hat{w}_i^{(1)}) & , \text{ sonst.} \end{cases}$$

Wenn die beobachteten Mittelwerte also nur unwesentlich schwanken, setzen wir die Varianz zwischen den Studien gleich Null.

Konfidenzintervalle

Unter der Voraussetzung der (approximativen) Normalverteilung kann für jeden der betrachteten Fälle auch ein approximatives Konfidenzintervall

$$\hat{x}_w^{(2)} \pm \sqrt{\text{var}[\hat{x}_w^{(2)}]} \times z_{1-\alpha/2}$$

angegeben werden, wo $z_{1-\alpha/2}$ das α -Quantil der standardisierten Normalverteilung bezeichnet ($z_{1-\alpha/2} = 1.96$ für $\alpha = 0.05$).

Schätzung eines mittleren Effektes über alle Studien

Unter der Annahme eines Modells mit zufälligen Effekten wird davon ausgegangen, dass die $E[\bar{x}_i] = \mu_i$ um einen gemeinsamen Erwartungswert μ mit der Varianz σ_a^2 variieren und $V[\bar{x}_i] = \sigma_a^2 + S_i^2$. Eine gute Schätzung eines allgemeinen mittleren Effektes ist ein gewichtetes Mittel gemäß

$$\hat{x}_w^{(2)} = \sum_{i=1}^k \hat{w}_i^{(2)} \bar{x}_i / \sum_{i=1}^k \hat{w}_i^{(2)}$$

mit $\hat{w}_i^{(2)} = 1/(s_a^2 + s_i^2/n_i)$ und

$$\text{var}[\hat{x}_w^{(2)}] = \left(\sum_{i=1}^k \hat{w}_i^{(2)} \right)^{-1} = \left(\sum_{i=1}^k \frac{1}{s_a^2 + s_i^2/n_i} \right)^{-1}.$$

s_a^2 nach (4) mit $\hat{w}_i^{(1)} = n_i/s_i^2$ bzw. s_i^2 werden auch als Schätzungen der Varianz zwischen den Studien bzw. innerhalb der Studien bezeichnet.

Man beachte: Wenn wie oben nur Schätzungen von σ_a^2 und σ_i^2 vorhanden sind und wir trotzdem im allgemeinen (6) mit $\hat{w}_i^{(2)} = 1/(s_a^2 + s_i^2/n_i)$ benutzen, sollte man daran denken, dass die geschätzte Varianz nur approximativ ist.

5 Ergebnisse

Es werden zunächst die Ergebnisse durch einfaches Poolen der Daten aus vier verschiedenen Studien (EPO1, EPO2, EPO3, KAVH) vorgestellt, wobei in jedem Fall auch die Einzelergebnisse jeder Studie separat ausgewiesen werden. Ein Vergleich mit den gewichteten mittleren Effekten und den zugehörigen Varianzschätzungen aus der Metaanalyse (s. 5.3) zeigt, dass in keinem Fall wesentlich unterschiedliche Ergebnisse auftreten, so dass das gewählte Vorgehen gerechtfertigt erscheint.

Von allen Kindern, die am Tag 3 in die Studien eingeschlossen wurden, überlebten bis zum Entlassungsdatum 96%.

5.1 Werte am Tag 3

5.1.1 Erythropoese

In Tabelle 2 sind die Referenzwerte für Erythrozyten, Hämatokrit, Hämoglobin, Retikulozyten und Ferritin am 3. Lebenstag aufgeführt. In Tabelle 3 sind ausserdem die Mittelwerte getrennt für die unterschiedlichen Studien berechnet.

Tabelle 2: hämatologische Werte am Tag 3 ohne Berücksichtigung von pränatalen Steroiden, Antibiotika oder Transfusionen

Quantilen	Hämoglobin (g/dl) (95% Konfidenz- intervall)	Hämatokrit (%) (95% Konfidenz- intervall)	Erythrozyten (10 ¹² /l) (95% Konfidenz- intervall)	Retikulozyten (%)(95% Konfidenz- intervall)	Ferritin (ng/ml) (95% Konfidenz- intervall)
	n = 559	n = 561	n = 364	n = 283	n = 431
25	14,0 (13,7-14,2)	43 (42-44)	3,8 (3,6-3,9)	4,2 (3,2-4,8)	80 (69-92)
50	15,6 (15,4-15,8)	47 (47-48)	4,2 (4,1-4,3)	7,1 (6,5-8,3)	140 (130-147)
75	17,1 (16,7-17,3)	52 (51-53)	4,6 (4,5-4,6)	12,0 (11,0-13,8)	204 (186-213)

Tabelle 3: Mittelwerte am Tag 3 ohne Berücksichtigung von pränatalen Steroiden, Antibiotika oder Transfusionen, nach Studien unterschieden

Mittelwerte	EPO1	Standardfehler	KAVH	Standardfehler	EPO2	Standardfehler	EPO3	Standardfehler
Hämoglobin (g/dl)	15,8 n=67	0,25	16,1 n=69	0,25	15,9 n=240	0,13	14,7 n=183	0,18
Hämatokrit (%)	48 n=67	1,03	47 n=70	0,81	48,4 n=241	0,4	45,5 n=183	0,56
Erythrozyten ($10^{12}/l$)	4,1 n=59	0,07	4,2 n=69	0,07	4,2 n=236	0,04	n=0	
Retikulozyten (%)	9,9 n=62	1,1	3,7 n=2	3,2	9,3 n=98	0,8	n=0	
Ferritin (ng/ml)	122 n=52	22	n=0		156 n=209	8,4	157 n=170	13,3

Abbildungen 2 - 6 zeigen die Verteilung von Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten, Retikulozyten und Ferritin in Abhängigkeit vom Gestationsalter mit den dazugehörigen Quantilenkurven. Die Regressionsanalyse ergab für a (Intercept), b (Anstieg) und r^2 (Bestimmtheitsmass): Hämatokrit a=27,5, b=0,72, $r^2=0,05$, Hämoglobin a=8,5, b=0,25, $r^2=0,06$, Erythrozyten a=3,9, b=0,01, $r^2=0,002$, Ferritin a=550, b=-13, $r^2=0,05$, Retikulozyten a=9,4, b=-0,002, $r^2=0$. Der Anstieg, bzw. Abfall der Regressionsgeraden waren für Hämatokrit, Hämoglobin und Ferritin signifikant, für Erythrozyten und Ferritin nicht signifikant.

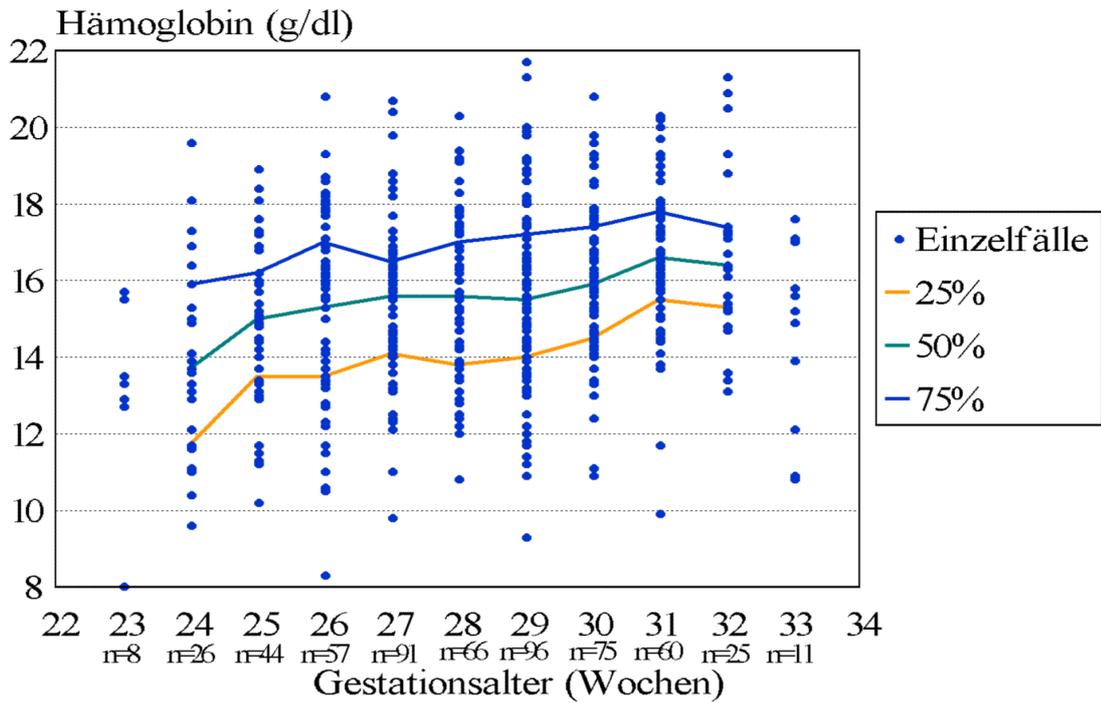


Abbildung 2: Quantilenkurven der Hämoglobinwerte am Tag 3 in Abhängigkeit vom Gestationsalter

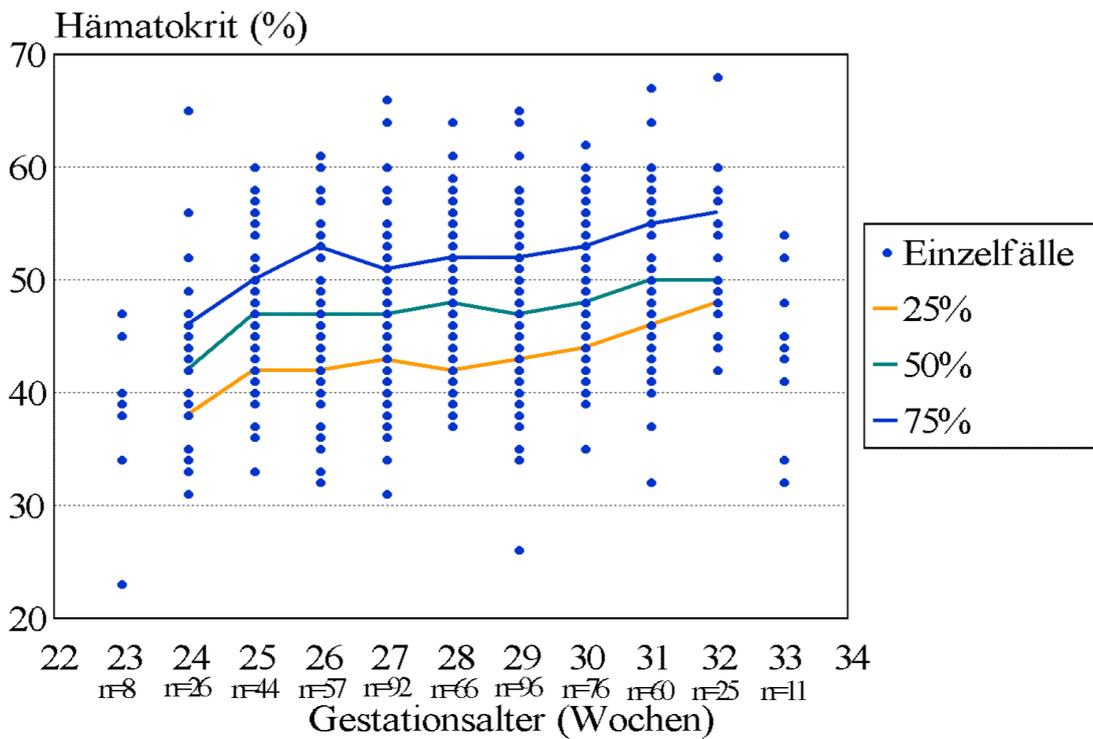


Abbildung 3: Quantilenkurven der Hämatokritwerte am Tag 3 in Abhängigkeit vom Gestationsalter

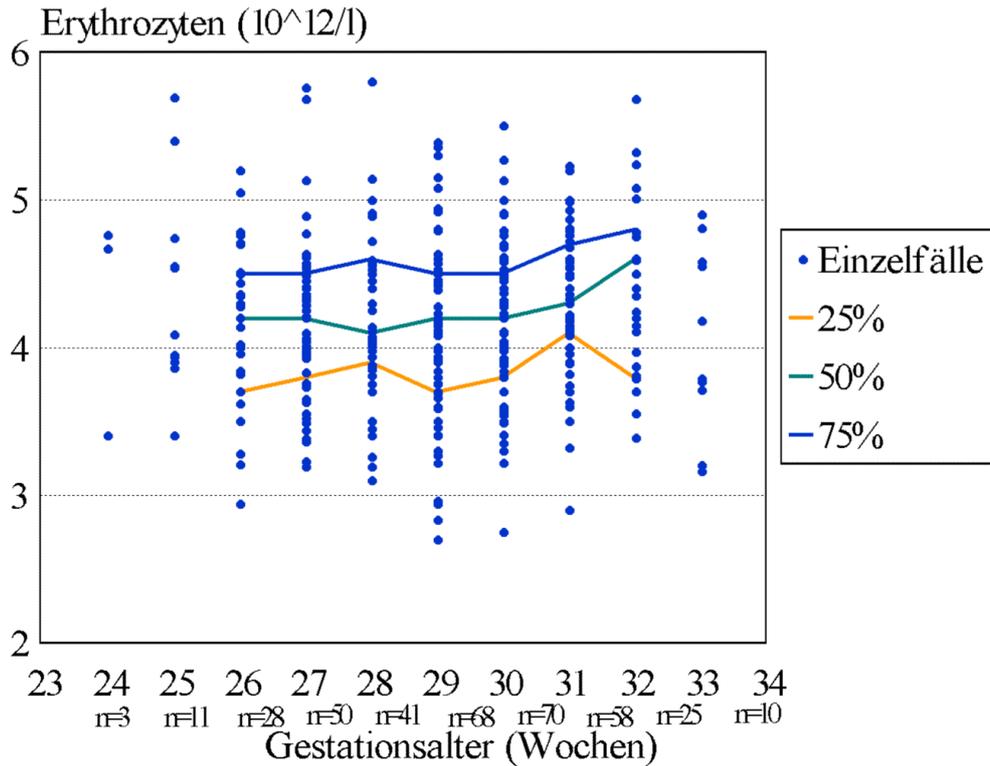


Abbildung 4: Quantilenkurven der Erythrozytenwerte am Tag 3 in Abhängigkeit vom Gestationsalter

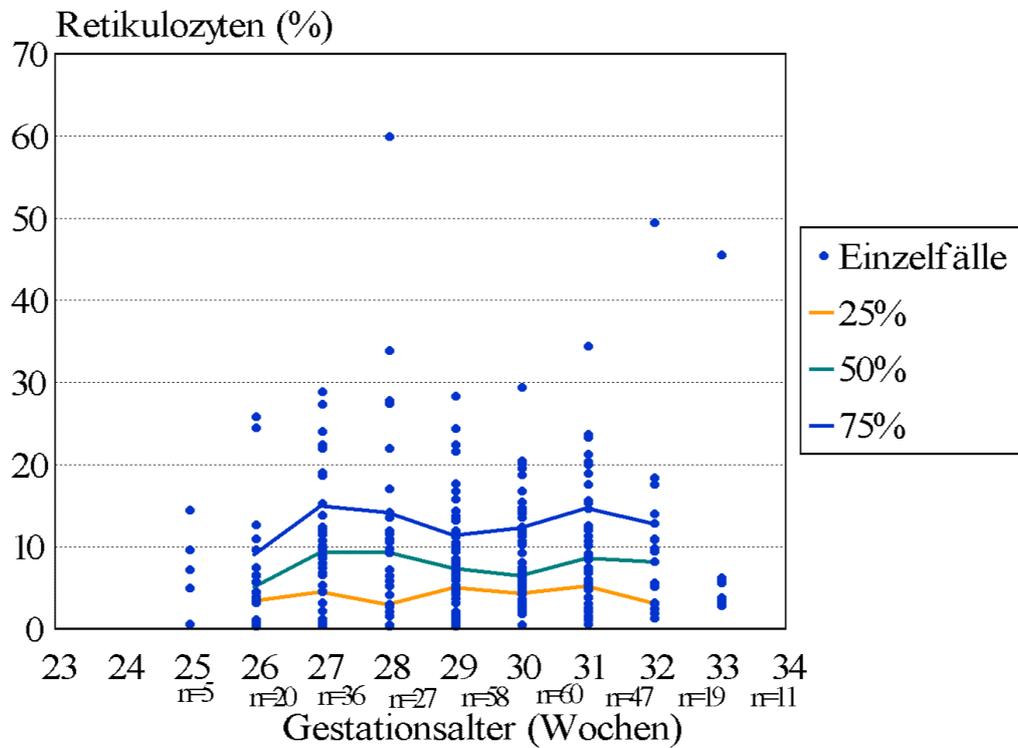


Abbildung 5: Quantilenkurven der Retikulozytenwerte am Tag 3 in Abhängigkeit vom Gestationsalter

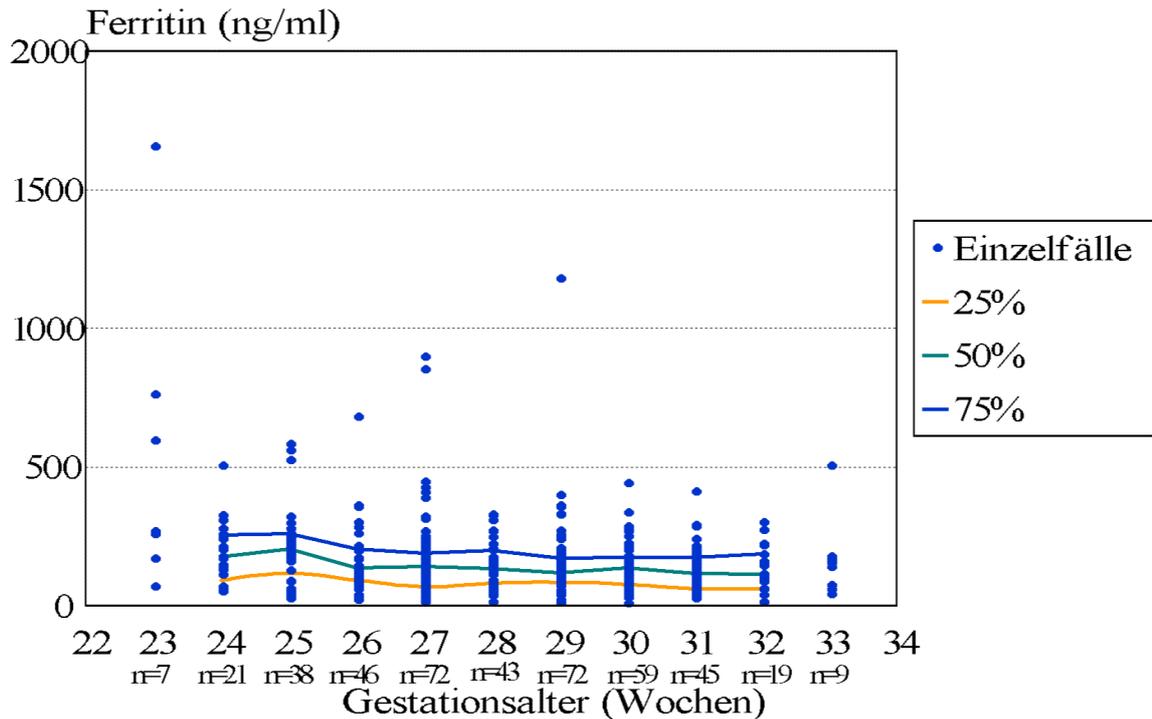


Abbildung 6: Quantilenkurven der Ferritinwerte am Tag 3 in Abhängigkeit vom Gestationsalter

5.1.2 Thrombopoese

In Tabelle 4 sind die Thrombozytenwerte am Tag 3 zusammengestellt. Kein Kind hat Werte über $515 \times 10^9/l$, dagegen haben 29% der Kinder eine Thrombozytopenie mit Werten unter $150 \times 10^9/l$ und 11% der Kinder Werte unter $100 \times 10^9/l$. Tabelle 5 stellt die Thrombozytenmittelwerte der unterschiedlichen Studien dar.

