

**DIE SPÄTANÄMIE DES
MORBUS HAEMOLYTICUS FETALIS ET NEONATORUM:
RISIKOFAKTOREN UND PRÄDIKTOREN FÜR VERLAUF
SOWIE EINFLUSS AUF DIE GEWICHTSENTWICKLUNG**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

vorgelegt von Tobias Boeckh-Behrens
aus Würzburg

2007

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. Peter Bartmann
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Gembruch

Tag der Mündlichen Prüfung: 07.12.2006

Aus dem Zentrum für Kinderheilkunde der Universität Bonn, Abteilung Neonatologie
Direktor: Prof. Dr. Dr. Peter Bartmann

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert.

Inhalt

	Seite
<u>I. Einführung</u>	<u>5</u>
Historischer Rückblick	5
Das Rhesus-System	5
Pathogenese und Klinik	7
Spätanämie	13
Therapie	16
<u>II. Fragestellung</u>	<u>20</u>
<u>III. Patienten und Methoden</u>	<u>21</u>
Patienten	21
Methoden	22
<u>IV. Ergebnisse</u>	<u>25</u>
Analyse des Ausschlusskollektivs	25
Vergleich Ausschlussgruppe – Untersuchungsgruppe	26
Analyse des Untersuchungskollektivs	27
Statistische Auswertungen	33
<u>V. Diskussion</u>	<u>50</u>
Aufbau und Intention der Studie	50
Vergleich der Ausschlussgruppe mit der Untersuchungsgruppe	55
Untersuchungskollektiv	56
Gruppenvergleiche	67
Wachstumsuntersuchungen	71
Klinische Relevanz der erhobenen Daten	77
<u>VI. Zusammenfassung</u>	<u>79</u>
<u>VII. Literaturverzeichnis</u>	<u>80</u>

<u>VIII. Abkürzungsverzeichnis</u>	<u>86</u>
<u>IX. Danksagung</u>	<u>90</u>

Einführung

Historischer Rückblick

Krankheitszeichen der fetalen und neonatalen Erythroblastose sind schon seit Jahrhunderten bekannt. Das gemeinsame Auftreten typischer Symptome wurde bereits erstmalig 1609 beschrieben: Eine französische Hebamme brachte Zwillinge zur Welt, von denen eines hydropisch und bereits tot geboren wurde. Das zweite war stark ikterisch und verstarb in der Folge rasch, retrospektiv betrachtet höchstwahrscheinlich an einem Kernikterus.

Erst 1932 wurde durch Diamond et al. ein kausaler Zusammenhang zwischen diesen verschiedenen Krankheitsentitäten formuliert. Erstmals wurden fetaler Hydrops, Kernikterus sowie neonatale Anämie als Ausprägung eines gemeinsamen, ursächlichen Krankheitsgeschehen aufgefasst, welches durch fetale Hämolyse und das Auftreten erythrozytärer Vorstufen (Erythroblasten) im peripheren Blutbild gekennzeichnet war.

Nachdem 1940 Landsteiner und Wiener den Rhesusfaktor mit seinen agglutinogenen Eigenschaften beschrieben haben, wurde bereits 1941 durch Levine et al. der Zusammenhang zur fetalen Erythroblastose hergestellt, demnach Antikörper (AK) gegen den Rhesusfaktor in bestimmter Konstellation den Auslöser der fetalen Hämolyse darstellen.

Im weiteren Verlauf wurden die genauen Mechanismen der Pathogenese des Morbus haemolyticus wie Antigenstruktur, antikörperinduzierte Hämolyse und Vererbung der Rhesusfaktoren entschlüsselt. Dies stellte letztendlich die Grundlage für die Entwicklung therapeutischer Konzepte dar, welche sowohl Inzidenz als auch Ausprägung des Morbus haemolyticus bis heute entscheidend zu beeinflussen vermochten.