Tabelle 4: Thrombozytenwerte am Tag 3

Quantilen	Thrombozyten ($10^9/l$) (95% Konfidenzintervall)
	$n = 558$
25	140 (130-148)
50	203 (195-214)
75	285 (271-292)

Tabelle 5: Mittelwerte am Tag 3, nach Studien unterschieden

Mittelwerte	EPO1	Standard- fehler	KAVH	Standard- fehler	EPO2	Standard- fehler	EPO3	Standard- fehler
Thrombo- zyten (10⁹/l)	195	11,2	245	13,3	232	6,2	194	7,3
	n=67		n=69		n=240		n=182	

Abbildung 7 stellt die Verteilung der Thrombozytenwerte in Abhängigkeit vom Gestationsalter dar. Die Werte sind nicht vom Gestationsalter abhängig (Regressionsanalyse: $a=291$, $b=-2,6$, $r^2=0,004$, Anstieg der Regressionsgeraden nicht signifikant).

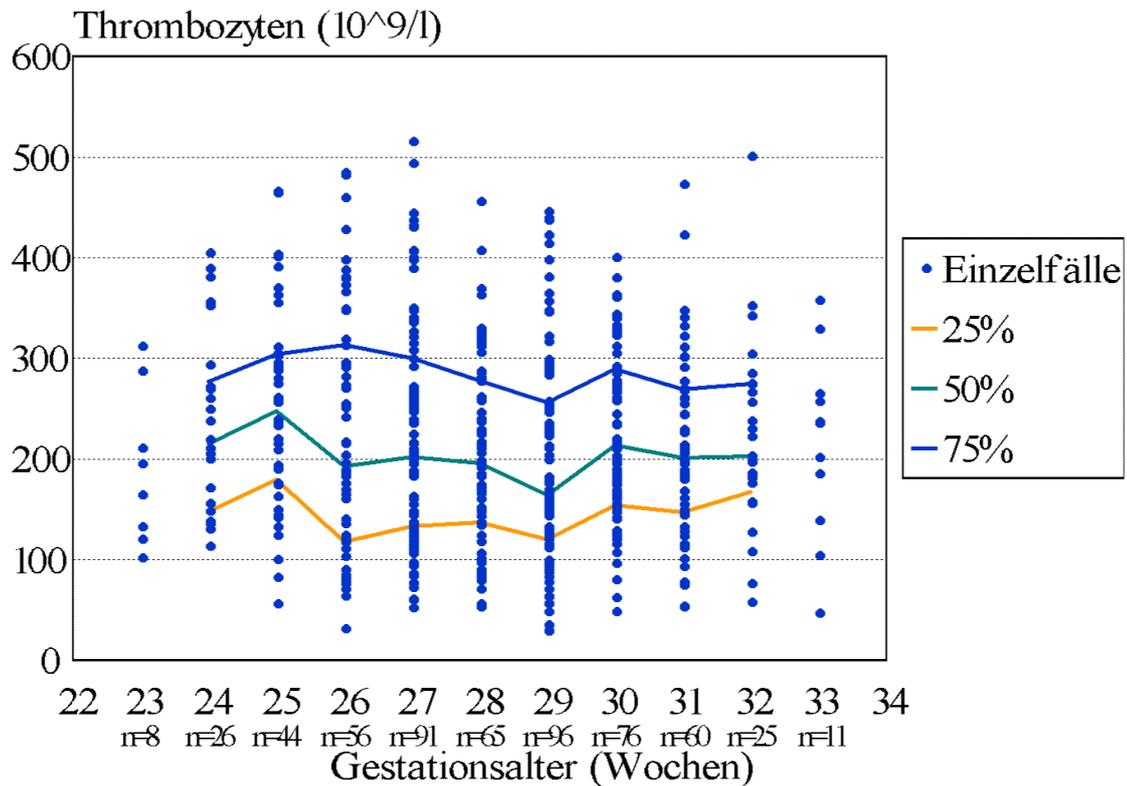


Abbildung 7: Quantilenkurven der Thrombozytenwerte am Tag 3 in Abhängigkeit vom Gestationsalter

5.1.3 Leukopoese

In Tabelle 6 sind die Leukozyten- und Neutrophilenwerte aller Kinder am 3. Tag dargestellt. 2,1% aller Kinder haben eine leukämoide Reaktion mit Leukozytenwerten über $40 \times 10^9/l$. In Tabelle 7 werden die Mittelwerte der unterschiedlichen Studien verglichen.

Tabelle 6: Leukozyten- und Neutrophilenwerte am Tag 3

Quantilen	Leukozyten ($10^9/l$) (95% Konfidenzintervall)	Neutrophile ($10^9/l$) (95% Konfidenzintervall)
	n = 376	n = 334
25	7,1 (6,6-7,4)	2,7 (2,3-2,9)
50	9,5 (8,9-10,6)	4,7 (4,2-5,2)
75	14,4 (13,0-15,6)	8,2 (7,4-9,2)

Tabelle 7: Mittelwerte am Tag 3, nach Studien unterschieden

Mittelwerte	EPO1	Standard- fehler	KAVH	Standard- fehler	EPO2	Standard- fehler	EPO3	Standard- fehler
Leukozyten ($10^9/l$)	9,1	0,66	16,6	1,36	12,3	0,55		
	n=67		n=69		n=240		n=0	
Neutrophile ($10^9/l$)	3,6	0,45	9,5	0,97	6,9	0,46		
	n=65		n=69		n=200		n=0	

In Abbildung 8 und Abbildung 9 die Verteilung der Leukozyten-, bzw. Neutrophilenwerte in Abhängigkeit vom Gestationsalter dargestellt. Sowohl die Leukozyten-, als auch die Neutrophilenwerte nehmen mit zunehmenden Gestationsalter ab (Regressionsanalyse: Leukozyten $a=49,1$, $b=-1,3$, $r^2=0,11$; Neutrophile $a=37,5$, $b=-1,1$, $r^2=0,14$; der Abfall der Regressionsgeraden ist für beide Variablen signifikant).

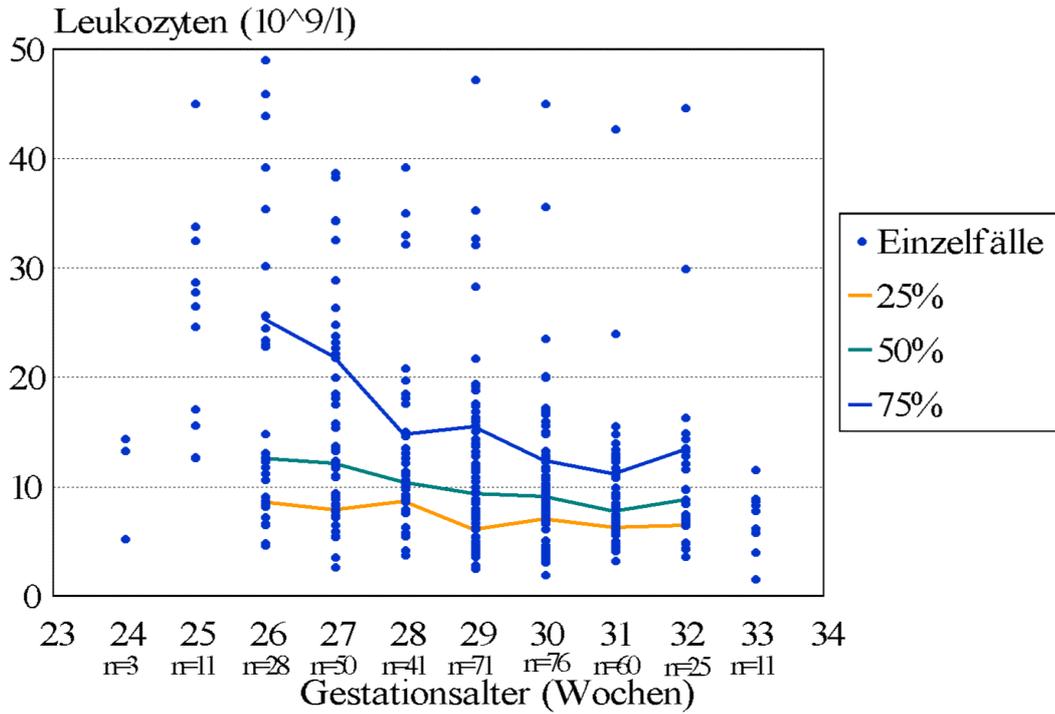


Abbildung 8: Quantilenkurven der Leukozytenwerte am Tag 3 in Abhängigkeit vom Gestationsalter

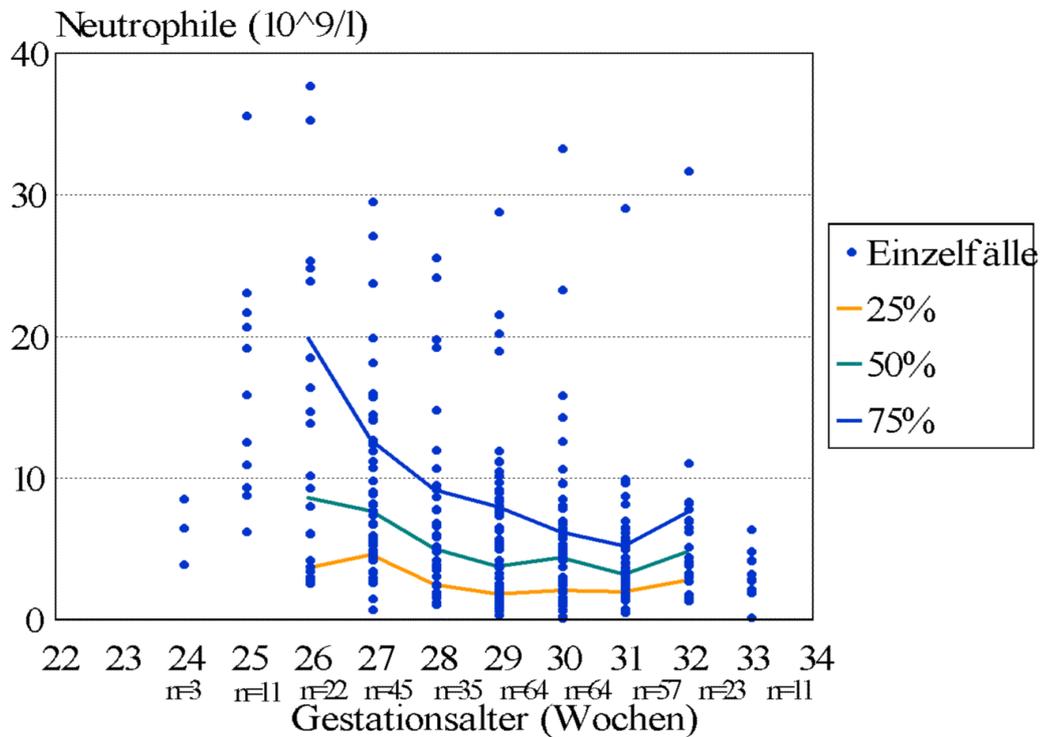


Abbildung 9: Quantilenkurven der Neutrophilenwerte am Tag 3 in Abhängigkeit vom Gestationsalter

5.2 Werte im Verlauf der ersten sechs Lebenswochen

5.2.1 Erythropoese

In den nachfolgenden Tabellen sind die Werte im Verlauf der ersten sechs Lebenswochen von Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten, Retikulozyten und Ferritin mit den zugehörigen Quantilen zusammengefasst. Ausserdem werden die Mittelwerte für die unterschiedlichen Studien getrennt aufgeführt.

Tabelle 8: Hämatologische Werte im Alter von 2 Wochen

Quantilen	Hämoglobin (g/dl) (95% Konfidenzintervall)	Hämatokrit (%) (95% Konfidenzintervall)	Erythrozyten ($10^{12}/l$) (95% Konfidenzintervall)	Retikulozyten (%) (95% Konfidenzintervall)	Ferritin (ng/ml) (95% Konfidenzintervall)
	n = 203	n = 205	n = 196	n = 139	n = 130
25	12,5 (11,9-13,1)	39 (37-40)	3,5 (3,4-3,7)	0,8 (0,7-0,9)	128 (108-136)
50	14,4 (13,9-14,6)	44 (42-45)	4,1 (3,9-4,2)	1,7 (1,4-1,9)	168 (147-185)
75	15,7 (15,3-16,1)	48 (47,50)	4,6 (4,5-4,8)	2,7 (2,1-3,1)	243 (201-270)

Tabelle 9: Hämatologische Werte im Alter von 4 Wochen

Quantilen	Hämoglobin (g/dl) (95% Konfidenzintervall)	Hämatokrit (%) (95% Konfidenzintervall)	Erythrozyten ($10^{12}/l$) (95% Konfidenzintervall)	Retikulozyten (%) (95% Konfidenzintervall)	Ferritin (ng/ml) (95% Konfidenzintervall)
	n = 192	n = 196	n = 188	n = 140	n = 128
25	10,9 (10,4-11,1)	32 (32-34)	3,2 (3,1-3,3)	1,0 (0,8-1,1)	93 (75-110)
50	12,4 (11,9-12,8)	39 (37-40)	3,8 (3,6-4,0)	2,0 (1,4-2,4)	153 (130-164)
75	14,2 (13,7-14,7)	44 (42-45)	4,4 (4,2-4,5)	3,5 (3,0-4,0)	234 (193-260)

Tabelle 10: Hämatologische Werte im Alter von 6 Wochen

Quantilen	Hämoglobin (g/dl) (95% Konfidenzintervall)	Hämatokrit (%) (95% Konfidenzintervall)	Erythrozyten ($10^{12}/l$) (95% Konfidenzintervall)	Retikulozyten (%) (95% Konfidenzintervall)	Ferritin (ng/ml) (95% Konfidenzintervall)
	n = 150	n = 152	n = 148	n = 114	n = 93
25	9,3 (8,7-9,6)	28 (27-30)	3,0 (2,8-3,1)	1,0 (0,8-1,2)	62 (43-46)
50	10,6 (10,0-10,9)	33 (31-34)	3,4 (3,2-3,5)	1,8 (1,5-2,3)	110 (89-143)
75	12,4 (11,6-12,9)	38 (36-39)	4,1 (3,8-4,3)	3,4 (2,8-4,2)	191 (156-217)

Tabelle 11: Mittelwerte im Alter von 2 Wochen nach Studien unterschieden

Mittelwerte	EPO1	Standard- fehler	KAVH	Standard- fehler	EPO2	Standard- fehler	EPO3	Standard- fehler
Hämoglobin (g/dl)	14,4 n=62	0,37	15,8 n=36	0,24	13,4 n=107	0,22	n=0	
Hämatokrit (%)	44 n=62	1,21	47 n=36	0,62	41 n=107	0,64	n=0	
Erythro- zyten ($10^{12}/l$)	4,2 n=57	0,13	4,6 n=33	0,09	3,8 n=104	0,06	n=0	
Retikulo- zyten (%)	2,1 n=58	0,30	2,6 n=35	1,03	2,6 n=98	0,32	n=0	
Ferritin (ng/ml)	206 n=30	21,95	262 n=1		191 n=99	13,45	n=0	

Tabelle 12: Mittelwerte im Alter von 4 Wochen nach Studien unterschieden

Mittelwerte	EPO1	Standard- fehler	KAVH	Standard- fehler	EPO2	Standard- fehler	EPO3	Standard- fehler
Hämoglobin (g/dl)	12,6 n=60	0,23	14,5 n=34	0,31	11,4 n=101	0,19	n=0	
Hämatokrit (%)	41 n=61	1047	45 n=35	0,84	34 n=102	0,57	n=0	
Erythro- zyten ($10^{12}/l$)	3,8 n=54	0,10	4,5 n=31	0,11	3,5 n=100	0,06	n=0	
Retikulo- zyten (%)	3,0 n=54	0,55	1,5 n=30	0,30	3,2 n=94	0,42	n=0	
Ferritin (ng/ml)	187 n=27	17,74	306 n=2	116,5	160 n=99	9,87	n=0	

Tabelle 13: Mittelwerte im Alter von 6 Wochen nach Studien unterschieden

Mittelwerte	EPO1	Standard- fehler	KAVH	Standard- fehler	EPO2	Standard- fehler	EPO3	Standard- fehler
Hämoglobin (g/dl)	n=0		12,2 n=57	0,28	10,1 n=93	0,02	n=0	
Hämatokrit (%)	n=0		38 n=58	0,90	31 n=94	0,53	n=0	
Erythro- zyten ($10^{12}/l$)	n=0		4,0 n=57	0,09	3,2 n=91	0,06	n=0	
Retikulo- zyten (%)	n=0		2,0 n=22	0,26	2,9 n=92	0,29	n=0	
Ferritin (ng/ml)	n=0		152 n=2	143,0	144 n=91	12,14	n=0	

In Abbildung 10 bis Abbildung 14 sind Verläufe der entsprechenden Werte über einen Zeitraum der ersten sechs Lebenswochen dargestellt:

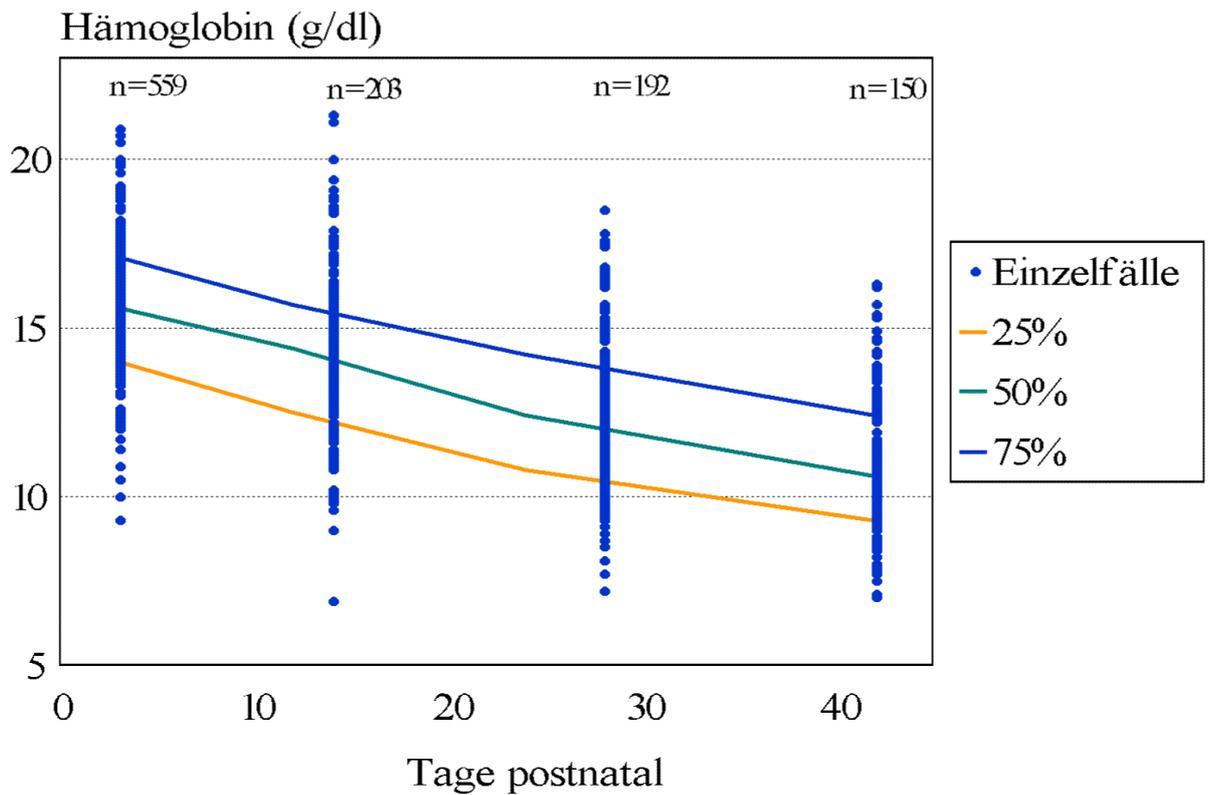


Abbildung 10: Verlauf der Hämoglobinwerte während der ersten sechs Lebenswochen

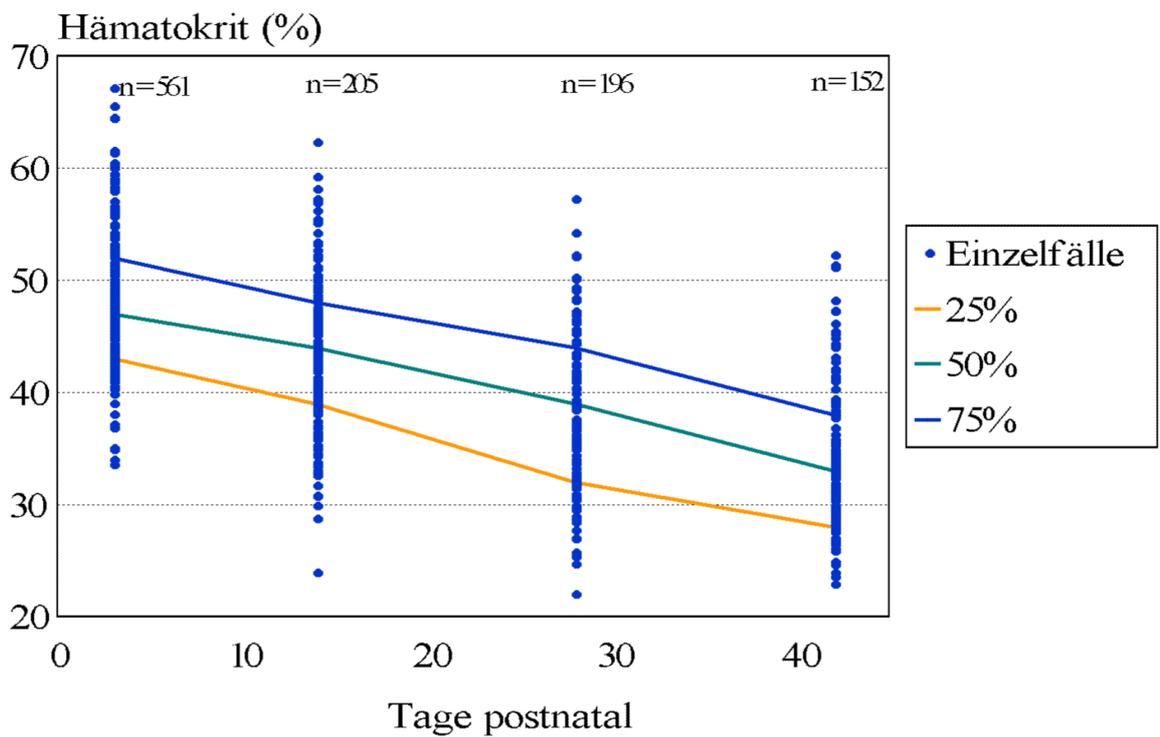


Abbildung 11: Verlauf der Hämatokritwerte während der ersten sechs Lebenswochen

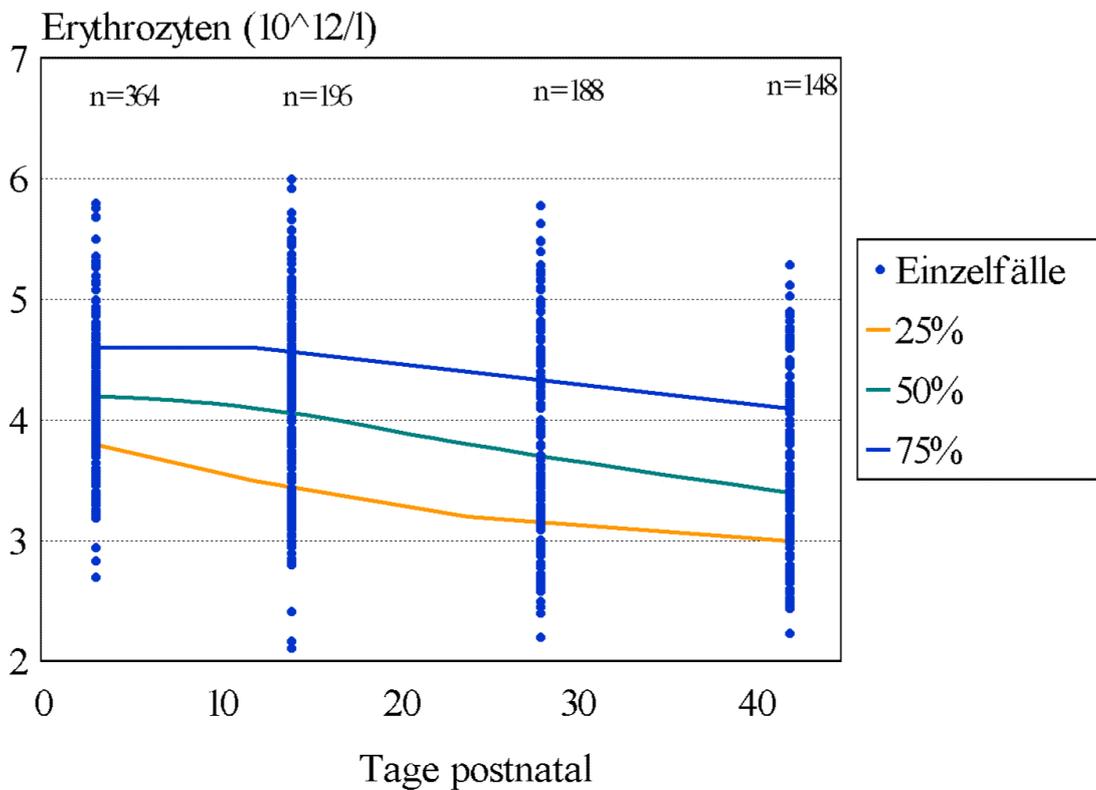


Abbildung 12: Verlauf der Erythrozytenwerte während der ersten sechs Lebenswochen

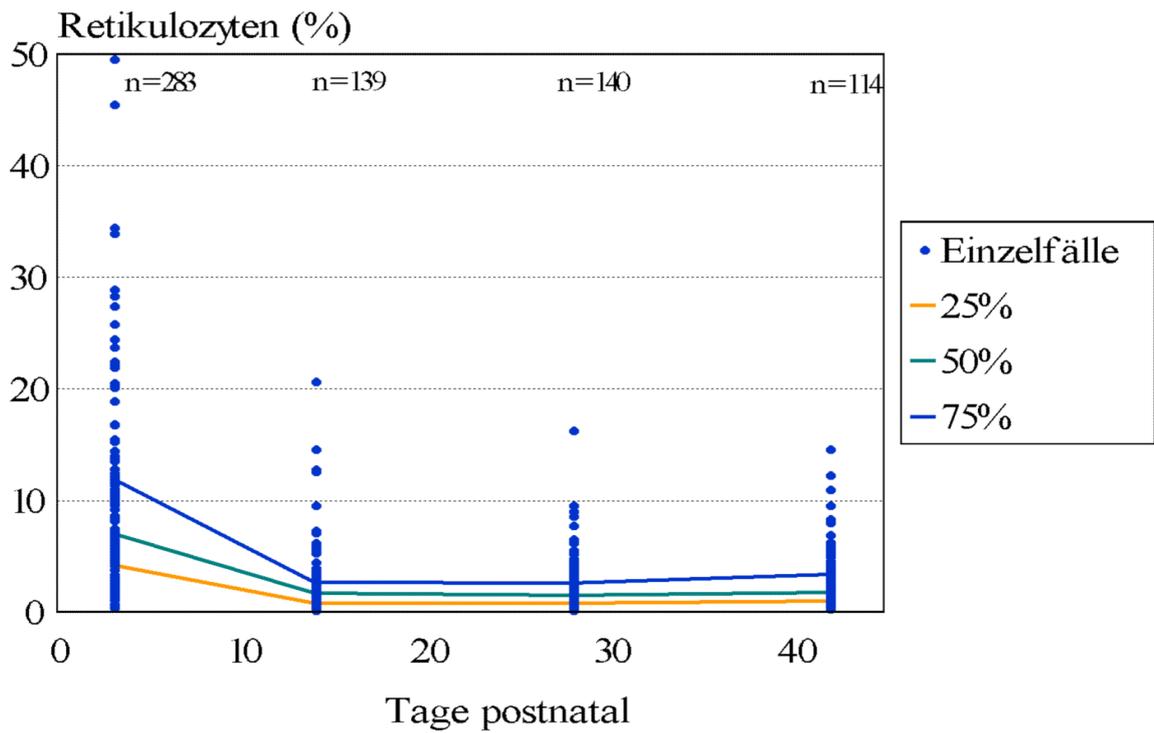


Abbildung 13: Verlauf der Retikulozytenwerte während der ersten sechs Lebenswochen

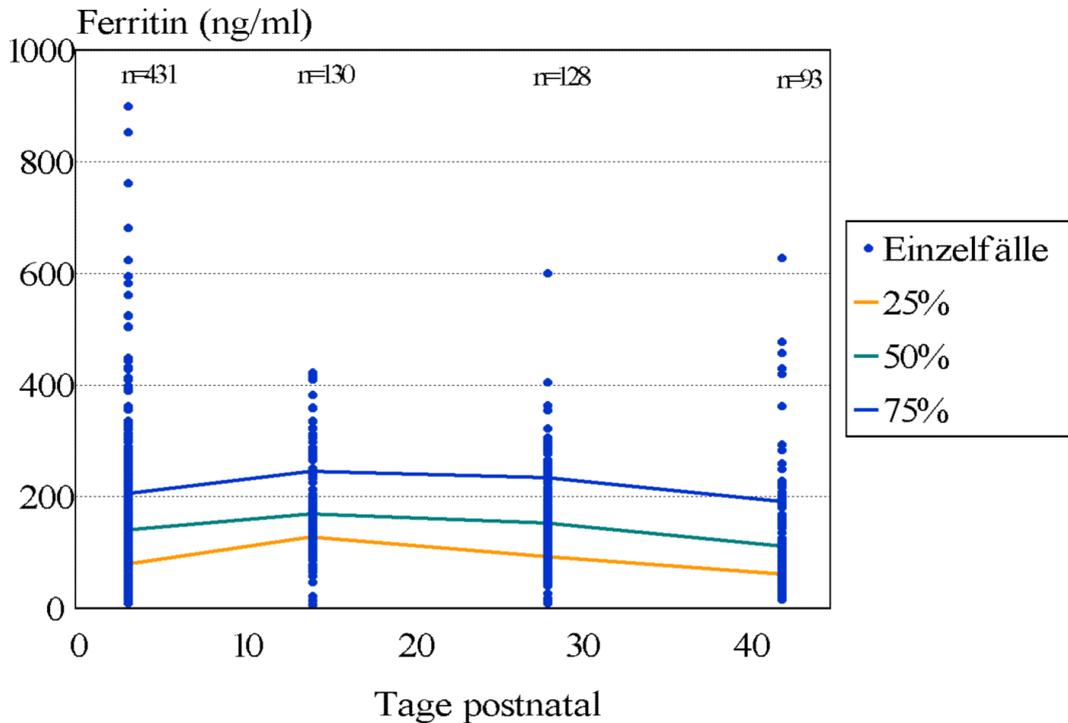


Abbildung 14: Verlauf der Ferritinwerte während der ersten sechs Lebenswochen

Über den beschriebenen Zeitraum nehmen die Hämoglobin-, Hämatokrit-, Erythrozyten-, Retikulozyten- und Ferritinwerte stetig ab ($p < 0,001$).

5.2.2 Thrombopoese

In der folgenden Tabelle 14 sind die Thrombozytenwerte im Alter von 2, 4 und 6 Wochen zusammengestellt. In Tabelle 15 sind die Mittelwerte der unterschiedlichen Studien im Verlauf dargestellt.

Tabelle 14: Verlauf der Thrombozytenwerte während der ersten sechs Lebenswochen

Quantilen	Thrombozyten ($10^9/l$) (95% Konfidenzintervall)		
	2 Wochen	4 Wochen	6 Wochen
	n = 372	n = 394	n = 370
25	216 (204-226)	242 (225-260)	275 (252-288)
50	318 (300-331)	338 (319-353)	357 (340-371)
75	414 (386-437)	443 (408-463)	456 (422-472)

Tabelle 15: Thrombozytenmittelwerte während der ersten Lebenswochen, nach Studien unterschieden

Thrombozyten ($10^9/l$)	EPO1	Standardfehler	KAVH	Standardfehler	EPO2	Standardfehler	EPO3	Standardfehler
Mittelwert 2 Wochen	355 n=36	23,77	328 n=31	20,10	365 n=150	9,57	265 n=155	10,38
Mittelwert 4 Wochen	373 n=50	20,50	340 n=30	27,34	390 n=149	10,96	312 n=165	11,12
Mittelwert 6 Wochen	n=0		354 n=43	21,78	400 n=168	9,08	331 n=159	12,33

Der zeitliche Verlauf der Werte in den ersten sechs Lebenswochen ist in Abbildung 15 dargestellt. Besonders innerhalb der ersten zwei Lebenswochen nehmen die Thrombozytenwerte zu. Die Zunahme über den Zeitraum von sechs Wochen ist statistisch signifikant ($p < 0,001$). Die Inzidenz von Thrombozytopenie nimmt im Alter von 2 Wochen im Gegensatz zum Alter von 3 Tagen ab ($p < 0,001$). Nachdem im Alter von 3 Tagen 29% der Kinder eine Thrombozytopenie haben, sind es nach 2 Wochen nur noch 11%, nach vier Wochen 9% und nach sechs Wochen 6%.

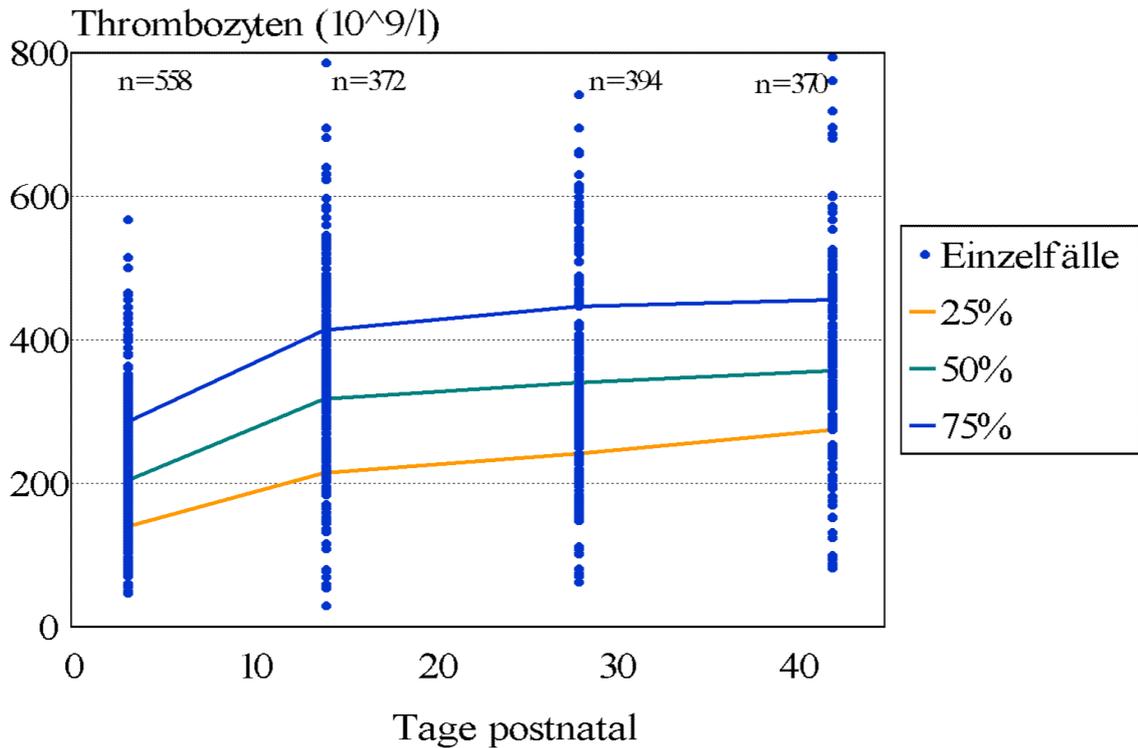


Abbildung 15: Verlauf der Thrombozytenwerte während der ersten sechs Lebenswochen

5.2.3 Leukopoese

In Tabelle 16 und Tabelle 18 sind die Verläufe der Leukozyten- und Neutrophilenwerte während der ersten sechs Wochen dargestellt. Die Mittelwerte der unterschiedlichen Studien sind in Tabellen 17 und 19 zusammengefasst.

Tabelle 16: Verlauf der Leukozytenwerte während der ersten sechs Lebenswochen

Quantilen	Leukozyten ($10^9/l$) (95% Konfidenzintervall)		
	2 Wochen	4 Wochen	6 Wochen
	n = 180	n = 233	n = 212
25	9,7 (9,0-10,5)	8,5 (7,9-9,1)	7,7 (7,3-8,0)
50	12,3 (11,3-12,8)	10,4 (9,9-10,7)	9,1 (8,5-9,3)
75	15,2 (14,1-16,4)	12,4 (11,7-12,9)	11,0 (10,3-11,3)

Tabelle 17: Leukozytenmittelwerte im Verlauf der ersten sechs Lebenswochen, nach Studien unterschieden

Leukozyten (10 ⁹ /l)	EPO1	Standard- fehler	KAVH	Standard- fehler	EPO2	Standard- fehler	EPO3	Standard- fehler
Mittelwert 2 Wochen	n=0		13,0 n=30	0,76	13,0 n=150	0,32	n=0	
Mittelwert 4 Wochen	10,6 n=50	0,42	11,9 n=30	0,62	10,5 n=153	0,24	n=0	
Mittelwert 6 Wochen	n=0		9,7 n=43	0,34	9,4 n=169	0,20	n=0	

Tabelle 18: Verlauf der Neutrophilenwerte während der ersten sechs Lebenswochen

Quantilen	Neutrophile (10 ⁹ /l) (95% Konfidenzintervall)		
	2 Wochen	4 Wochen	6 Wochen
	n = 161	n = 205	n = 175
25	3,1 (2,6-3,5)	1,9 (1,6-2,1)	1,4 (1,2-1,5)
50	4,6 (4,1-5,0)	2,9 (2,6-3,2)	2,2 (2,0-2,4)
75	6,8 (5,7-7,6)	4,0 (3,7-4,3)	3,1 (2,8-3,6)

Tabelle 19: Neutrophilenmittelwerte im Verlauf der ersten sechs Lebenswochen, nach Studien unterschieden

Neutrophile (10 ⁹ /l)	EPO1	Standard- fehler	KAVH	Standard- fehler	EPO2	Standard- fehler	EPO3	Standard- fehler
Mittelwert 2 Wochen	n=0		5,6 n=31	0,58	5,5 n=130	0,26	n=0	
Mittelwert 4 Wochen	3,1 n=49	0,30	3,1 n=30	0,29	3,2 n=126	0,17	n=0	
Mittelwert 6 Wochen	n=0		2,4 n=43	0,21	2,6 n=132	0,14	n=0	

Über den Beobachtungszeitraum von sechs Wochen nehmen Leukozyten und Neutrophile stetig ab. Dieser Abfall ist statistisch signifikant ($p < 0,001$). Nach sechs Wochen haben 36% der Kinder Neutrophilenwerte unter $1,75 \times 10^9/l$, 12% sogar unter $1,1 \times 10^9/l$. Die Graphiken verdeutlichen den zeitlichen Verlauf der Werte.