Das Rhesus-System

Das Rhesus-Blutgruppen-System besteht aus insgesamt sechs verschiedenen Merkmalen, welche in unterschiedlichen Kombinationen als Genkomplexe vererbt werden. Das Kind erhält von jedem Elternteil jeweils die Information für ein Merkmal der Paare Dd, Cc und Ee. Die Merkmale D, C, c, E und e besitzen antigene Eigenschaften, d. h., bei ihrer Ausprägung auf der Erythrozytenmembran können sie die Bildung von gegen sie gerichteten Antikörpern induzieren.

Ein Merkmal „d“ konnte nicht nachgewiesen werden und ist heute als Fehlen des Merkmals D definiert. Neben den AB0- und Rhesusmerkmalen existieren noch weitere Antigene aus anderen Blutgruppensystemen wie Kell, Duffy, Kidd u.a.. Die für den Morbus haemolyticus pathogenetisch relevanteste Spezifität ist jedoch mit großem Abstand das Merkmal Rhesus D. In den letzten Jahren jedoch hat durch die Rhesusprophylaxe, die seit Ende der sechziger Jahre durchgeführt wird, der Anteil der Rhesus D-Antikörper am Gesamtspektrum der bei schwangeren Frauen nachgewiesenen Antikörper-Spezifitäten deutlich abgenommen. Dabei werden durch Gabe eines Anti-D-Immunglobulins die in den mütterlichen Kreislauf übergetretenen kindlichen Erythrozyten vorzeitig eliminiert, noch bevor eine Aktivierung des mütterlichen Immunsystems erfolgt. Betrachtet man die in der Literatur angegebenen Werte für die relativen Häufigkeiten der einzelnen Antikörperspezifitäten am Gesamtspektrum, so ist ein rückläufiger Anteil des Rhesus-D-Antikörpers von 66% - 85% vor Einführung der Rhesus-Prophylaxe auf 30% - 50% nach dieser zu erkennen. Bei diesen Zahlen handelt es sich jedoch um alle bei schwangeren Frauen nachgewiesenen Antikörperspezifitäten, unabhängig von ihrer pathophysiologischen Relevanz. Die für eine fetale Immunhämolyse verantwortlichen Antikörperspezifitäten muss man hinsichtlich ihrer relativen Häufigkeiten gesondert betrachten. Jedoch gab es auch hier einen signifikanten Rückgang des Anteils von Rhesus D von im Mittel ca. 95% auf ca. 80% nach der Einführung der Prophylaxe (siehe Tab.1).

	Rel. Häufigkeiten der insgesamt nachgewiesenen AK-Spezifitäten			Rel. Häufigkeiten der pathogenetisch relevanten AK-Spezifitäten		
	Anti-D	Rhesus nicht D	Nicht Rhesus	Anti-D	Rhesus nicht D	Nicht Rhesus
Rel. Häufigkeit vor Rhesusprophylaxe	66% - 85%	10% - 22%	1% - 15%	92% - 98%	1% - 6%	0,3% - 1,2%
Rel. Häufigkeit nach Rhesusprophylaxe	30% - 50%	30% - 45%	10% - 35%	70% - 90%	0% - 25%	3% - 20%

Tab. 1: Relative Häufigkeiten aller Antikörper (AK) am Gesamtspektrum und der pathogenetisch bedeutsamen AK-Spezifitäten vor und nach Einführung der Rhesusprophylaxe Ende der sechziger Jahre (nach Hoch 1994).

Pathogenese und Klinik

Letztlich sind alle mit dem Morbus haemolyticus assoziierten Symptome auf eine antikörperinduzierte Hämolyse im Gefäßsystem des Feten und Neugeborenen zurückzuführen.

Ist eine Rhesus-negative (d.h., das Merkmal Rhesus D ist bei ihr nicht ausgeprägt) Mutter schwanger mit einem Rhesus-positiven Kind, so können in den Kreislauf der Mutter gelangte kindliche Erythrozyten (feto-maternale Hämorrhagie) dort eine Immunantwort auslösen. Die sogenannte feto-maternale Hämorrhagie tritt entweder spontan im Schwangerschaftsverlauf auf oder wird durch ärztliche Eingriffe wie Chorionzottenbiopsie oder Amniozentese provoziert. Am häufigsten kommt es jedoch bei der Geburt, sowie auch bei Fehlgeburten oder Aborten zu einem solchen Blutübertritt. Denkbar ist auch eine Immunisierung durch Transfusion von inkompatiblen Blutprodukten vor der Schwangerschaft.