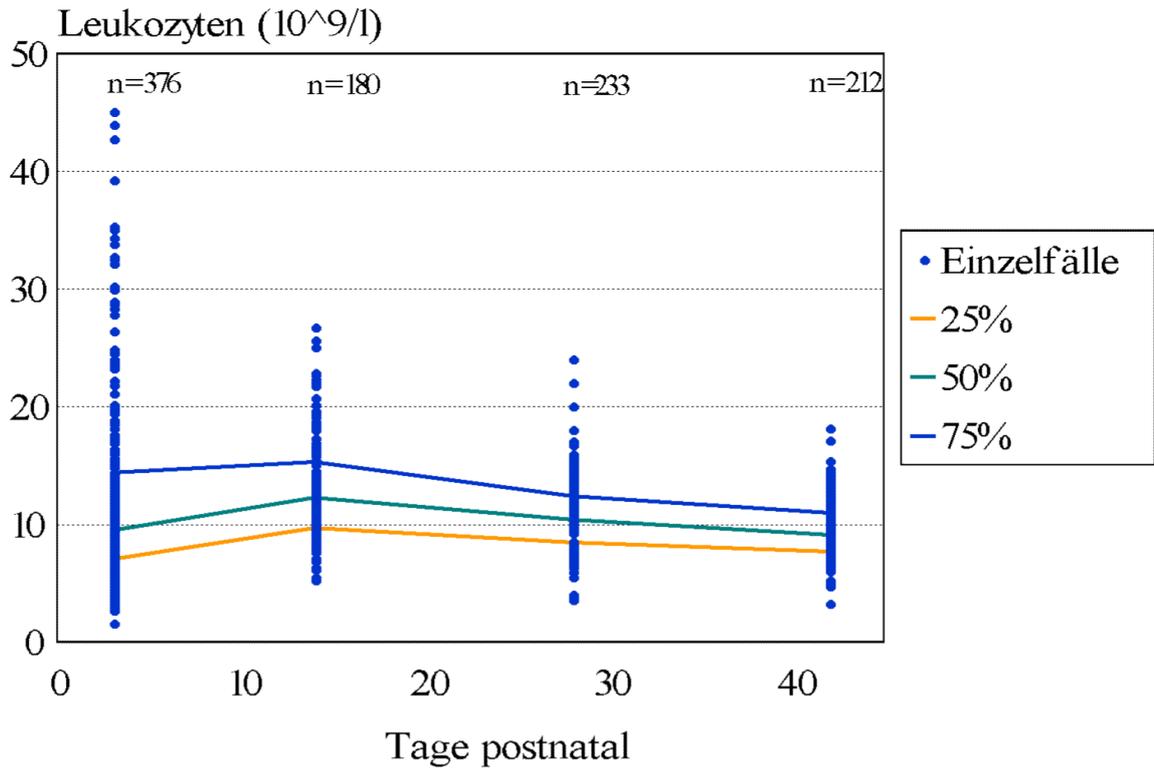


Abbildung 16: Verlauf der Leukozytenwerte während der ersten sechs Lebenswochen

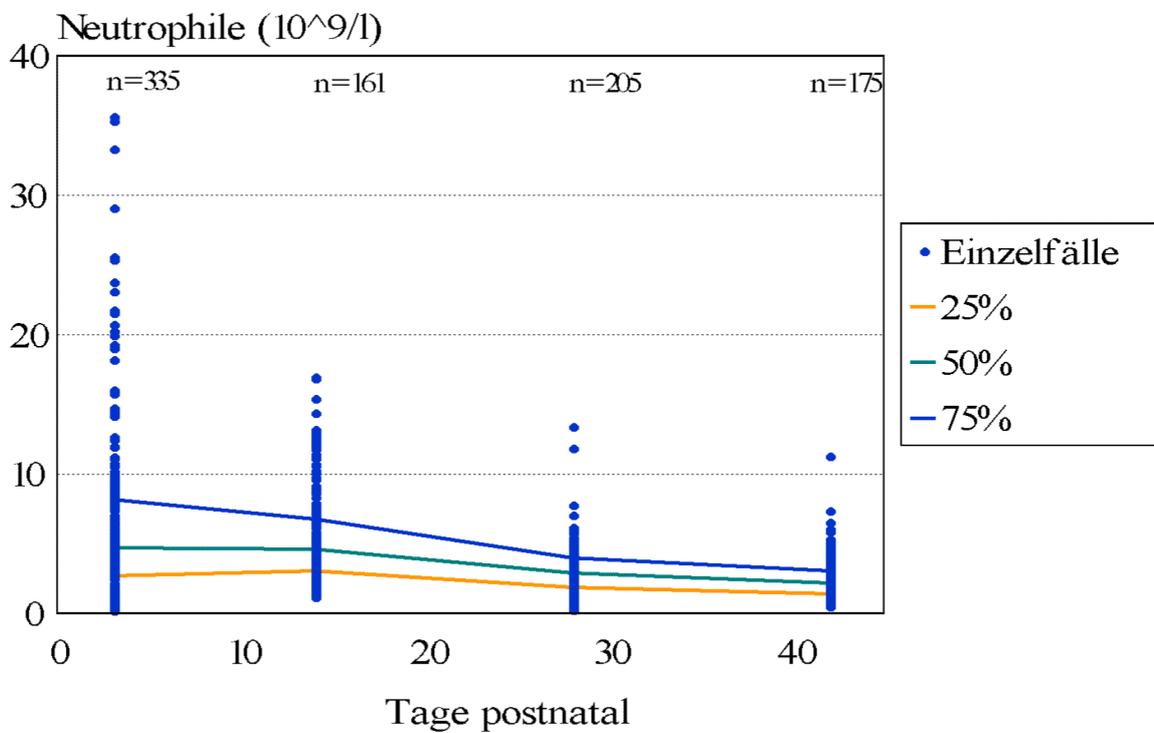


Abbildung 17: Verlauf der Neutrophilenwerte während der ersten sechs Lebenswochen

5.3 Metanalyse

Die hier vorliegenden Daten wurden in einem Zeitraum von sechs Jahren in vier unterschiedlichen Studien erhoben. Um die in der vorangegangenen Untersuchungen berechneten Werte zu validieren, wurde eine Metaanalyse der vier unterschiedlichen Studien durchgeführt. In den folgenden Tabellen sind die über die Studien gewichteten Mittel der Metaanalyse den aus dem Poolen hervorgegangenen ungewichteten Mitteln gegenübergestellt.

Tabelle 20: Vergleich nicht-gewichtete und über die Studien gewichtete Mittelwerte Tag 3

Tag 3	n	nicht gew. Mittel (gepoolte Werte) (95% KI)	gew. Mittel (Metaanalyse) (95% KI)
Hämoglobin (g/dl)	559	15,5 (15,3-15,7)	15,6 (14,9-16,3)
Hämatokrit (%)	561	48 (47-48)	48 (46-50)
Erythrozyten ($10^{12}/l$)	364	4,2 (4,1-4,3)	4,2 (4,1-4,3)
Retikulozyten (%)	283	9,4 (8,4-10,3)	9,1 (7,2-11,0)
Ferritin (ng/ml)	431	165 (151-178)	144 (120-168)
Thrombozyten ($10^9/l$)	558	217 (209-225)	216 (191-240)
Leukozyten ($10^9/l$)	376	12,5 (11,6-13,4)	12,5 (9,1-15,8)
Neutrophile ($10^9/l$)	334	6,8 (6,1-7,5)	6,6 (3,5-9,6)

Tabelle 21: Vergleich nicht-gewichtete und über die Studien gewichtete Mittelwerte nach 2 Wochen

2 Wochen	n	nicht gew. Mittel (gepoolte Werte) (95% KI)	gew. Mittel (Metaanalyse) (95% KI)
Hämoglobin (g/dl)	203	14,3 (14,0-14,6)	14,5 (13,2-15,9)
Hämatokrit (%)	205	44 (43-45)	44 (40-49)
Erythrozyten ($10^{12}/l$)	196	4,1 (4,0-4,2)	4,2 (3,7-4,7)
Retikulozyten (%)	139	2,4 (2,0-2,9)	2,3 (2,0-2,7)
Ferritin (ng/ml)	130	195 (172-217)	195 (173-218)
Thrombozyten ($10^9/l$)	372	322 (308-336)	327 (270-385)
Leukozyten ($10^9/l$)	180	13,0 (12,3-13,6)	13,0 (12,5-13,6)
Neutrophile ($10^9/l$)	161	5,5 (4,9-6,0)	5,5 (5,0-6,0)

Tabelle 22: Vergleich nicht-gewichtete und über die Studien gewichtete Mittelwerte nach 4 Wochen

4 Wochen	n	nicht gew. Mittel (gepoolte Werte) (95% KI)	gew. Mittel (Metaanalyse) (95% KI)
Hämoglobin (g/dl)	192	12,5 (12,2-12,9)	12,8 (11,2-14,5)
Hämatokrit (%)	196	39 (37-40)	40 (33-47)
Erythrozyten ($10^{12}/l$)	188	3,8 (3,7-3,9)	3,9 (3,3-4,5)
Retikulozyten (%)	140	3,0 (2,3-3,6)	2,5 (1,3-3,7)
Ferritin (ng/ml)	128	168 (151-185)	172 (144-200)
Thrombozyten ($10^9/l$)	394	351 (337-366)	354 (3,9-398)
Leukozyten ($10^9/l$)	233	10,7 (10,3-11,1)	10,8 (10,1-11,5)
Neutrophile ($10^9/l$)	205	3,2 (2,9-3,4)	3,2 (2,9-3,4)

Tabelle 23: Vergleich nicht-gewichtete und über die Studien gewichtete Mittelwerte nach 6 Wochen

6 Wochen	n	nicht gew. Mittel (gepoolte Werte) (95% KI)	gew. Mittel (Metaanalyse) (95% KI)
Hämoglobin (g/dl)	150	10,9 (10,5-11,2)	11,1 (9,0-13,1)
Hämatokrit (%)	152	34 (33-35)	35 (27-42)
Erythrozyten ($10^{12}/l$)	148	3,5 (3,4-3,6)	3,6 (2,9-4,3)
Retikulozyten (%)	114	2,7 (2,2-3,2)	2,4 (1,5-3,3)
Ferritin (ng/ml)	93	144 (120-168)	144 (121-178)
Thrombozyten ($10^9/l$)	370	365 (350-379)	363 (313-412)
Leukozyten ($10^9/l$)	212	9,4 (9,1-9,8)	9,4 (9,1-9,8)
Neutrophile ($10^9/l$)	175	2,5 (2,3-2,8)	2,5 (2,3-2,8)

Es wird deutlich, dass sich die durch das reine Poolen der Daten nicht gewichteten Mittelwerte von den gewichteten Mittelwerten der Metaanalyse nicht wesentlich unterscheiden.

Die Daten der vorliegenden Arbeit wurden in 19 unterschiedlichen Zentren erhoben. Daher wurde untersucht, ob sich die verschiedenen Werte zwischen den Zentren unterscheiden. Die Werte der roten Zellreihe zu allen untersuchten Zeitpunkten (Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten, Retikulozyten und Ferritin), sowie das entnommene Blutvolumen und das transfundierte Gesamtvolumen unterscheiden sich zwischen den unterschiedlichen Zentren signifikant ($p < 0,05$). Die Thrombozytenwerte unterscheiden sich nicht signifikant ($p > 0,05$). Die Leukozyten- und Neutrophilenwerte unterscheiden sich nur am Tag 3 signifikant ($p < 0,05$), zu allen später untersuchten Zeitpunk-

ten konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Zentren festgestellt werden ($p > 0,05$).

5.4 Einflussgrößen

5.4.1 Transfusionen

Am Tag 3 haben schon 175 von 562 Kindern eine oder mehrere Transfusionen erhalten. Je unreifer ein Frühgeborenes ist, desto größer ist auch die Wahrscheinlichkeit, dass es in den ersten Lebenstagen eine Transfusion erhält. Abbildung 22 stellt die mit zunehmendem Gestationsalter wachsende Zahl der bis zum 3. Lebenstag nicht transfundierten Kinder dar.

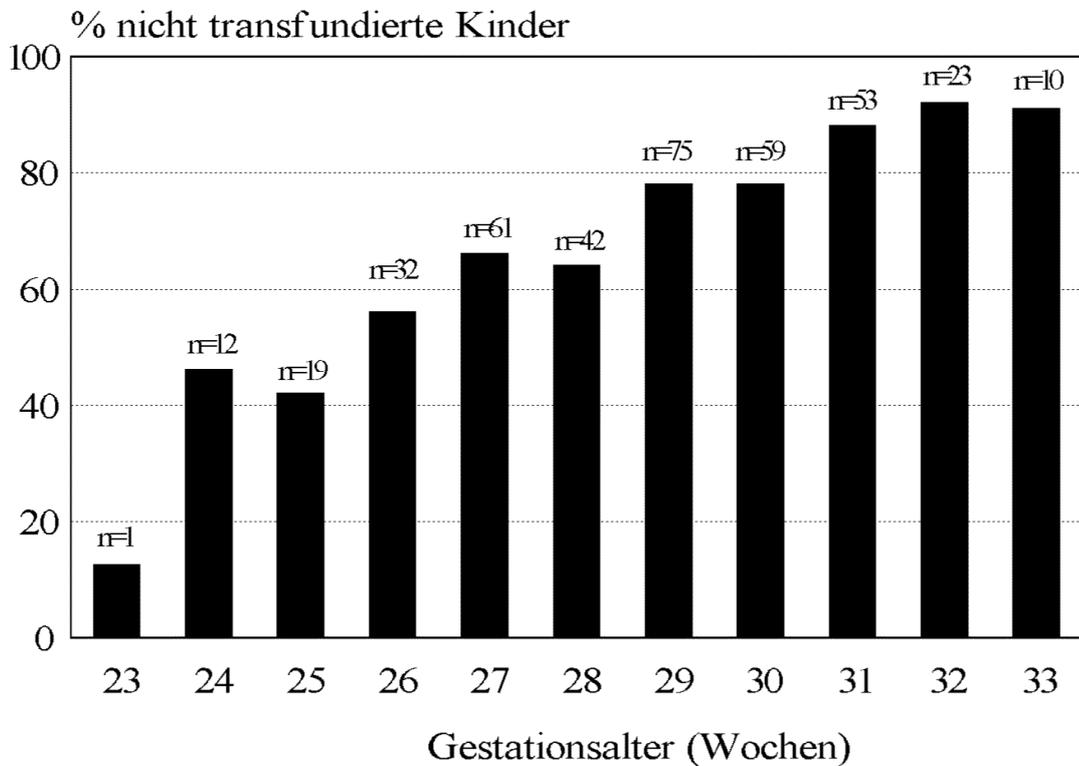


Abbildung 18: Anzahl der Kinder in Prozent, die bis zum 3. Tag noch keine Transfusion erhalten hatten

Es wurde untersucht, ob sich die Werte von bis zum 3. Tag transfundierten Kindern von denen, die noch keine Transfusion erhalten haben, unterscheiden. In Tabelle 20 sind die Mediane der unterschiedlichen Werte von beiden Gruppen ebenso wie die Irrtumswahrscheinlichkeit p zusammengestellt.

Tabelle 24: Medianvergleich der Werte am 3. Tag von bis zum 3. Tag nicht transfundierten und transfundierten Kindern

	Median (95% Konfidenzintervall) Tag 3		
	nicht transfundiert	transfundiert	p
Hämoglobin (g/dl)	16,0 (15,7-16,2)	14,6 (14,0-15,0)	<0,001
Hämatokrit (%)	49 (48-50)	45 (43-46)	<0,001
Erythrozyten (10¹²/l)	4,2 (4,2-4,3)	4,0 (3,9-4,2)	<0,05
Retikulozyten (%)	7,9 (6,6-9,4)	5,2 (3,8-6,9)	<0,001
Ferritin(ng/ml)	131 (121-144)	164 (139-175)	<0,01
Thrombozyten (10⁹/l)	220(207-235)	172 (153-190)	<0,001
Leukozyten (10⁹/l)	9,4 (8,8-10,3)	11,3 (9,1-12,7)	<0,05
Neutrophile (10⁹/l)	4,6 (4,2-5,2)	5,0 (3,7-6,2)	>0,05

Es wird deutlich, dass sich die Mediane für alle untersuchten Werte bis auf Ausnahme der Neutrophilenwerte am Tag 3 signifikant unterscheiden.

5.4.2 Iatrogener Blutverlust

Unter der Annahme, dass der iatrogene Blutverlust umso höher ist, je schlechter der Zustand eines Kindes, und daher der Blutverlust mit der Schwere der Erkrankung korreliert, wurde untersucht, ob die Schwere der Erkrankung, bzw. der iatrogene Blutverlust der untersuchten Kinder einen Einfluss auf die hier erstellten Werte hat. Zwei Gruppen, eine mit niedrigem und eine mit hohem iatrogenen Blutverlust, wurden in Hinsicht auf den Verlauf ihrer Erythrozyten-, Hämoglobin- und Hämatokritwerte verglichen. In den Tabellen 212 bis 23 sind die Mediane der entsprechenden Werte der beiden Gruppen, sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit p aufgezeichnet. Die Gruppe der Kinder mit geringem Blutverlust hat am Tag 3 signifikant höhere Werte als die der Vergleichsgruppe. Nach sechs Wochen dagegen sind die Werte für alle drei Variablen bei der Gruppe mit hohem Blutverlust signifikant höher als bei der Gruppe mit niedrigem Blutverlust.