Der mütterliche Organismus reagiert bei einem Erstkontakt mit dem fremden Antigen primär mit einer IgM-Bildung, die mit einer zeitlichen Verzögerung von einigen Wochen bis Monaten eintritt. Da IgM-Antikörper nicht plazentagängig sind, hat dieser Vorgang keine direkten Auswirkungen auf den Fetus, selbst wenn die IgM-Antikörper bereits vor seiner Geburt im mütterlichen Blut zirkulieren. Erst bei einem Zweitkontakt mit dem gleichen Antigen kommt es zu einer sekundären Immunantwort der Mutter, welche vor allem in einer IgG-Bildung besteht, die oft ohne größere Latenzzeit auftritt. Dies kann auch z.B. bei mehrmaliger fetomaternaler Hämorrhagie während ein und derselben Schwangerschaft geschehen. Da die mütterlichen Immunglobuline der Klasse IgG den ersten Immunschutz des Neugeborenen, dessen eigenes Immunsystem noch nicht ausreichend entwickelt ist, darstellen, müssen mütterliche IgG-Antikörper die Plazentabarriere physiologischerweise überwinden können. Im Fall der Rhesus-Inkompatibilität hat dieser Vorgang für den Fetus jedoch negative Auswirkungen. Da sich die Antikörper gegen Strukturen seiner Erythrozyten richten, wird eine intrauterine Hämolyse initiiert, die letztlich zur Zerstörung fetaler Erythrozyten führt. Die Anti-D-Antikörper haben keinen direkten zytolytischen Effekt auf die fetalen Erythrozyten, da sie nicht in der Lage sind, das Komplementsystem zu aktivieren (Hadley et al. 1993). Vielmehr binden sie mit ihrem freien Fc-Anteil an komplementäre Bindungsstellen von Effektorzellen wie Makrophagen und Killerzellen, d.h., sie bilden eine Brücke zwischen den Antigen-Antikörper-Komplexen und den Effektorzellen und aktivieren diese dadurch. Die Komplexe führen zu einer gesteigerten Chemotaxis, welche diese Effektorzellen zusätzlich anlocken. Die Aktivität der Effektorzellen

führt zu Substanzdefekten in der Erythrozytenmembran mit einer daraus folgenden verminderten osmotischen und lytischen Resistenz der zu einer kugeligen Form veränderten Erythrozyten. Diese werden daraufhin von Zellen des retikuloendothelialen Systems (RES) oder direkt von den Effektorzellen lysiert und phagozytiert.

Die Hämolyse führt im kindlichen Organismus zu einer Reihe von unterschiedlichen Effekten und in der Folge zu Symptomen, welche je nach Ausprägung eine akute oder chronische Gefährdung des Fetus und Neugeborenen darstellen können.

Hydrops fetalis

Der Zustand des Hydrops fetalis ist definiert durch Ergußbildung in zwei oder mehr Körperhöhlen, d.h., Aszites und/oder Pleuraerguß und/oder Perikarderguß in Verbindung mit generalisierten Ödemen (Anasarka). Vor Einführung von Präventionsmaßnahmen gegen die Rhesus-Alloimmunisierung betrug der Anteil der Rhesus-Kinder an der Gesamtzahl der erfassten hydropischen Kinder etwa 80%. In einer Studie von Van Maldergem et al. (1992) ist dieser Anteil zwischen 1976 und 1988 auf etwa 20% gesunken und heute wohl noch niedriger zu erwarten.

Tritt ein Hydrops fetalis auf, bedeutet dies für den Fetus eine vitale Bedrohung. Laut einer Studie von Farina et al. (2000) erwies sich das Auftreten eines Hydrops als bester korrelativer Wert in Bezug zur intrauterinen Mortalität. Dies ist nicht nur eine direkte Folge des Hydrops, vielmehr ist das Auftreten eines Hydrops als Indikator für eine besonders schwere Verlaufsform der Morbus haemolyticus zu werten.

Pathogenetisch gibt es mehrere Hypothesen für die Entstehung der extrazellulären Flüssigkeitsansammlungen. Mittlerweile hat man die Ansicht eines primär kardialen Problems infolge einer hypoxischen Minderversorgung des Myokards weitgehend zugunsten eines multiaxialen Geschehens verlassen. Bei einer noch moderaten Hämolyse ist der fetale Organismus durch verschiedene Kompensationsmechanismen in der Lage, eine Schädigung zu vermeiden. Zuerst reagiert er mit einer Steigerung der Erythropoese im Knochenmark. Bei milden Verlaufsformen kann ein erhöhter Retikulozytenanteil im peripheren Blutbild des Neugeborenen als Ausdruck der gesteigerten Hämatopoiese das einzige Zeichen des Krankheitsbildes bei Geburt sein. Sobald diese primäre Steigerung nicht mehr zum Ausgleich der Hämolyse ausreicht, kommt es zu einer zusätzlichen Reaktivierung ontogenetisch bereits überholter Blutbildungsstätten, vor allem in Leber und Milz, aber auch in Niere, Nebenniere oder

Haut. Es kommt zum Übertritt von unreifen erythrozytären Vorstufen, den Erythroblasten, in das Gefäßsystem. Dieses charakteristische Blutbild der Krankheit ist auch für den Namen „fetale Erythroblastose“ verantwortlich.

Bei weiterhin ungenügendem Ausgleich der Hämolyse kommt es letztlich zur Anämie, welche je nach Ausprägung zu einer Kreislaufbelastung des Feten mit Tachykardie bis zur Ergussbildung und zum Hydrops führen kann. Neben der Vergrößerung von Leber und Milz wird die Albuminsyntheseleistung der Leber eingeschränkt, was einen erniedrigten kolloidosmotischen Druck zur Folge hat. Eine Architekturstörung im Leberparenchym durch die erythropoetischen Inseln, welche einen erhöhten portalen Druck verursacht, scheint ebenfalls eine Rolle zu spielen. Begleitend hat die Ausweitung der hämatopoietischen Syntheseorte eine Verdrängung anderer Zellreihen zur Folge, was wiederum zusätzliche Komplikationen wie ein erhöhtes Blutungsrisiko durch Thrombopenie oder eine erhöhte Infektanfälligkeit bei Neutropenie verursachen kann. Auch die übrigen Organfunktionen können durch die verstärkte Hämatopoiese zum Teil gehemmt werden, was ebenfalls eine Verstärkung der Symptome des Hydrops zur Folge haben kann. Neben diesen Erklärungsansätzen gibt es noch weitere Hypothesen für die Pathogenese des Hydrops. Zum Einen soll ein erhöhter zentralvenöser Druck, wie er bei fetaler Anämie häufig nachzuweisen ist, den Lymphabfluss behindern, zum Anderen wird entweder ein erhöhter Kapillardruck oder eine erhöhte Durchlässigkeit des Kapillarendothels durch hypoxische Schädigung diskutiert. Wahrscheinlich führt das Zusammenwirken aller genannten Faktoren zur Genese des Hydrops fetalis.

Hyperbilirubinämie und Kernikterus

Stellt der Hydrops fetalis die schwerwiegendste intrauterine Komplikation dar, so geht postnatal die größte Gefährdung von der Hyperbilirubinämie mit potentiell folgendem Kernikterus aus. Der Hydrops stellt die Endphase in den Versuchen des Fetus dar, die auftretende Anämie durch regeneratorsche Kompensationsmechanismen auszugleichen oder abzuschwächen. Zur Hyperbilirubinämie kommt es hingegen durch den neben der Anämie zweiten Effekt der Hämolyse, nämlich dem exzessiv vermehrten Auftreten von Stoffwechselprodukten im fetalen/neonatalen Organismus.