Tabelle 25: Vergleich der Hämoglobinwerte von Kindern mit niedrigem und hohem iatrogenen Blutverlust

Hämoglobin (g/dl)	Median (95% Konfidenzintervall)		
	niedriger Blutverlust	hoher Blutverlust	p
Tag 3	16,3 (15,9-16,5)	15,7 (14,4-15,3)	<0,05
2 Wochen	14,3 (13,7-14,8)	14,5 (14,0-15,1)	>0,05
4 Wochen	11,7 (11,3-12,5)	13,0 (12,6-13,5)	<0,05
6 Wochen	10,2 (9,7-10,7)	10,8 (10,4-11,3)	<0,05

Tabelle 26: Vergleich der Hämatokritwerte von Kindern mit niedrigem und hohem iatrogenen Blutverlust

Hämatokrit (%)	Median (95% Konfidenzintervall)		
	niedriger Blutverlust	hoher Blutverlust	p
Tag 3	49 (48-50)	48 (45-47)	<0,001
2 Wochen	44 (42-45)	45 (43-47)	>0,05
4 Wochen	36 (33-39)	40 (38-43)	<0,05
6 Wochen	31 (30-33)	34 (32-36)	<0,05

Tabelle 27: Vergleich der Erythrozytenwerte von Kindern mit niedrigem und hohem iatrogenen Blutverlust

Erythrozyten ($10^{12}/l$)	Median (95% Konfidenzintervall)		
	niedriger Blutverlust	hoher Blutverlust	p
Tag 3	4,3 (4,2-4,5)	4,1 (4,0-4,3)	<0,001
2 Wochen	4,1 (3,8-4,2)	4,1 (3,8-4,5)	>0,05
4 Wochen	3,5 (3,3-3,8)	4,0 (3,7-4,4)	<0,01
6 Wochen	3,2 (3,1-3,4)	3,5 (3,2-3,8)	<0,01

In der Gruppe der Kinder mit hohem Blutverlust befinden sich unreifere Kinder als in der Gruppe mit niedrigem Blutverlust (Median (Quartilen) Gestationsalter 29 (27; 31) vs. 28 (27; 30), $p < 0,001$). Ebenso wurde in der Gruppe von Kindern mit hohem Blutverlust signifikant mehr transfundiert als in der Vergleichsgruppe (Median (Quartilen) transfundiertes Gesamtvolumen: 2,1 (0; 3,6) ml/kg vs. 5,8 (3,0; 10,9), $p < 0,001$). Abbildung 23 zeigt eine positive Korrelation zwischen der entnommenen Blutmenge und dem transfundierten Gesamtvolumen ($r = 0,72$, $p < 0,001$).

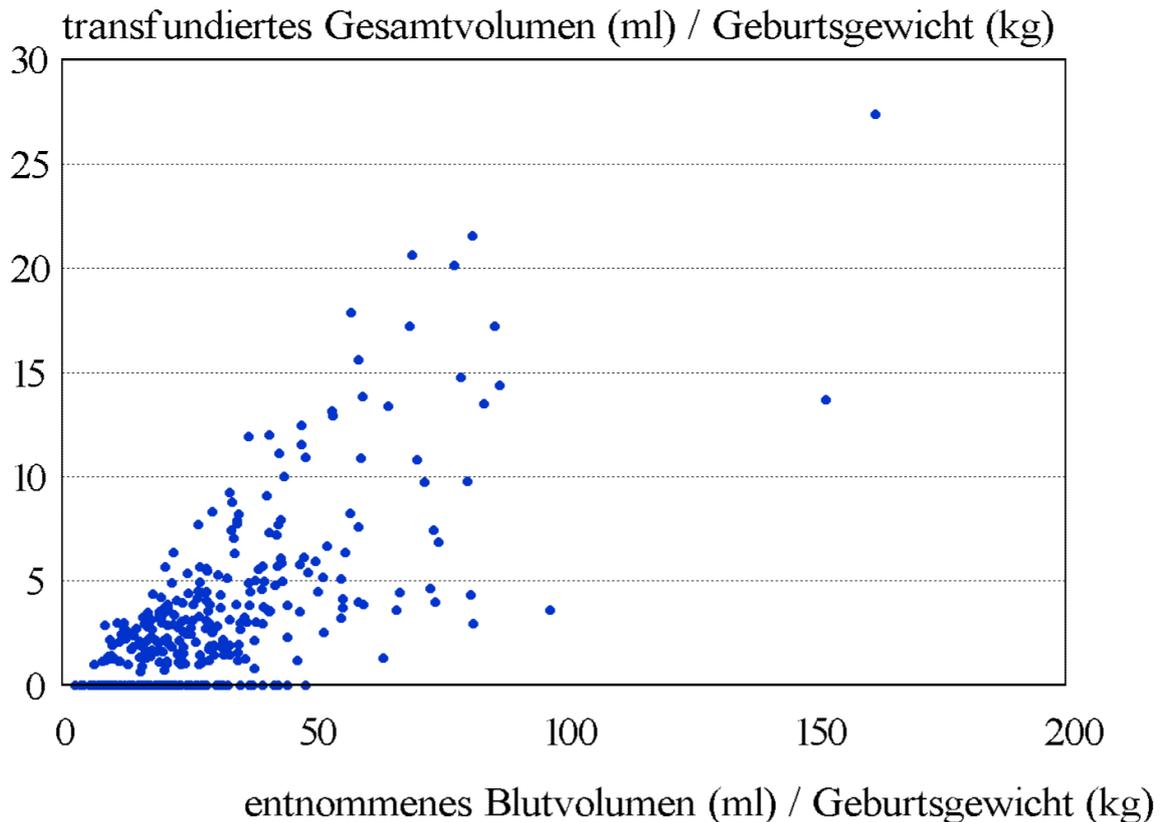


Abbildung 19: Korrelation von entnommenem Blutvolumen und transfundiertem Gesamtvolumen

Die Blutentnahmepraktiken unterscheiden sich stark zwischen den 19 verschiedenen Zentren. Das entnommene Blutvolumen / kg Geburtsgewicht beträgt 26,4 (17,5; 38,4) ml/kg (Median, Quartilen) für alle Zentren gemeinsam; das Zentrum mit dem niedrigsten entnommenen Blutvolumen hat 14,7 (8,8; 22,8) ml/kg Blut entnommen, das Zentrum mit dem höchsten 67,0 (40,3; 81,0) ml/kg.

5.4.3 Antibiotika

Um zu untersuchen, ob die Gabe von Antibiotika die untersuchten Werte beeinflusst, wurden die Werte von Kindern, die Antibiotika erhalten, mit denen von Kindern, die keine Antibiotika erhalten, verglichen. Da bei VLBW Frühgeborenen Antibiotika sofort bei Verdacht auf eine Infektion gegeben werden, sind wahrscheinlich nicht alle dieser Kinder infiziert. Im Gegensatz ist aber zu argumentieren, dass alle Kinder, die keine Antibiotika bekommen, mit großer Wahrscheinlichkeit an keiner Infektion leiden. Mit zunehmenden Alter nimmt die Prävalenz der Antibiotikatherapie ab: am Tag 3 wurden 85% aller Kinder mit Antibiotika behandelt, nach sechs Wochen dagegen nur noch 7%. Die Kinder, die am Tag 3 mit Antibiotika behandelt wurden, sind signifikant unreifer als

die Kinder, die keine Antibiotika bekamen (Median Gestationsalter 28,0 vs. 30,0 Wochen, $p < 0,001$). Dieser Unterschied ist nach sechs Wochen nicht mehr zu verzeichnen (Median Gestationsalter 28,0 vs. 27,5 Wochen, $p > 0,05$). In Tabelle 24 sind die entsprechenden Werte von Kindern mit und ohne Antibiotikabehandlung im Alter von 3 Tagen und 6 Wochen, sowie die zugehörige Irrtumswahrscheinlichkeit p zusammengestellt:

Tabelle 28: Vergleich der Werte am Tag 3 und nach sechs Wochen in Abhängigkeit von Antibiotikagabe

	keine Antibiotika Median (95% Konfidenzintervall)	Antibiotika Median (95% Konfidenzintervall)	p
Hämoglobin Tag 3 (g/dl)	16,4 (15,8-17,1)	15,5 (15,2-15,7)	<0,001
Hämatokrit Tag 3 (%)	50 (48-53)	47 (46,48)	<0,001
Erythrozyten Tag 3 ($10^{12}/l$)	4,4 (4,2-4,6)	4,2 (4,1-4,2)	<0,01
Retikulozyten Tag 3 (%)	9,1 (6,6-10,7)	6,8 (6,0-7,5)	<0,05
Ferritin Tag 3 (ng/ml)	108 (87-146)	143 (133-151)	<0,01
Thrombozyten Tag 3 ($10^9/l$)	200 (168-227)	205 (195-215)	>0,05
Leukozyten Tag 3 ($10^9/l$)	8,4 (7,3-8,9)	10,9 (9,5-11,5)	<0,001
Neutrophile Tag 3 ($10^9/l$)	3,2 (2,8-4,1)	5,3 (4,6-6,0)	<0,001
Hämoglobin 6 Wochen (g/dl)	10,3 (9,9-10,7)	13,3 (10,6-13,9)	<0,01
Hämatokrit 6 Wochen (%)	32 (31-33)	40 (32-44)	<0,01
Erythrozyten 6 Wochen ($10^{12}/l$)	3,4 (3,2-3,5)	4,4 (3,3-4,7)	<0,01
Retikulozyten 6 Wochen (%)	2,0 (1,5-2,5)	1,4 (0,4-1,8)	>0,05
Ferritin 6 Wochen (ng/ml)	102 (41-165)	165 (114-293)	<0,05
Thrombozyten 6 Wochen ($10^9/l$)	355 (341-371)	375 (336-402)	<0,01
Leukozyten 6 Wochen ($10^9/l$)	8,9 (8,6-9,4)	13,0 (11,6-14,2)	<0,05
Neutrophile 6 Wochen ($10^9/l$)	2,2 (2,1-2,4)	8,2 (7,5-8,6)	>0,05

Besonders am Tag 3 besteht ein signifikanter Unterschied der Werte zwischen Kindern mit und ohne Antibiotika, ausschließlich die Thrombozytenwerte unterscheiden sich nicht. Nach sechs Wochen unterscheiden sich Hämatokrit, Hämoglobin, Erythrozyten, Ferritin, Thrombozyten und Leukozyten signifikant in den beiden Untergruppen. Bei Retikulozyten und Neutrophilen ist kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen.

Kinder, die schon am oder vor dem dritten Tag Antibiotika bekamen, wurden insgesamt häufiger transfundiert als Kinder, die am dritten Tag noch keine Antibiotika bekommen hatten (Median (Quartilen) transfundiertes Gesamtvolumen: 0 (0; 2,5) ml/kg vs. 0 (1,7; 3,8) ml/kg, $p < 0,001$).

5.5 Veränderte Transfusionsindikation

In den verschiedenen Studien (EPO1-3) wurden die Transfusionsrichtlinien über die Jahre geändert. Um zu untersuchen, ob sich diese Änderungen in den untersuchten Werten widerspiegeln, wurden die Hämoglobin-, Erythrozyten- und Hämatokritwerte nach vier und nach sechs Wochen aus den verschiedenen Jahren verglichen. Grundlegend ist hier die Annahme, dass durch eine striktere Transfusionsindikation die Hämoglobin-, Erythrozyten- und Hämatokritwerte niedriger werden dürfen, bevor transfundiert wird. Für diesen Vergleich wurde die Population der Kontrollkinder in drei Gruppen geteilt. Die Ergebnisse des Medianvergleichs von Hämoglobin und Hämatokrit zwischen diesen Gruppen sind in Tabelle 25 zusammengestellt:

Tabelle 29: Mediane und Quartilen der Hämoglobin-, Hämatokrit- und Erythrozytenwerte nach vier und nach sechs Wochen in Abhängigkeit vom Geburtsjahr

	Median (95% Konfidenzintervall)		
	89/90	91	92
Hämoglobin 4 Wochen (g/dl)	13,9 (13,2-14,6)	13,7 (12,7-14,0)	11,1 (10,8-11,6)
Hämatokrit 4 Wochen (%)	43 (41-46)	41 (39-43)	34 (32-35)
Erythrozyten 4 Wochen ($10^{12}/l$)	4,3 (4,0-4,6)	4,3 (3,9-4,4)	3,3 (3,2-3,6)
Hämoglobin 6 Wochen (g/dl)	12,5 (11,3-12,7)	10,7 (9,7-12,3)	9,9 (9,5-11,5)
Hämatokrit 6 Wochen (%)	39 (36-43)	33 (30-35)	30 (29-32)
Erythrozyten 6 Wochen ($10^{12}/l$)	4,2 (3,7-4,8)	3,5 (3,1-3,9)	3,2 (3,1-3,4)

Hämoglobin-, Hämatokrit- und Erythrozytenwerte nehmen im Laufe des untersuchten Zeitraums signifikant ab (für alle $p < 0,001$). Auch das transfundierte Volumen nimmt im Laufe des Observationszeitraums ab: innerhalb der ersten vier Wochen wurden 1989-90 38,6 (11,6;78,9) ml/kg (Median, Quartilen), 1991 35,1 (22,3;45,3) ml/kg und 1992 20,9 (0;37,8) ml/kg Erythrozytenkonzentrat transfundiert. Deutlich war auch die Abnahme des entnommenen Blutvolumens innerhalb der ersten vier Wochen: wurden 1989-90 38,6 (24,3;58,5) ml/kg entnommen, waren es 1991 noch 23,7 (18,8;33,1) ml/kg ($p < 0,001$).

6 Diskussion

6.1 Design- und Methodenkritik

Das Besondere der vorliegenden Arbeit ist es, dass prospektiv bei einer sehr großen Zahl von VLBW Kindern hämatologische Werte erhoben und ausgewertet wurden. Der Umstand, dass die Werte bei mehreren klinischen Multizenterstudien erhoben wurden, bedingte die im folgenden diskutierten methodischen Probleme.

Für die Datenanalyse wurden die Daten aller vier Studien gepoolt und in ihrer Gesamtheit analysiert. Es ist allerdings prinzipiell nicht auszuschließen, dass Inhomogenitäten in den zusammengeführten Datensätzen bestehen. Die Studienkinder dieser vier Studien unterscheiden sich in einigen Punkten wie Geburtsgewicht, Gestationsalter und Studiendesign (s. Tabelle 1). Um die Aussagekraft der aus dem Poolen der Daten hervorgegangenen Werte zu überprüfen, wurde eine Metaanalyse unter Zugrundelegung eines Modells mit zufälligen Effekten zur Schätzung mittlerer Effekte (gewichtete Mittelwerte) herangezogen, in der die unterschiedlichen Einflüsse der verschiedenen Studien berücksichtigt wurden (s. 5.3). In dieser Analyse wird deutlich, dass das Poolen der Daten zulässig ist, da sich die gewichteten Mittelwerte aus der Metaanalyse nicht wesentlich von den ungewichteten Mittelwerten der Pooldaten unterscheiden.

Beim Vergleich der für die Studien einzeln angegebenen Mittelwert fällt auf, dass sich die KAVH Werte mehrfach deutlich von den Werten für die drei anderen Studien unterscheiden. Dies kann dadurch zu erklären sein, dass die Werte dieser Studie in nur einem Zentrum erhoben wurden und nicht in unterschiedlichen Zentren wie bei den anderen Studien.

Im Medianvergleich der verschiedenen Werte zwischen den Zentren wird deutlich, dass sich diese z.T. deutlich voneinander unterscheiden. Besonders die Werte der roten Zellreihe unterscheiden sich signifikant. Dies kann durch unterschiedliche Behandlungsmethoden in den verschiedenen Zentren erklärt werden. So gibt es z.B. Unterschiede bei der Blutentnahmep Praxis und dem Zeitpunkt der Abnabelung. Auch die Transfusionsindikation wurde nicht überall gleich gestellt. Ebenso haben nicht alle Zentren die Möglichkeit, im Labor Mikroanalytik, d.h. die Untersuchung kleinster Blutmengen, durchzuführen. Aus diesen Gründen können Daten aus verschiedenen Zentren nicht annähernd so homogen sein, als wenn sie in einem Zentrum erhoben worden wären. Es ist außerdem zu bemerken, dass die Anzahl der an den Studien teilgenommenen Patienten sehr unterschiedlich ist (s. S. 67). Dennoch wurden die Daten in ihrer Gesamtheit untersucht, da Daten aus unterschiedlichen Zentren für andere Kliniken repräsentativer sind als Daten aus nur einer Klinik. Sie

spiegeln so die Bandbreite der in europäischen neonatologischen Zentren beobachteten Blutwerte bei VLBW Frühgeborenen wider.

Die zur besseren Interpretation von Leukozyten- und Neutrophilenwerten benötigten Informationen zu antenataler Steroidgabe sowie Infektionsstatus wurde in keiner der Studien aufgeführt. Daher können die hier erstellten Daten auch nicht zur Erstellung eines Infektions-Diagnosesystems herangezogen werden. Ebenso können die Leukozyten-, bzw. Neutrophilenwerte von Kindern mit und ohne pränataler Steroidgabe nicht verglichen werden, um so den Einfluss von Steroiden auf die Leukopoese in dieser Population zu demonstrieren.

Die vorliegenden Daten wurden nicht nach der Geburt erhoben, sondern erst drei Tage danach. Direkt nach der Geburt kommt es zu physiologischen Umstellungen, die sich auf die hier erhobenen Daten auswirken. Die vorliegende Arbeit lässt daher keine Rückschlüsse auf den Status der Hämatopoese direkt nach der Geburt zu.

Trotz dieser Einschränkungen ließen sich an einer großen Population wichtige Daten erheben, wie sie bisher in der Literatur nicht in diesem Umfang zu finden sind, und auch widerspiegeln, dass eine Frühgeburt mit einem Gewicht von weniger als 1500g nicht normal ist.

6.2 Referenzwerte am Tag 2-4

6.2.1 Erythropoese

Zaizov et al. (1976) untersuchten 73 Frühgeborene im Alter von 24 bis 33 Gestationswochen am ersten Tag nach der Geburt. Die Mittelwerte von Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit aus Fersenblut der unterschiedlich reifen Untergruppen waren $4,65 - 5,0 \times 10^{12}/l$, 18,5 – 19,4 g/dl und 60 – 63%. Während Zaizov im Gegensatz zu der vorliegenden Untersuchung steigende Erythrozytenzahlen mit zunehmenden Gestationsalter beobachtete, blieben Hämoglobin und Hämatokrit gleich. Diese Beobachtung wurde dadurch erklärt, dass die zuerst vorherrschenden Makrozyten mit zunehmenden Gestationsalter durch kleinere Normozyten ersetzt werden. Hierdurch steigt die Zellzahl, die Erythrozytenmasse insgesamt bleibt aber ebenso wie Hämatokrit und Hämoglobin gleich. Diese Beobachtung kann nicht bestätigt werden, die Daten dieser Arbeit belegen konstant bleibende Erythrozytenzahlen mit zunehmenden Gestationsalter. Die Erythrozytenmorphologie wurde nicht untersucht, daher kann eine Abnahme des Zellvolumens nicht beschrieben werden.

Haque (1991) hat die Werte von 550 VLBW Frühgeborenen wenige Stunden nach der Geburt untersucht und in Quantilenkurven dargestellt. Die daraus abgelesenen ungefähren Mittelwerte von Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozyten sind 15,0 g/dl, 45% und $4,1 \times 10^{12}/l$. Die Quantilenkurven von Haque zeigen einen deutlichen Anstieg von Erythrozyten-, Hämoglobin- und Hämatokritwerten mit zunehmenden Gestationsalter. Die in dieser Arbeit aufgestellten Quantilenkurven beschreiben dagegen nur einen Anstieg von Hämoglobin und Hämatokrit, die Erythrozytenwerte bleiben mit zunehmender Reife konstant. Allerdings sind die Werte von Haque nur bedingt mit denen dieser Arbeit vergleichbar, da der Zeitpunkt seiner Untersuchung deutlich früher ist. Wenige Stunden nach der Geburt können die Werte z.B. durch plazentare Transfusion beeinflusst sein und sich deutlich von denen einiger Tage alter Kinder unterscheiden (Usher 1963).