Bei dem Erythrozytenabbau im kindlichen RES wird das anfallende Hämoglobin in Bilirubin umgewandelt. Dieses, laut Nomenklatur „indirekte“ oder unkonjugierte Bilirubin muss zum Transport in die Leber über das Blut an Albumin gebunden werden. Der funktionell ausgereifte

Organismus eliminiert das anfallende indirekte Bilirubin, indem es in der Leber mit Glucuronsäure zum wasserlöslichen Bilirubindigluconid konjugiert wird und über die Gallenflüssigkeit ausgeschieden werden kann.

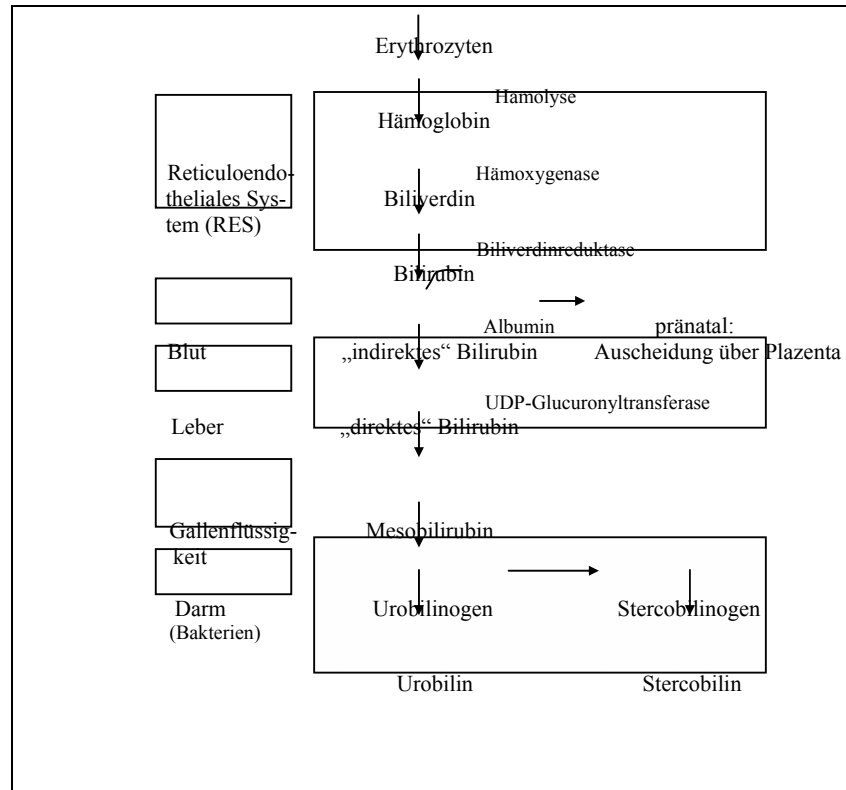


Abb.1: Der Bilirubinstoffwechsel (Eggebrecht 1999)

Intrauterin übernimmt die Plazenta aufgrund der noch mangelnden Reife der fetalen Leber die Aufgabe der Elimination des anfallenden, an Albumin gebundenen Bilirubins. Die mütterliche Leber übernimmt also letztlich in der Fetalzeit den Abbau des kindlichen Bilirubins. Aus diesem Grund ist der Fetus im Mutterleib durch hohe Bilirubinkonzentrationen nicht gefährdet, der maximal erreichte Wert liegt bei ca. 7-10 mg/dl. Unmittelbar postnatal muss jedoch das Neugeborene die Exkretion des Bilirubins selbst bewältigen. Mit dieser Aufgabe ist die kindliche Leber überfordert. Dies liegt zum einen an ihrer funktionellen Unreife in Kombination mit dem durch die Hämolyse exzessiv hohen Anfall von Bilirubin und zum anderen bei schweren Verläufen auch an der Beeinträchtigung der Leberfunktion durch die Erkrankung selbst. Die

Folge ist ein oftmals sehr schneller Anstieg der Bilirubinkonzentration innerhalb der ersten 24-36 Lebensstunden.