Im Gegensatz zu reifgeborenen Säuglingen sind die hier erstellten Werte deutlich niedriger. Nach Oski und Naiman (1982) ist ein Hämoglobinmittelwert von 16,8 g/dl für reife Neugeborene normal. Der hier erstellte Hämoglobinwert im Alter von 3 Tagen beträgt 15,6 (14,0; 17,1) g/dl (Median, Quartilen). Hierbei ist zu beachten, dass der von Oski und Naiman bestimmte Wert direkt nach der Geburt erstellt wurde und durch plazentare Transfusion im Gegensatz zum entsprechenden Wert nach einigen Tagen tendenziell erniedrigt ist.

In einer Studie von Forestier et al. wurde Nabelschnurblut von insgesamt 2860 Feten von der 18. Schwangerschaftswoche bis zur Geburt entnommen und retrospektiv analysiert, wenn das Neugeborene gesund war (Forestier 1991). Die Indikation zur Nabelschnurpunktion waren die pränatale Diagnose von Toxoplasmose, Röteln, Hämophilie, Hämoglobinopathien und Karyotypisierung. *In utero* werden mit zunehmenden Gestationsalter wachsende Erythrozytenzahlen beobachtet. Dieser Anstieg ist in der vorliegenden Arbeit nicht beobachtet worden.

Das Plasmaferritin dient zur Beurteilung der Größe des Eisenspeichers. Welche Ferritinwerte sind für VLBW Frühgeborene in der Literatur veröffentlicht? Arad (1988) untersuchte 15 Frühgeborene mit einem mittleren Gestationsalter von 29,8 Wochen. Diese Kinder hatten Ferritinwerte von 182 ± 37 ng/ml (Mittelwert \pm SD), signifikant niedriger als der Ferritinwert von 40 Reifgeborenen mit 323 ± 25 ng/ml. In einer Studie von Soubasi (1993) hatten 7 VLBW Frühgeborene mit unkompliziertem Verlauf einen Ferritinwert von 222 ± 243 ng/ml (Mittelwert \pm SD) und 12 VLBW Frühgeborene einen Wert von 248 ± 128 ng/ml. Lackmann (1998) bestimmte die Ferritinwerte von 12 VLBW Frühgeborenen kurz nach der Geburt. Die Ferritinwerte dieser Kinder waren 88 (37;254) ng/ml (Median; Quartilen). Der in dieser Arbeit bestimmte Ferritinwert 140 (80;204) ng/ml (Median; Quartilen) ist aus einer Population von 431 Kindern bestimmt worden und liegt deutlich unter den

Werten aus älteren Studien und über der Studie von Lackmann. Kurz nach der Geburt scheinen die Eisenspeicher von Frühgeborenen kleiner zu sein, als zuvor angenommen wurde. Dies kann auch die Beobachtung erklären, dass manche Frühgeborene nicht auf rhEPO ansprechen.

6.2.2 Thrombopoese

In einer Population von nicht selektierten Neugeborenen liegt die Prävalenz von Thrombozytopenie bei 0,9% (Dreyfus 1997). Bei kranken Neugeborenen ist eine Thrombozytopenie weit häufiger. Castle (1986) untersuchte in einer prospektiven Studie 807 Neugeborene einer Intensivstation. 22% dieser Kinder hatten Thrombozytenwerte unter $150 \times 10^9/l$, 13% sogar unter $100 \times 10^9/l$. Als Ursache für die Thrombozytopenie wurden Thrombozyten assoziierte IgG (52%), Verbrauchskoagulopathie (21%) und Austauschtransfusionen (12%) genannt. Außerdem ist ein wichtiger Risikofaktor für eine Thrombozytopenie die perinatale Asphyxie. Auch Engle (1984) fand Thrombozytenwerte unter $100 \times 10^9/l$ in einer Population 45 Neugeborener mit Asphyxie (15%), mit Sepsis (23%) und von Müttern mit Schwangerschaftshypertonie (15%). Die in dieser Arbeit bestimmten Prävalenzen stimmen mit denen von Castle überein. Jedoch hat sich keine der obigen Studien ausschließlich mit VLBW Frühgeborenen befasst.

Mit zunehmenden Gestationsalter bleiben die Thrombozytenzahlen konstant. Eine ähnliche Entwicklung hat auch Forestier (1991) *in utero* beobachtet, jedoch sind die Werte dieser Arbeit insgesamt höher als *in utero*.

6.2.3 Leukopoese

Das Neugeborene und besonders das Frühgeborene sind anfällig für schwere bakterielle Infektionen. Hierbei spielt die quantitative und qualitative Unreife des myeloischen und phagozytischen Systems eine große Rolle, die u.a. zu einer Neutropenie führt. Diese macht das Frühgeborene besonders anfällig für Infektionen wie Pneumonien, B-Streptokokkensepsis oder Meningitis. Fanaroff (1994) untersuchte in einer kontrollierten Studie den Einfluss von intravenös applizierten Immunglobulinen bei VLBW Frühgeborenen zur Senkung der Rate nosokomialer Infektionen. Es wurde demonstriert, dass eine Sepsis, insbesondere durch eine nosokomiale Infektion, bei 17,2% von 1212 Kontrollkindern auftritt. Zur Diagnose einer Infektion werden Leukozytenwerte und das Differentialblutbild hinzugezogen, Blutkulturen sind bei Frühgeborenen oft nicht aufschlussreich. Anhand von unterschiedlichen Kriterien wie Leukozytose, Leukozytopenie, erhöhtes I:T Verhältnis, Thrombozytopenie, degenerative Granulozytenveränderungen sind sogenannte "hematologic scoring systems" (HSS) entwickelt worden (Rodwell 1988, 1993). Zur Erstellung dieser Diagnosesysteme wurden Daten von Kindern mit Gestationsaltern >29 Wochen verwendet. Die vorliegenden

Daten können nicht für ein solches Diagnosesystem verwendet werden, da es nicht möglich war, in der Population am Tag 3 eine Untergruppe ohne Infektion zu definieren.

Die Daten dieser Studie unterstreichen die Erkenntnis aus anderen Studien, dass Frühgeborene niedrigere Leukozytenwerte haben als Reifgeborene. Coulombel (1979) untersuchte 25 Frühgeborene von weniger als 32 Gestationswochen ohne Anzeichen einer bakteriellen Infektion. Die Neutrophilenwerte während der ersten 12 Lebensstunden betragen $6,0 \pm 1,0 \times 10^9/l$ (Mittelwerte ± 2 SD). Lloyd (1982) bestimmte den Verlauf von Leukozytenwerten während der ersten fünf Lebens-tage von 24 gesunden Kindern mit weniger als 33 Gestationswochen. Am Tag 3 waren die Mittelwerte der Neutrophilenwerte $4,63 \times 10^9/l$ (Verteilung: $1,28 - 13,94 \times 10^9/l$). Faix (1989) untersuchte 114 VLBW Frühgeborene, die keine Anzeichen einer Infektion aufwiesen. Am Tag 3 hatten 15% der Kinder eine Neutropenie nach der Definition von Manroe (1979) und 56% aller Kinder zu einem beliebigen Zeitpunkt während der ersten zwei Lebenswochen. In einer Studie von de Winter (1991) wurden Neutrophilen- und Leukozytenwerte von 46 Kindern mit einem Gestationsalter von weniger als 32 Wochen bestimmt. Das durchschnittlicher Alter zum Zeitpunkt der Untersuchung war 12,9 Tage, es variierte von 6 bis 28 Tagen. Der Mittelwert für die Leukozyten war $13,0 \pm 5,5 \times 10^9/l$ (Mittelwert \pm SD), der Mittelwert der Neutrophilen $5,2 \pm 4,3 \times 10^9/l$ (Mittelwert \pm SD). In der oben erwähnten Studie von Haque (1991) ist die 5% Perzentile für Leukozyten $4,0 - 6,0 \times 10^9/l$. Mouzinho (1994) untersuchte Neutrophilenwerte bei 193 VLBW Frühgeborenen. Nach Ausschluss von 14 Untergruppen wurden Neutrophilenwerte von 63 "normalen" Kinder direkt nach der Geburt und von 31 "normalen" Kindern 60 Stunden bis 28 Tage postnatal zusammengestellt. Nach 60 Stunden war das 90% Referenzintervall für Neutrophile $1,1 - 14,0 \times 10^9/l$, nach 4 Wochen $1,1 - 6,0 \times 10^9/l$.

Für die vorliegende Untersuchung wurden die Werte aller Kinder verwendet, die im Rahmen der Erythropoietin Studien die Einschlusskriterien erfüllten. Wie schon bei der Beschreibung der Studien erwähnt, führten peri- und neonatale Komplikationen, die die Leukozytenwerte beeinträchtigen können, nicht zum Ausschluss aus der Studie. Zu solchen Komplikationen zählen Infektionen, hypertensive Erkrankung der Mutter, Asphyxie u.a. (Mouzinho 1994). Diese Population ist daher keine Population von "normalen" Kindern, sondern ein Querschnitt durch eine neonatale Abteilung; es ist zu erwarten, dass die Werte weiter gestreut sind als in der Untersuchung von Mouzinho (1994). Die vorliegenden Werte können aus diesem Grund auch nicht zur Weiterentwicklung von Diagnosesystemen verwendet werden.

Das Referenzintervall von Mouzinho (1994) für Neutrophilenwerte bei VLBW Frühgeborenen in den ersten 60 Lebensstunden liegt bei $1,1 - 2,2 \times 10^9/l$ (5. Perzentile) bis $14 \times 10^9/l$ (95. Perzentile). Die vorliegende Untersuchung weist Werte auf, die im oberen Bereich über diesem Referenzintervall liegen, die 95. Perzentile dieser Untersuchung liegt bei $21,7 \times 10^9/l$. Dieser Unterschied ist dadurch zu erklären, dass nicht nur - wie bei Mouzinho - "normale" Frühgeborene untersucht wurden, sondern alle im Rahmen der EPO Studien eingeschlossenen Kinder. Im unteren Bereich sind die Werte vergleichbar.

Die Leukozyten- und Neutrophilenwerte verhalten sich in Abhängigkeit vom Gestationsalter entgegengesetzt der *in utero* beobachteten, wo die Werte der weißen Zellreihe kontinuierlich ansteigen (Forestier 1991). Besonders bei Kindern niedrigen Gestationsalters werden hohe Leukozytenzahlen beobachtet. Hieraus lässt sich schließen, dass besonders die sehr unreifen Frühgeborenen von Komplikationen betroffen sind, die ihre Leukozytenwerte noch *in utero* oder sofort nach der Geburt beeinflussen. So können z.B. die pränatal eingesetzten Glukokortikoide die Leukozytenwerte verändern, die besonders bei sehr unreifen Feten bei einer drohenden Frühgeburt zur Lungenreifung eingesetzt werden.

Glukokortikoide erhöhen die Leukozytenzahlen, indem sie die Freisetzung von Neutrophilen aus dem Knochenmark fördern, sowie ihre Migration vom Blut ins Gewebe verringern (Bishop 1968). In verschiedenen Studien ist gezeigt worden, dass es auch bei Neugeborenen zu einer Leukozytose kommen kann, wenn Glukokortikoide pränatal zur Lungenreifung oder postnatal, z.B. vor Extubation, gegeben werden (Anday 1982, de Winter 1991, Barak 1992). Bei den meisten Kindern der vorliegenden Untersuchung wurden Glukokortikoide pränatal gegeben, allerdings wurde diese Gabe nicht dokumentiert. Es ist davon auszugehen, dass die Leukozyten- und Neutrophilenwerte am Tag 3 von dieser Medikamentengabe beeinflusst sind. So sind die beschriebenen hohen Werte zumindest zum Teil durch die Steroidgabe zu erklären, da die Werte für mindestens 7 Tage nach der letzten Steroiddosis deutlich erhöht bleiben (Barak 1992). Zwar ist das Steroid schon drei Tage nach der letzten Dosis nicht mehr im Nabelschnurblut nachweisbar (Ballard 1975, Anderson 1977), die endogene Kortisolproduktion kann aber bis zu zwei Wochen danach noch eingeschränkt sein. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass das Steroid in peripheren Zellen weiterhin in pharmakologisch wirksamer Konzentration vorhanden ist (Butler 1970) oder aber dessen aktiven Metabolite über einen längeren Zeitraum stabil sind (Ballard 1975).

6.3 Werte im Verlauf der ersten sechs Lebenswochen

6.3.1 Erythropoese

Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozyten fallen über den untersuchten Zeitraum von sechs Wochen stark ab. Dieser Abfall ist zum einen durch die physiologische Entwicklung der Frühgeborenenanämie verursacht, zum anderen ist er durch das Verschreibungsverhalten der behandelnden Ärzte beeinflusst.

Lundström (1977) untersuchte die Hämoglobinwerte von 17 VLBW Frühgeborenen, die Ferritinwerte von ≥ 10 ng/ml hatten. Nach zwei Wochen betragen die Hämoglobinwerte 16,6 g/dl (Median) und 11,7 – 18,4 g/dl (95% Intervall), nach 4 Wochen 10,9 g/dl und 8,7 – 15,2 g/dl. Rönholm (1985) bestimmte die Hämoglobinwerte von 35 VLBW Kindern. Die Mittelwerte fielen von 16,0 g/dl nach einer Woche auf 10,2 g/dl (für Kinder, die mit Muttermilch und Proteinzusatz ernährt wurden) und 11,8 g/dl (Muttermilch ohne Proteinzusatz) nach sechs Wochen. In einer Studie von Soubasi (1995) hatten 29 VLBW Frühgeborene einen Hämatokritwert von 28% im Alter von sechs Wochen.

Nach der Geburt fallen die Retikulozytenwerte und verbleiben für die Dauer der Studien auf niedrigem Niveau. Dies deutet auf eine hyporegenerative Anämie hin: die Erythropoietinproduktion des Neugeborenen nimmt rapide ab, da der pO_2 nach der Umstellung von plazentarer auf pulmonale Zirkulation stark zunimmt.

Der Ferritinwert in dieser Untersuchung ist von 140 (80;204) ng/ml (Median,Quartilen) im Alter von 3 Tagen auf 110 (61/193) ng/ml im Alter von sechs Wochen gefallen. Im Vergleich hierzu haben in der Studie von Shannon (1995) nach etwa sechs Wochen ca. 60 VLBW Frühgeborene (die genaue Zahl ist in der Studie nicht angegeben) einen Ferritinwert von 267 ± 220 (Mittelwert \pm SD). Hall (1993) untersuchte Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht von weniger als 1800 g. Etwa sechs Wochen nach der Geburt hatten 20 Kinder einen Ferritinwert von 88 ± 59 ng/ml (Mittelwert \pm SD, Ernährung mit Fertigmilch mit 15 mg/l Eisen), 23 Kinder 54 ± 45 ng/ml (Fertigmilch mit 3 mg/l Eisen) und 13 Kinder 101 ± 66 (Muttermilch mit 1,7 mg/l Eisen). Durch Ernährung mit 15mg/l Eisenzusatz in der Fertigmilch bekamen die Kinder etwa 1,3 mg/kg/d Eisen zugeführt. Dies ist eine geringere Eisensubstitution als in den verschiedenen EPO-Studien und kann die geringeren Ferritinwerte von Hall erklären.

6.3.2 Thrombopoese

Die Inzidenz der Thrombozytopenie nimmt im Verlauf der ersten sechs Lebenswochen kontinuierlich ab. Besonders stark ist der Abfall während der ersten zwei Lebenswochen. Castle (1986) hat berichtet, dass eine Thrombozytopenie am häufigsten um den vierten Lebenstag auftritt und sich in der Regel nach 2 Wochen zurückgebildet hat. Diese Entwicklung ist verständlich, wenn man davon ausgeht, dass der Abfall der Thrombozyten durch Risikofaktoren wie Asphyxie, maternale Hypertension oder Sepsis beeinflusst (Engle 1984), sowie ursächlich durch Antikörper, Verbrauchskoagulopathie oder Austauschtransfusionen ausgelöst werden kann (Castle 1986). Diese Konditionen sind vor allem in den ersten Lebenstagen bedeutsam. Außerdem steigt die Thrombopoietinkonzentration bei thrombozytopenischen VLBW Frühgeborenen innerhalb der ersten 5 Lebenstage deutlich an, wodurch wiederum ein Anstieg der Thrombozyten verursacht wird (Watts 1999).

6.3.3 Leukopoese

Sowohl die Leukozyten- als auch die Neutrophilenwerte nehmen im Verlauf der ersten sechs Lebenswochen nach initial erhöhten Werten stark ab. Nach sechs Wochen hatten 36 % der Kinder Neutrophilenwerte von unter $1,75 \times 10^9/l$, 12% der Kinder sogar unter $1,1 \times 10^9/l$. Nach den Referenzwerten von Manroe (1979), die für gesunde Reifgeborene im Alter von 5 - 28 Tagen mit $1,75 - 5,4 \times 10^9/l$ Neutrophilen angegeben sind, ist über ein Drittel unserer Population neutropenisch. Mouzinho (1994) erstellte Referenzwerte für VLBW Frühgeborene (s. 6.2.3), diese sind für den Zeitraum von 5 bis 28 Tagen mit $1,1 - 6,0 \times 10^9/l$ Neutrophile angegeben. Somit ist nach Mouzinho über ein Zehntel unserer Population neutropenisch. Auch im Vergleich mit älteren Studien sind viele der Kinder dieser Untersuchung neutropenisch: Xanthou (1970) gibt das Referenzintervall für Neutrophile bei 10 Tage alten Reifgeborenen mit $1,8 - 5,5 \times 10^9/l$ an, Gregory (1972) mit $1,65 - 6,4 \times 10^9/l$ (für Reifgeborene im Alter von 7 - 28 Tagen).

Der oben beschriebene Einfluss von pränatalen Steroiden, der die Leukozyten- und Neutrophilenwerte nach der Geburt beeinflusst, hält für etwa eine Woche an (Barak 1992). So ist der starke Abfall der Werte in den ersten zwei Lebenswochen zu erklären, da ein Großteil der Kinder pränatal Steroide bekommen hatte, aber nur weniger als 2% der Kinder postnatal Steroide erhalten hatten. Spätestens nach einer Woche ist also der pränatale Steroideffekt nicht mehr nachweisbar und die Leukozyten- und Neutrophilenwerte fallen.

6.4 Einflussgrößen

6.4.1 Transfusionen

Unterschiedliche Faktoren tragen dazu bei, dass Frühgeborene eine Anämie bekommen und Transfusionen benötigen: das bei der Geburt vorhandene Blutvolumen, die Menge des iatrogenen Blutverlustes, die wiederum von der Schwere und Dauer der Intensivmaßnahmen abhängt, Depression der Erythropoese nach einer Frühgeburt (Maier 1996). Ein Drittel der vorliegenden Population hatte am Tag 3 schon mindestens eine Transfusion erhalten. Daher wurde untersucht, wie Transfusionen die hier erstellten Werte beeinflussen.

Bei Kindern, die am Tag 3 schon eine oder mehrere Transfusionen bekommen haben, sind die Werte von Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten und Retikulozyten signifikant niedriger als bei Kinder, die zu diesem frühen Zeitpunkt noch keine Transfusion erhalten haben. Da die Indikation zur Transfusion aufgrund von Parametern der roten Zellreihe gestellt werden, ist nachvollziehbar, dass gerade die Kinder, die eine Transfusion benötigt haben, auch niedrige Hämoglobin-, Hämatokrit-, Erythrozyten- und Retikulozytenwerte haben.

Das Ferritin ist bei Kindern, die schon eine Transfusion erhalten haben, höher als bei Kindern ohne Transfusion. Zum einen steigt es als Indikator für den Eisenspeicher durch die Transfusionen selbst an, zum anderen zählt es zur Gruppe der Akute Phase Proteine und kann bei schweren Erkrankungen, die gleichzeitig auch eine Transfusion nach sich ziehen können, erhöht sein.

Wie in 6.2.2 ausführlich dargestellt, kann eine Thrombozytopenie durch unterschiedliche Erkrankungen verursacht, bzw. begünstigt werden (Castle 1986, Engle 1984, Forestier 1998). Beim Vorliegen solcher Erkrankungen ist die Wahrscheinlichkeit, dass das betroffene Kind zu diesem frühen Zeitpunkt schon eine Transfusion benötigt, höher, als bei einem vergleichsweise gesunden Kind. Es ist daher verständlich, dass Kinder in der Gruppe der transfundierten Kinder niedrigere Thrombozytenwerte haben als Kinder der Vergleichsgruppe.

Die Leukozytenwerte in der Gruppe der transfundierten Kinder unterscheiden sich von denen in der Vergleichsgruppe. Dies kann dadurch erklärlich sein, dass besonders bei sehr unreifen Feten Glukokortikoide zur Lungenreifung eingesetzt werden, die eine Leukozytose verursachen können (Anday 1982, Barak 1992). Eben diese unreifen Frühgeborene benötigen häufiger Transfusionen als reifere Frühgeborene, so dass in der Gruppe der transfundierten Kinder die Leukozyten- und Neutrophilenwerte höher sind als in der Vergleichsgruppe. Bei den Neutrophilenwerten ist kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen zu verzeichnen.

6.4.2 Iatrogenetischer Blutverlust

In dieser Untersuchung wurden Werte von Kindern herangezogen, die aufgrund ihrer Frühgeburtlichkeit und unterschiedlicher Krankheiten behandelt wurden. Je schlechter es einem Kind geht, desto mehr Blut wird ihm in der Regel auch entnommen. Der Blutverlust hängt stärker von der Schwere der Erkrankung als vom Geburtsgewicht ab (Obladen et al. 1988). Besonders bei beatmeten Kindern ist der iatrogene Blutverlust sehr hoch, da für die Blutgasanalyse und andere diagnostische Verfahren häufig Blut entnommen werden muss. Eine mögliche Einflussgröße dieser Untersuchung ist daher das entnommene Blutvolumen. Es ist hoch bei sehr kranken Kindern, die lange beatmet werden müssen, bei Kindern mit komplikationsarmem Verlauf dagegen niedrig.

Die Hämoglobin-, Hämatokrit- und Erythrozytenwerte am Tag 3 sind in der Gruppe der Kinder mit niedrigem Blutverlust signifikant höher als in der Gruppe der Kinder mit hohem Blutverlust. Dies kann darauf hindeuten, dass schon zu diesem frühen Zeitpunkt durch häufige Blutentnahmen, z.B. durch Blutgasanalysen bei beatmeten Kindern, die Werte iatrogen verringert wurden. Eine andere Erklärung für diese Beobachtung könnte sein, dass sich in der Gruppe der Kinder mit hohem Blutverlust unreifere Kinder als in der Gruppe mit niedrigem Blutverlust befinden

Nach sechs Wochen hat sich die Situation umgekehrt: die Hämoglobin-, Hämatokrit- und Erythrozytenwerte sind in der Gruppe von Kindern mit hohem Blutverlust signifikant höher als in der Gruppe von Kindern mit niedrigem Blutverlust. Obwohl Kindern in der Gruppe mit hohem Blutverlust insgesamt mehr Blut entnommen wurde als Kindern der anderen Gruppe, konnten diese Verluste durch häufigere Transfusionen ausgeglichen werden: in der Gruppe von Kindern mit hohem Blutverlust wurde signifikant häufiger transfundiert als in der Vergleichsgruppe. Dadurch fielen die beschriebenen Werte in dieser Gruppe über den Zeitraum von 6 Wochen weniger ab als die der Vergleichsgruppe. Ein weiterer Grund für diesen Unterschied ist die Tatsache, dass Kinder mit niedrigem Blutverlust weniger schwer krank sind, daher wird länger abgewartet, bis eine Transfusion indiziert ist.

Es wurde festgestellt, dass der iatrogene Blutverlust mit dem transfundierten Gesamtvolumen korreliert. Diese Beobachtung stimmt mit den Berichten anderer Autoren überein. Obladen (1988) beschreibt eine hohe Korrelation zwischen dem zu diagnostischen Zwecken entnommenen Blutvolumen und dem transfundierten Volumen. Auch Shannon (1995) stellt diese Korrelation fest, wobei ein direkter Vergleich nicht möglich ist, da bei Shannon sowohl das entnommene als auch das transfundierte Volumen nicht auf das Körpergewicht bezogen wurden.

Das entnommene Gesamtblutvolumen unterscheidet sich beträchtlich zwischen den 19 europäischen Zentren, die zu den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Daten beigetragen haben. Diese Unterschiede können an verschiedenen Faktoren liegen: Routine Blutentnahmepraktiken können sich unterscheiden, nicht alle Kliniken haben die Möglichkeit, mikroanalytische Laboruntersuchungen durchzuführen, Kinder können unterschiedlich schwer erkrankt sein.

6.4.3 Antibiotika

Early-onset Sepsis gehört zu einer der häufigsten Differentialdiagnosen bei VLBW Frühgeborenen. Häufig wird schon bei Geburt eine Antibiotikatherapie initiiert, da das Risiko von Begleiterkrankungen wie z.B. schwere Gehirnblutungen, ein persistierender Ductus arteriosus oder eine lange Beatmungsdauer im Falle einer manifesten Sepsis hoch ist (Stoll 1996). Im Falle der vorliegenden Untersuchung bekamen am Tag 3 85% aller Kinder Antibiotika. Stoll et.al (1996) fanden bei 7861 VLBW Frühgeborenen zwischen 1991 und 1993 in nur 1,9% dieser Kinder positive Blutkulturen. Fast die Hälfte der Population hatte aber nach klinischen Gesichtspunkten eine Sepsis und wurde mindestens 5 Tage lang antibiotisch behandelt. Diese Daten unterstreichen die hier angenommene Prämisse, dass Kinder ohne Antibiotikatherapie mit großer Wahrscheinlichkeit keine Infektion haben, der Gegenschluss aber nicht zulässig ist.

Am Tag 3 sind die Hämoglobin-, Hämatokrit-, Erythrozyten- und Retikulozytenwerte von Kindern ohne Antibiotikatherapie signifikant höher als von Kindern mit Antibiotikatherapie. Dies korreliert mit den Beobachtungen, dass die beschriebenen Werte niedriger sind, wenn das Kind einen hohen iatrogenen Blutverlust hat (s. 5.4.2) oder wenn es schon eine oder mehrere Transfusionen erhalten hat (s. 5.4.1). Diese Kriterien – Antibiotikatherapie, Transfusionen und iatrogenen Blutverlust – stehen für die Schwere der Erkrankung eines Kindes. Es ist also zu argumentieren, dass je schwerer eine Kind erkrankt ist, die Werte der roten Blutreihe am Tag 3 umso niedriger sind.

Das Ferritin ist in der mit bis zum 3. Tag mit Antibiotika behandelten Gruppe signifikant höher als in der Vergleichsgruppe. Als Akute Phase Protein ist es bei Infektionen erhöht und erklärt so den beobachteten Unterschied. Auch die Leukozyten- und Neutrophilenwerte sind bei den mit Antibiotika behandelten Kindern signifikant erhöht. Die mit Antibiotika behandelten Kinder sind signifikant unreifer als die Vergleichsgruppe. Je unreifer ein Kind, desto wahrscheinlicher wurde es auch pränatal Steroiden zur Lungenreifung ausgesetzt, die wiederum zu einer Erhöhung der Leukozyten führen können.

Nach sechs Wochen verhalten sich die Werte der roten Reihe genau umgekehrt: sie sind in der mit Antibiotika behandelten Gruppe signifikant höher als in der Vergleichsgruppe. Ähnliches ist für den iatrogenen Blutverlust beschrieben (s. 5.4.2). Es ist anzunehmen, dass sowohl Kinder mit Antibiotikabehandlung als auch Kinder mit hohem iatrogenen Blutverlust schwerer erkrankt sind als die der Vergleichsgruppe. Dafür spricht, dass Kinder mit Antibiotikabehandlung nach sechs Wochen signifikant mehr Transfusionen erhalten haben als Kinder ohne Antibiotikabehandlung. Dies kann die höheren Hämoglobin-, Hämatokrit- und Erythrozytenwerte erklären. Auch das Ferritin ist in der Gruppe von mit Antibiotika behandelten Kindern nach sechs Wochen höher als in der Vergleichsgruppe ohne Antibiotika. Wie oben erwähnt ist es als Akute Phase Protein bei Infektionen erhöht.

6.5 veränderte Transfusionsindikation

VLBW Frühgeborene benötigen häufig multiple Transfusionen, oftmals mehr als ihr eigenes Blutvolumen (Sacher 1989, Strauss 1991). Zum einen entwickeln viele Frühgeborene eine Frühgeborenenanämie (Shannon 1990), die sehr viel stärker ausgeprägt ist als die physiologische postnatale Anämie bei Reifgeborenen. Zum anderen wird ihnen zu diagnostischen Zwecken viel Blut entnommen, und zwar um so mehr, je kränker sie sind (Obladen 1988). Jede Transfusion birgt jedoch Gefahren in sich. Es kann zu Infektionen mit Hepatitis Viren, Cytomegalievirus oder HIV kommen, die zwar durch Screening der Konserven selten geworden sind, aber dennoch nicht auszuschließen sind (Strauss 1991). Zu den nichtinfektiösen Komplikationen zählen u.a. Hypervolämie, Elektrolytentgleisungen, graft-vs.-host disease (Sanders et al. 1990), Alloimmunisierung (Bajchman 1984). Außerdem konnte in unterschiedlichen randomisierten Studien kein großer Nutzen von Transfusionen für Frühgeborene nachgewiesen werden (Ross 1989, Meyer 1993). Es wird empfohlen, die Indikation zur Transfusion nur in dringenden Fällen zu stellen (Strauss 1991).

Um die Anzahl von Transfusionen bei Neugeborenen zu verringern, sind verschiedene Ansätze und Strategien entwickelt worden. Die Einführung von Transfusionsrichtlinien kann die Anzahl von Transfusionen bei VLBW Frühgeborenen signifikant verringern (Alagappan 1998). In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass die Therapie mit rekombinantem humanen Erythropoietin die Anzahl der benötigten Transfusionen bei Frühgeborenen verringern kann (Maier 1994, Meyer 1994, Shannon 1995, Maier 1998). Durch verbesserte mikroanalytische Labormethoden (Bifano 1995) und zur Zeit noch im Tiermodell getestete sogenannte "in-line" Verfahren (Woudstra 1995) kann das iatrogen entnommene Blutvolumen vermindert werden. Ein großer Anteil des diagnostischen Blutverlustes kommt durch häufige Blutentnahmen zur Blutgasanalyse bei beatmeten Kindern

zustande. Es ist anzunehmen, dass durch eine Verbesserung und Verkürzung der Beatmungstherapie diese Blutverluste verringert werden können (Widness 1996). Durch spätes Abnabeln (nach mindestens 20 bis 30 Sekunden) bekommt das Frühgeborene mehr Erythrozyten aus der Plazenta, und es kommt dadurch zu weniger respiratorischen Problemen und sekundär zu geringeren iatrogenen Blutverlusten (Wardrop 1995). Schließlich kann durch verbesserte Konservierungsmedien die Anzahl verschiedener Spender und damit die Infektionsrisiken herabgesetzt werden (Lee 1995, Strauss 1996).

Kann durch die hier erhobenen Daten nachgewiesen werden, dass in den letzten Jahren zunehmend weniger Blut entnommen wurde? Und spiegeln sich in ihnen veränderte Transfusionsindikationen wider? Deutlich ist der Vergleich des transfundierten Gesamtvolumens, das im Verlauf der Jahre 1989 bis 1992 signifikant abnimmt. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass, wenn in den letzten Jahren weniger und später transfundiert wurde als zuvor, die Hämoglobin und Hämatokritwerte niedriger sind als bei häufigen Transfusionen. In der Tat lässt sich beobachten, dass die Mediane von Hämatokrit und Hämoglobin sowohl nach vier als auch nach sechs Wochen im Verlauf der untersuchten Jahre signifikant abnehmen. Aus diesen Daten ist abzuleiten, dass sich die von den behandelnden Ärzten zugelassenen Werte für Hämatokrit und Hämoglobin nach unten verschoben haben, d.h. es wird weniger, bzw. später transfundiert. Eine ähnliche Entwicklung haben Widness et.al (1996) in einer retrospektiven Studie der Jahre 1982 bis 1993 festgestellt: die Anzahl der Transfusionen pro Kind fiel von 7,0 in 1982 auf 2,3 in 1993 ($p < 0,001$), gleichzeitig fiel der Hämatokrit vor der Transfusion von 34% in 1982 auf 30% in 1993 ($p < 0,001$).

Auch der iatrogene Blutverlust fiel in dem untersuchten Zeitraum signifikant. Schon in diesem kurzen Zeitraum ist eine Entwicklung hin zu geringeren iatrogenen Blutverlusten zu verzeichnen, die zum einen ein verändertes Bewusstsein der behandelnden Ärzte widerspiegelt, zum anderen auch durch die zunehmende Durchsetzung der oben genannten Strategien herbeigeführt sein kann. Ein wichtiger Faktor ist weiterhin die pränatale Behandlung mit Steroiden zur Lungenreifung sowie die Behandlung mit Surfactant, die die Beatmungsdauer herabsetzt und dadurch auch das für Blutgasanalysen entnommene Blutvolumen.

Diese Daten spiegeln wider, dass die Indikation zur Transfusion bei Frühgeborenen in den letzten Jahren zunehmend enger gestellt wird. Es bleibt zu hoffen, dass durch die Weiterentwicklung oben genannter Strategien die Menge der benötigten Transfusionen weiter reduziert werden kann und dadurch die Transfusionsrisiken auf ein Minimum gesenkt werden können.

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sind die hämatologischen Daten von 562 Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von weniger als 1500 g (VLBW Frühgeborene) ausgewertet worden. Diese Daten wurden zum überwiegenden Teil prospektiv und longitudinal in 19 europäischen Kliniken im Rahmen von Studien über die Anwendung von rekombinantem Erythropoietin zur Verringerung der Transfusionshäufigkeit bei VLBW Frühgeborenen erhoben. Es wurden anhand dieser sehr großen Zahl von VLBW Frühgeborenen hämatologische Referenzwerte erstellt, die bisher in der Literatur nicht in einem vergleichbaren Umfang zu finden sind. Da die Daten multizentrisch erhoben wurden, sind sie für viele Werte nicht homogen, stellen aber gleichzeitig einen repräsentativen Querschnitt der VLBW Frühgeborenen auf europäischen Intensivstationen dar. In einer Metaanalyse wurde dargestellt, dass sich die gewichteten Mittelwerte unwesentlich von den ungewichteten Mittelwerten unterscheiden und so die Gesamtaussage durch das Poolen der Daten nicht verfälscht wird.

Die zusammengestellten Werte werden nicht als Normalwerte, sondern als Referenzwerte bezeichnet, da die Geburt eines VLBW Frühgeborenen nicht normal ist und oft mit pränataler Steroidbehandlung, Amnioninfektionssyndrom oder Blutungen assoziiert ist. Die erstellten Referenzwerte beschreiben einen Erwartungsbereich: welche Blutwerte können für ein VLBW Frühgeborenes in intensiver ärztlicher Betreuung erwartet werden? Diese Werte spiegeln nicht nur physiologische Prozesse wider, sondern sind zu einem großen Teil ein Resultat ärztlichen Handelns.

Die Daten geben Aufschluss über hämatologische Werte am 3. Lebenstag, an dem die postnatale Adaptation abgeschlossen ist, und da die ersten Werte im Rahmen der Studien am Tag 3 erhoben wurden, nicht zum Zeitpunkt der Geburt. Für die Werte am 3. Lebenstag wurden keine Kinder aufgrund einer vermuteten Infektion oder pränataler Steroidtherapie ausgeschlossen, so dass die hier erstellten Werte nicht zur Infektionsdiagnostik verwendet werden können.

Die hier bestimmten Werte der roten Zellreihe am 3. Lebenstag sind deutlich niedriger als die für reifgeborene Kinder veröffentlichten Werte. Für VLBW Frühgeborene sind nur wenige Studien zu Erythrozyten-, Hämoglobin- oder Hämatokritwerten durchgeführt worden, die sich zudem in deutlich niedrigeren Fallzahlen und Design von der vorliegenden Arbeit unterscheiden, so dass ein Vergleich nur begrenzt möglich ist. Die *in utero* in Abhängigkeit vom Gestationsalter beobachtete Zunahme der Erythrozyten kann bei VLBW Kindern nicht festgestellt werden. Über einen Zeitraum von sechs Wochen fallen die Werte von Hämoglobin, Erythrozyten und Hämatokrit signifikant ab. Dieser Abfall ist zum einen durch die Entwicklung der Frühgeborenenanämie verursacht, zum anderen von den behandelnden Ärzten durch Transfusionen und Blutentnahmen beeinflusst. Über

die Ferritinwerte bei VLBW Frühgeborenen gibt es in der Literatur wenig Übereinstimmung, zudem haben die veröffentlichten Studien geringe Fallzahlen. Die hier bestimmten Werte am Tag 3 und nach sechs Wochen liegen zwischen den bis dato veröffentlichten.

Eine Thrombozytopenie tritt bei den hier untersuchten VLBW Kindern am dritten Lebenstag bei 29% der Kinder auf. Auch in anderen Studien an kranken reif- und frühgeborenen Kindern wurde auf die Häufigkeit von Thrombozytopenie hingewiesen, jedoch hat sich keine speziell mit VLBW Frühgeborenen beschäftigt. Zu den Ursachen dieser Thrombozytopenie zählen Thrombozyten assoziierte IgG, Verbrauchskoagulopathie, Austauschtransfusion oder Asphyxie. Ähnlich wie *in utero* bleiben die Thrombozytenzahlen in Abhängigkeit vom Gestationsalter konstant. Die am dritten Lebenstag beobachtete Thrombozytopenie bildet sich während der ersten Lebenswochen rasch zurück.

VLBW Frühgeborene haben in den ersten Lebenstagen niedrigere Leukozytenzahlen als Reifgeborene oder reifere Frühgeborene. Die Leukozytenzahlen am 3. Tag der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Population liegen über dem von Mouzinho (1994) für VLBW Frühgeborene erstellten Referenzintervall, da Kinder weder aufgrund einer manifesten Infektion noch aufgrund von pränataler Steroidbehandlung ausgeschlossen wurden. Nach sechs Wochen ist ein Zehntel der Population nach der Definition von Mouzinho (1994) neutropenisch.

Die hier erstellten Werte werden durch Transfusionen, iatrogenen Blutverlust und Infektionen beeinflusst. Außerdem wird deutlich, dass die behandelnden Ärzte zwischen den Jahren 1989 und 1992 zunehmend weniger transfundierten und dadurch im Jahr 1992 niedrigere Hämoglobin-, Erythrozyten- und Hämatokritwerte zuließen als noch einige Jahre zuvor. Zudem nahm in diesem Zeitraum das entnommene Gesamtblutvolumen signifikant ab.