Überschreitet die Bilirubinkonzentration die kindliche Toleranzschwelle, so kann dies zu einer Reihe von zum Teil lebensbedrohlichen Veränderungen führen. Die Schwelle einer relevanten Toxizität des Bilirubins ist nicht klar definiert und scheint u.a. auch von individuellen Faktoren abhängig zu sein. Es ist davon auszugehen, dass diese Schwelle beim reifen Neugeborenen erst oberhalb von 20 mg/dl beginnt. Zusätzlich wird die Bilirubin-Toxizität durch weitere Faktoren verstärkt. Frühgeborene beispielsweise sind nicht nur durch die ausgesprochene Unreife ihres bilirubineliminierenden Systems bedroht. Auch ihr unreifes Gehirn weist eine bedeutend herabgesetzte Resistenz gegenüber der Toxizität des Bilirubins auf. Hier kann die toxische Schwelle abhängig vom Gewicht schon etwa 10-12 mg/dl betragen. Ausgeprägte Hypoxie, Anämie oder Hirnblutungen können die Toleranz des Gehirns weiter herabsetzen. Durch die infolge der verminderten Synthesefähigkeit der Leber auftretende Hypoalbuminämie in Zusammenhang mit der durch die Hypoxie provozierten Azidose wird die Bindungskapazität für Bilirubin in einigen Fällen stark herabgesetzt, was zu einer zusätzlichen Toxizität durch Abdiffusion der „freien“ Bilirubinmoleküle ins Gewebe führt. Bei intakter Blut-Hirn-Schranke kann albumin-gebundenes Bilirubin diese Schranke nicht passieren, oft ist jedoch diese Barrierefunktion im noch unausgereiften Organismus inadäquat. Das bei Hämolyse auftretende Stoffwechselprodukt Haem kann Bilirubin von den Bindungsstellen des Albumins verdrängen und so die Gefährdung bei gegebenen Bilirubinwerten erhöhen (Greenough 1999). Frühgeborene und kranke Neugeborene sind zusätzlich gefährdet, da sie häufig Medikamente wie Heparin und i.v.-Fette benötigen, welche das Bilirubin aus seiner Albuminbindung verdrängen und zu einer weiter erhöhten Toxizität führen. Auch andere Medikamente, wie z.B. Salicylate oder Sulfonamide können eine solche Veränderung in der Bindungskapazität bewirken oder verstärken. Viele der oben genannten, die Toxizität des Bilirubins weiter verstärkenden Faktoren treffen auch für Kinder mit M. haemolyticus zu. Damit sind diese Kinder durch hohe Bilirubinwerte und erhöhte Toxizität doppelt gefährdet.

Typischerweise lagert sich das überschüssige Bilirubin an bestimmten zentralnervösen Strukturen ab, was sich makroskopisch und histopathologisch an einer Gelbfärbung der betroffenen Strukturen zeigt. Dabei handelt es sich überwiegend um Basalganglien, Hirnnervenkerne, weitere Kerngebiete des Stamm- und Kleinhirns und spinale Vorderhornzellen, woher auch der Begriff des „Kernikterus“ ursprünglich rührt (Schmorl, 1903). Wahrscheinlich beruht die folgende

toxische Schädigung der Nervenzellen auf einer Komplexbildung der Bilirubinmoleküle mit Membranphospholipiden der Zellen.

Erster sichtbarer Hinweis auf eine Hyperbilirubinämie stellt die Entwicklung eines Ikterus praecox und gravis innerhalb der ersten 24 Lebensstunden dar. Als erste Zeichen eines drohenden Kernikterus gelten die sehr unspezifischen Symptome Apathie, Hypotonie, Trinkschwäche und gelegentlich Erbrechen. Der weitere Verlauf ist gekennzeichnet durch den Übergang der Hypotonie in eine muskuläre Hypertonie einhergehend mit einem Opisthotonus, vorgewölbter Fontanelle und Krampfanfällen. Bei diesem Verlauf ist bei Überleben der Neugeborenenperiode der Übergang in einen chronischen Residualzustand, charakterisiert durch choreoathetoiden Bewegungsstörungen häufig kombiniert mit Störungen des akustischen Systems, oft nicht mehr zu vermeiden (Conolly, Volpe, 1990).