Literatur

- Alagappan A, Shattuck KE und Malloy MH (1998): Impact of transfusion guidelines on neonatal transfusions. *J Perinatol* 18: 92-97
- Al-Mulla ZS und Christensen R (1995): Neutropenia in the neonate. *Clin Perinat* 22: 711-739
- Alverson DC (1995): The physiologic impact of anemia in the neonate. *Clin Perinat* 22: 609-625
- Anday E und Harris MC (1982): Leukemoid reaction associated with antenatal dexamethasone administration. *J Pediatr* 101: 614-616
- Anderson ABM, Jennser G, et al. (1977): Placental transfer and metabolism of betamethasone in human pregnancy. *Obstet Gynecol* 49: 471-474
- Anderson DC (1989): Neonatal neutrophil dysfunction. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 11: 224-226
- Arad I, Konijn A, et al. (1988): Serum ferritin levels in preterm infants after multiple blood transfusions. *Am J Perinat* 5: 40-43
- Ballard PL, Granberg P und Ballard RA (1975): Glucocorticoid levels in maternal and cord serum after prenatal betamethasone therapy to prevent respiratory distress syndrome. *J Clin Invest* 56: 1548-1554
- Barak Y, Blachar Y und Levin S (1980): Neonatal neutrophilia: possible role of a humoral granulopoietic factor. *Pediatr Res* 14: 1026-1028
- Barak M, Cohen A und Herschkowitz (1992): Total leukocyte and neutrophil count changes associated with antenatal betamethasone administration in premature infants. *Acta Paediatr* 81: 760-763
- Bifano EM und Curran TR (1995): Minimizing donor blood exposure in the neonatal intensive care unit. *Clin Perinatol* 22: 657-669
- Bishop CR, Athens JW et.al (1968): Leukokinetic studies. XIII. A non-steady state kinetic evaluation of the mechanism of cortisone induced granulocytosis. *J Clin Invest* 47: 249-260
- Blanchette V und Zipursky A (1987): Hematology. In: Avery, Gordon (Hrsg.) *Neonatology: pathophysiology and management*. S. 952-999, 3. Ed., Philadelphia

- Bloom W und Bartelmez BW (1940): Hematopoiesis in young human embryos. *Am J Anat* 67: 21-42
- Brown MS (1988): Physiologic anemia of infancy: normal red-cell values and physiology of neonatal erythropoiesis. In: Stockman JA III. und Pochedly C.: *Developmental and neonatal hematology*. S. 249-274, New York
- Butler J und Gray H (1970): The metabolism of betamethasone. *J Endocrinol* 46: 379-390
- Carr R, Modi N, et al. (1999): A randomized controlled trial of prophylactic granulocyte-macrophage colony-stimulation factor in human newborns less than 32 weeks gestation. *Pediatrics* 103: 796-802
- Cairo MS, Christensen R, et al. (1995): Results of a phase I/II trial of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in very low birthweight neonates: significant induction of circulatory neutrophils, monocytes, platelets and bone marrow neutrophils. *Blood* 86: 2509-2515
- Carbonell G, Calvo W und Fliedner TM (1982): Cellular composition of human fetal bone marrow histologic study in methacrylate sections. *Acta Anat* 113: 371-375
- Castle V, Andrew M, et al. (1986): Frequency and mechanism of neonatal thrombocytopenia. *J Pediatr* 108: 749-755
- Christensen RD und Rothstein G (1979): Pitfalls in the interpretation of leukocyte counts of newborn infants. *Am J Clin Pathol* 72: 608-611
- Christensen RD, Harper TE und Rothstein G (1986): Granulocyte-macrophage progenitor cells in term and preterm neonates. *J Pediatr* 109: 1047-1051
- Coulombel L, Dehan M et al. (1979): The number of polymorphonuclear leukocytes in relation to gestational age in the newborn. *Acta Paediatr Scand* 68: 709-711
- de Winter JP und van Bel F (1991): The effect of glucocorticosteroids on the neonatal blood count. *Acta Paediatr Scand* 80: 159-162
- Dreyfus M, Kaplan C, et al. (1997): Frequency of immune thrombocytopenia in newborns: a prospective study. *Blood* 89: 4402-4406

- Engle WD und Rosenfeld CR (1984): Neutropenia in high-risk neonates. *J Pediatr* 105: 982-986
- Erdman SH, Christensen RD, et al. (1982): Supply and release of storage neutrophils. A developmental study. *Biol Neonate* 41: 132-137
- Faix RG, Hric JJ und Naglie RA (1989): Neutropenia and intraventricular hemorrhage among very low birth weight (less than 1500 grams) premature infants. *J Pediatr* 114: 1035-1038
- Fanaroff AA, Korones SB, et al. (1994): A controlled trial of intravenous immune globulin to reduce nosocomial infections in very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med* 330: 1107-1113
- Forestier F, Daffos F, et.al (1991): Developmental hematopoiesis in normal human fetal blood. *Blood* 77: 2360-2363
- Forestier F und Hohlfeld P (1998): Management of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Biol Neonate* 74: 395-401
- George D und Bussel J (1995): Neonatal Thrombocytopenia. *Sem Thromb Hemostas* 21: 276-293
- Gessler P, Kirchmann N, et al. (1993): Serum concentrations of granulocyte colony-stimulating factor in healthy term and preterm neonates and in those with various diseases including bacterial infections. *Blood* 82: 3177-3182
- Gessler P, Lüders R, et al. (1995): Neonatal neutropenia in low birth weight premature infants. *Am J Perinat* 12: 34-38
- Gilmour JR (1951): Normal haemopoieses in intra-uterine and neo-natal life. *J Path Bact* 52: 25-33
- Graf U, Henning HJ, Stange K und Wilrich PT (1987): *Formeln und Tabellen der angewandten mathematischen Statistik*. 3. Auflage, Berlin
- Gregory J und Hey E (1972): Blood neutrophil response to bacterial infection in the first month of life. *Arch Dis Child* 47: 747-753
- Hall RT, Wheeler RE, et al. (1993): Feeding iron-fortified premature formula during initial hospitalization to infants less than 1800 grams birth weight. *Pediatrics* 92: 409-414

- Haque KN und Bahakim HM (1991): Percentile curves for various hematologic measurements at birth in arab preterm babies of different gestational ages. *Am J Dis Child* 145: 645-649
- Hume H (1997): Red blood cell transfusions for preterm infants: the role of evidence-based medicine. *Sem Perinatol* 21: 8-19
- Kinmond S, Aitchison TC, et al. (1993): Umbilical cord clamping and preterm infants: a randomised trial. *BMJ* 306: 172-175
- Kuhne T und Imbach P (1998): Neonatal platelet physiology and pathophysiology. *Eur J Pediatr* 157: 87-94
- Lackmann GM, Schneider C und Bohner J (1998): Gestational age-dependent reference values for iron and selected proteins of iron metabolism in serum of premature human neonates. *Biol Neonate* 74: 208-213
- Laird NM und Mosteller F (1990): Some Statistical Methods for Combining Experimental Results. *Int J Tech Ass Health Care* 6: 5-30
- Lee DA, Slagle TA, et al. (1995): Reducing blood donor exposure in low birth weight infants by the use of older, unwashed packed red blood cells. *J Pediatr* 126: 280-286
- Levy GJ, Strauss RG, et al. (1993): National survey of neonatal transfusion practices. I. Red blood cell therapy. *Pediatrics* 91: 523-529
- Linderkamp O, Versmold HT, et al.(1977): Capillary-venous hematocrit differences in newborn infants. *Eur J Pediatr* 127: 9-14
- Lloyd BW und Oto A (1982): Normal values for mature and immature neutrophils in very preterm babies. *Arch Dis Child* 57: 233-235
- Lozoff B, Jimenez E und Wolf AW (1991): Long-term developmental outcome of infants with iron deficiency. *N Engl J Med* 325: 687-694
- Maier RF, Obladen M, et al. (1994): The effect of epoetin beta (recombinant human erythropoietin) on the need for transfusion in very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med* 330: 1173-1178
- Maier RF, Obladen M, et al. (1996): Factors related to transfusion in very low birthweight infants treated with erythropoietin. *Arch Dis Child* 74: F182-F186

- Maier RF, Obladen M, et al. (1998): High-versus low-dose erythropoietin in extremely low birth weight infants. *J Pediatr* 132: 866-870
- Manroe BL, Weinberg AG, et al. (1979): The neonatal blood count in health and diseases. I. Reference values for neutrophilic cells. *J Pediatr* 95: 89-98
- Medlock ES, Kaplan DL, et al. (1993): Granulocyte colony-stimulating factor crosses the placenta and stimulates fetal rat granulopoiesis. *Blood* 81: 916-922
- Meyer J, Sive A und Jacobs P (1993): Empiric red cell transfusion on asymptomatic preterm infants. *Acta Paediatr* 82: 30-34
- Meyer MP, Meyer JH, et al. (1994): Recombinant human erythropoietin in the treatment of the anemia of prematurity: Results of a double-blind, placebo-controlled study. *Pediatrics* 93: 918-923
- Mollison PL (1961): *Blood transfusion in clinical medicine*, S. 581. 3. Ed. Springfield
- Mouzinho A, Rosenfeld CR, et al. (1994): Revised reference ranges for circulating neutrophils in very-low-birth-weight neonates. *Pediatrics* 94: 76-82
- Murray NA und Roberts IAG (1996): Circulating megakaryocytes and their progenitors in early thrombocytopenia in preterm neonates. *Pediatr Res* 40: 112-119
- Obladen M, Sachsenweger M und Stahnke M (1988): Blood sampling in very low birth weight infants receiving different levels of intensive care. *Eur J Pediatr* 147: 399-404
- Obladen M, Maier R, et al. (1991): Efficacy and safety of recombinant human erythropoietin to prevent the anaemias of prematurity: European Randomized Multicenter Trial. *Contrib Nephrol* 88: 314-326
- Obladen M und Maier RF (1995): Recombinant erythropoietin for prevention of anemia in preterm infants. *J Perinat Med* 23: 119-126
- Obladen M., Diepold K. & Maier RF (2000): Venous and arterial hematologic profiles of very low birth weight infants. European Multicenter rhEPO Study Group. *Pediatrics* 106, 707-11
- Oh W und Lind J (1966): Venous and capillary hematocrit in newborn infants and placental transfusion. *Acta Paediatr Scand* 55: 38-40

- Oski FA und Naiman JL (1982): Hematologic problems in the newborn. 3. Aufl., Philadelphia
- Otero L, Conlon C, et al. (1981): Neonatal leukocytosis associated with prenatal administration of dexamethasone. *Pediatrics* 68: 778-780
- Peltonen T (1981): Placental transfusion - advantage and disadvantage. *Eur J Pediatr* 137: 141-146
- Pietra GG, Leventhal MM, et al. (1968): Electron microscopy of cutaneous capillaries of newborn infants: Effects of placental transfusions. *Pediatrics* 42: 678-683
- Rajasekhar D, Barnard MR, et al. (1997): Platelet hyporeactivity in very low birth weight neonates. *Thromb Haemost* 77: 1002-1007
- Rivera LM und Rudolph N (1982): Postnatal persistence of capillary-venous differences in hematocrit and hemoglobin values in low-birth-weight and term infants. *Pediatrics* 70: 956-957
- Rodwell RL, Taylor KM, et al. (1993): Hematologic scoring system in early diagnosis of sepsis in neutropenic newborns. *Pediatr Infect Dis J* 12: 372-376
- Rodwell RL, Leslie AL und Tudehope DI (1988): Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J Pediatr* 112: 761-767
- Ross MP, Christensen RD et al. (1989): A randomized trial to develop criteria for administering erythrocyte transfusions to anemic preterm infants 1 to 3 months of age. *J Perinatol* 9: 246-253
- Sacher RA, Luban NLC und Strauss RG (1989): Current practice and guidelines for the transfusion of cellular blood components in the newborn. *Transfusion Med Rev* 3: 39-54
- Schibler KR, Osborne KA et al. (1998): A randomized, placebo-controlled trial of granulocyte colony-stimulating factor administration to newborn infants with neutropenia and clinical signs of early-onset sepsis. *Pediatrics* 102: 6-13
- Schulman I, Smith CH und Stern GS (1959): Studies on the anemia of prematurity. I. Fetal and adult hemoglobin in premature infants. *Am J Dis Child* 88: 567-581

- Shannon KM, Keith JF, et al. (1995): Recombinant human erythropoietin stimulates erythropoiesis and reduces erythrocyte transfusions in very low birth weight preterm infants. *Pediatrics* 95: 1-8
- Soubasi V, Kremenopoulos G, et al. (1993): In which neonates does early recombinant human erythropoietin treatment prevent anemia of prematurity? Results of a randomized controlled study. *Pediatr Res* 34: 675-679
- Stockman JA III und Oski FA. (1978): Physiological anemia of infancy and the anemia of prematurity. *Clin Hematol* 7: 3-18
- Stoll BJ, Gordon T et al. (1996): Early-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* 129: 72-80
- Strauss RG (1988). Granulopoiesis and neutrophil function in the neonate. in: Stockman JA III. & Pochedly C.: *Developmental and neonatal hematology*. S. 87-101, New York
- Strauss RG (1991): Transfusion therapy in neonates. *Am J Dis Child* 145: 904-911
- Strauss RG, Burmeister LF, et al. (1996): AS-1 red blood cells for neonatal transfusions: a randomized trial assessing donor exposure and safety. *Transfusion* 36: 873-878
- Thomas DB und Yoffey JM (1964): Human foetal haematopoiesis. II. Hepatic haematopoiesis in the human foetus. *Brit J Haemat* 10: 193-197
- Usher R, Shepard M und Lind J (1963): The blood volume of the newborn infant and placental transfusion. *Acta Paediatr* 52: 497-512
- Wardrop CAJ, Holland BM et al. (1978): Nonphysiological anaemia of prematurity. *Arch Dis Child* 53: 855-860
- Wardrop CAJ und Holland BM (1995): The roles and vital importance of placental blood to the newborn infant. *J Perinatal Med* 23: 139-143
- Watts TL, Murray NA und Roberts IAG (1999): Thrombopoietin has a primary role in the regulation of platelet production in preterm babies. *Pediatr Res* 46: 28-32

- Wernecke KD (2001): Eine statistische Methode zum Schätzen eines gemeinsamen Effektes aus k unabhängigen Studien, unveröffentlichtes Arbeitspapier
- Widness JA, Seward VJ, et al. (1996): Changing patterns of red blood cell transfusion in very low birth weight infants. *J Pediatr* 129: 680-687
- Wolber E, Dame C, et al. (1999): Expression of the thrombopoietin gene in human fetal and neonatal tissues. *Blood* 94: 97-105
- Woudstra BR, DeWolf BTHM, et al. (1995): Variability of continuously measured arterial pH and blood gas values in the near term fetal lamb. *Pediatr Res* 38: 528-532
- Xanthou M (1970): Leucocyte blood picture in healthy full-term and premature babies during neonatal period. *Arch Dis Child* 45: 242-249
- Yao AC, Lind J, et al. (1969): Placental transfusion in the premature infant with observation on clinical course and outcome. *Acta Paediatr Scand* 58: 561-566
- Yao AC und Lind J (1974): Placental transfusion. *Am J Dis Child* 127: 128-141
- Zachman RD, Bauer CR, et al. (1988): Effect of antenatal Dexamethasone on neonatal leukocyte count. *J Perinatol* 8: 111-113
- Zaizov R und Matoth Y (1976): Red cell values on the first postnatal day during the last 16 weeks of gestation. *Am J Hematol* 1: 275-278
- Zon LI (1995): Developmental Biology of Hematopoiesis. *Blood* 86, 2876-2891

Anhang

Zentrum	Patienten
Charité/Virchow-Klinikum, Berlin (Christoph Bühner, Hugo Segerer)	148
Universität Heidelberg (Otwin Linderkamp, H. Hoffmann)	54
Charité/Campus Mitte, Berlin (E. Ludwig Grauel, Heidrun Weigel)	32
Olgahospital, Stuttgart (Gertrud Hieronimi, Martin Wagner)	32
Universitätsklinikum, Zürich (Hans Bucher, Gabriel Duc)	32
Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Berlin (Hans Versmold, Marius Bartsch)	28
Universität Münster (Gerhard Jorch, Heike Rabe)	25
Hôpital Port-Royal, Paris (Guy Moriette, Catherine Clamadiou)	25
Barmbek Krankenhaus, Hamburg (Evelyn Kattner, Ingo Müller-Hansen)	24
Kinderkrankenhaus Amsterdamer Straße, Köln (Peter Groneck)	22
Royal Maternity Hospital, Belfast (Henry L. Halliday, Garth McClure)	20
Kinderkrankenhaus auf der Bult, Hannover (Jürgen Natzschka, Jürgen Christoph)	20
Universitätsfrauenklinik, Bern (Bianca M. Regazzoni, Adrien Moessinger)	18
Hôpital de Hautepierre, Strasbourg (Jean Messer, Jacqueline Matis)	18
Hôpital Edouard Herriot, Lyon (Bernard L. Salle, Olivier Claris)	16
Queen Mother's Hospital, Glasgow (Barbara M. Holland, Graham Stewart)	15
Université Catholique de Louvain, Bruxelles (Gaston Verellen, Ch. Debauche)	14
Universitätsklinikum, Nijmegen (Ben A. Semmekrot, Louis A. A. Kollée)	11
Universitätskinderklinik, Helsinki (Vineta Fellman, Kari O. Raivio)	8

Danksagung

Mein herzlicher Dank gebührt Herrn Prof. Dr. Obladen, der prompt auf meine Anfrage wegen eines Dissertationsthemas reagierte und mir das Thema der vorliegenden Arbeit zur Verfügung stellte. In den Jahren der gemeinsamen Arbeit an diesem Thema hatten wir viele ausführliche und produktive Arbeitssitzungen. Ohne seinen Enthusiasmus und Einsatz wäre die vorliegende Arbeit nicht zustande gekommen.

Außerdem danke ich Herrn PD Dr. Maier für die Mitarbeit an diesem Projekt, für seine Hilfe bei vielen Fragen, für kritische Kommentare und Nachfragen und vor allen Dingen für die mehrmalige sorgfältige Durchsicht des Manuskriptes. Während einer Famulatur auf der Frühgeborenen-Intensivpflegestation konnte ich sehr viel von seiner klinischen Expertise lernen.

Dank auch an Herrn Metze, der mir zunächst bei der Sichtung der Datenmassen und der Erstellung der Gesamtdatei half und später immer wieder geduldig meine Fragen zur Datenbearbeitung beantwortete.

Frau Bisson vom Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie der Freien Universität, Berlin hat diese Arbeit mit ihrer kompetenten Beratung zur statistischen Auswertung unterstützt. Ich danke ausserdem Dr. Schmerling von der mathematischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und Herrn Dipl.-Math. Piehler derselben Universität für ihre Unterstützung. Letztendlich wurde der Abschluss dieser Arbeit nur durch die Beratung und Hilfe von Prof. Dr. Wernecke und Frau Siebert, Institut für Medizinische Biometrie der Charité möglich. Ihnen einen ganz herzlichen Dank.

Meinen Eltern danke ich, daß sie die Zeit fanden, das Manuskript Korrektur zu lesen. Und zu guter letzt danke ich Thomas Holstein-Diepold für die Bereitstellung seines Schreibtisches samt Computer und dafür, daß er mich in den Endphasen dieses Projektes ertragen hat.

Eidstattliche Erklärung

Ich erkläre, daß die vorliegende Dissertation "Hämatologische Referenzwerte von Frühgeborenen unter 1500 g Geburtsgewicht" von mir selbst und ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfaßt wurde, auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind.

Göttingen, Februar 2002

Katharina Diepold