Begleitend auftretende Phänomene

In einigen Fällen treten neben den oben diskutierten Problemen bei Kindern mit MHN im Krankheitsverlauf noch weitere für den MHN unspezifische Symptome auf, die zwar ursächlich mit der Grunderkrankung zusammenhängen, die jedoch in ähnlicher Weise auch bei anderen Kindern auftreten können. In einigen Fällen können postnatale Hypoglykämien beobachtet werden, deren Auftreten wahrscheinlich durch eine Hyperplasie der Pankreas-Inselzellen, ausgelöst durch Hämolyseprodukte, mit folgender Hyperinsulinämie zu erklären ist (Steinke et al. 1967). Eine vermehrte Blutungsneigung kann unterschiedliche Ursachen haben: Zum einen besteht bei Frühgeborenen bis zur 34. Woche allgemein das Risiko vermehrt auftretender Hirnblutungen durch das noch unausgereifte Kapillar- und Arteriolen-system der subependymalen Matrix, noch verstärkt durch zusätzlich auftretende Risikofaktoren wie Hypoxie, Asphyxie, Hyperkapnie und sonstige geburtstraumatische Läsionen. Eine in diesem Zusammenhang in Verbindung mit dem MHN auftretende Thrombozytopenie kann dieses Risiko noch weiter erhöhen. Als Ursache von Thrombozytopenien im Verlauf des MHN wird v.a. eine Verdrängung der Megakaryopoese durch die stark stimulierte Erythropoese diskutiert. Hingegen liegt bei Anti-Kell-Nachweis eine antikörperinduzierte Zerstörung megakaryozytärer Vorstufen im Knochenmark zu Grunde. (Ekert et al. 1967, Christensen et al. 1991, Wagner 2000) Die durch Verdrängung der entsprechenden hämatopoietischen Reihe hervorgerufene Neutropenie kann eine verstärkte Infektanfälligkeit zur Folge haben. Die im Zuge eines Hydrops auftretenden Pleuraergüsse können zur Verzögerung der Lungenreifung mit konsekutivem Surfactant-Mangel

und Atemnotsyndrom führen. Die vor allem bei schweren Verläufen in Folge von Therapie- oder Krankheitskomplikationen häufiger vorkommende Frühgeburtlichkeit und eine eventuell auftretende perinatale Asphyxie können diese Entwicklung zusätzlich verstärken (Phibbs et al. 1976).

Das vermehrt anfallende Bilirubin kann zur Eindickung der Galleflüssigkeit und der Bildung von Gallethromben in den intrahepatischen Gallenwegen führen, dem sogenannten „inspissated bile syndrome“.

Spätanämie

Die bei der Geburt vollzogene Trennung des kindlichen vom mütterlichen Organismus zieht eine Reihe von Veränderungen für das Neugeborene nach sich. Auch gesunde Kinder müssen sich in der ersten Zeit den für sie radikal veränderten Umweltbedingungen anpassen. Der im Vergleich zur Plazenta durch die Lungenfunktion erleichterte Sauerstoffaustausch führt zu einem verbesserten Sauerstoffangebot und damit zu einer relativen Suppression der Erythropoese. Die Umstellung von fetalem auf adultes Hämoglobin gleicht längerfristig diesen Effekt aus. Dennoch kommt es bei Säuglingen durch dieses Phänomen zu der sogenannten Trimenonanämie, die sich zwischen dem Alter von 3-6 Monaten erstrecken kann. Die Hämoglobinwerte können dabei physiologischerweise im Einzelfall kurzfristig deutlich unter 11,5 mg/dl fallen (siehe Abb. und Tab.2 zur durchschnittlichen Hb-Entwicklung)

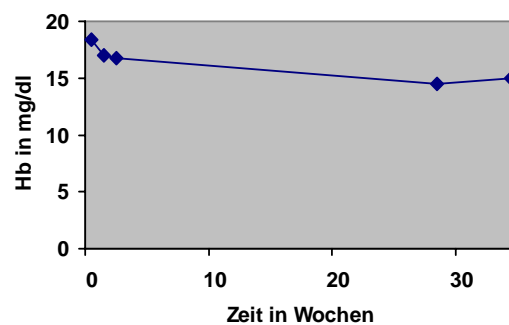


Abb. 2: Normale Hb-Entwicklung in der Neugeborenenzeit (nach Klaus, Fanaroff 1986)

Zeit in Wochen	0	1	2	28	34
Hb in mg/dl	18,4	17,0	16,8	14,5	15,0

Tab. 2: Hb-Werte in der Neonatal- und Säuglingsperiode (nach Klaus, Fanaroff 1986)

Verschiedene Faktoren können dieses Phänomen durch Überlagerung verstärken. Bei Frühgeborenen kommt es durch ungenügende Erythropoetinproduktion in Verbindung mit der Notwendigkeit häufiger Blutentnahmen, verminderter Überlebenszeit der Erythrozyten, verminderter plazento-fetaler Transfusion bei kürzerem Intervall bis zur Trennung der Nabelschnur und raschem Wachstum der Kinder zu einem schnelleren Auftreten einer Anämie mit niedrigeren Hb-Werten, bis hin zur Transfusionspflichtigkeit (Rocha et al. 2001).

Kinder mit MHN entwickeln ebenfalls in ihrer ersten Lebensphase eine Anämie. Der in dieser Patientengruppe höhere Anteil an Frühgeborenen spielt dabei nur eine untergeordnete Rolle, da das Phänomen ebenso bei reifgeborenen Kindern auftritt und sich auch im zeitlichen Ablauf von der Frühgeborenenanämie unterscheidet. Grundsätzlich können dabei zwei verschiedene Verlaufsformen beobachtet werden, auch wenn sich beide Formen nicht exakt voneinander trennen lassen und viele Übergangsvarianten vorkommen. Nach der Trennung vom mütterlichen Blutkreislauf können keine neuen Antikörper in den kindlichen Kreislauf gelangen. Dennoch persistieren die vorhandenen Antikörper für eine gewisse Zeit, in der Regel zwischen 3 und 6 Monaten und besitzen weiterhin hämolytische Aktivität. Allgemein weisen Antikörper der Klasse der γ -Globuline eine biologische Halbwertszeit von 22-26 Tagen auf (Mollison 1967). Bei Rhesusantikörpern wird diese Zeit mit nur 14-21 Tagen angegeben. Der Unterschied in der Halbwertszeit ist wahrscheinlich durch einen Verdünnungseffekt durch das starke Wachstum und der damit verbundenen Zunahme des Blutvolumens der Säuglinge und somit durch eine relative Abnahme der Antikörperkonzentration (Mollison 1967) zu erklären. In einer Untersuchung von Ruckstuhl (1970) wird die zeitliche Nachweisgrenze von Rhesusantikörpern mit ca. 50 Tagen angegeben bei einem im Verlauf linear abfallenden Titer. Dieser Verlauf war selbst durch Austauschtransfusionen nur leicht zu beeinflussen, als Grund dafür wurde eine Verschiebung von Antikörpern aus dem Extravasalraum in den Intravasalraum nach Transfusion und ein dadurch bedingter Rebound der Antikörper angenommen. Durch die im Kreislauf des Kindes weiterhin stattfindende Hämolyse durch die persistierenden Antikörper in Verbindung mit den

obengenannten Faktoren (Anpassung an das veränderte Sauerstoffangebot, verminderte EPO-Produktion und verkürzte Erythrozyten-Überlebenszeit bei Frühgeborenen, schnelles Wachstum mit erhöhtem Blutvolumenbedarf) kommt es bei den betroffenen Neugeborenen in den ersten Wochen zu einem teilweise raschen und starken Abfall des Hämoglobinwertes. Ein Teil der Kinder ist in der Lage, auf die Anämie mit einer suffizienten Steigerung der Erythropoese, ablesbar an steigenden Retikulozytenzahlen, zu reagieren und das hämatologische Gleichgewicht aufrecht zu erhalten. Diese als eine Verlaufsform der „late anemia“ bekannte Form ist gekennzeichnet durch starke Hämolyse in Verbindung mit hohen Retikulozytenzahlen. Sie tritt besonders bei Kindern auf, die wenige oder keine intrauterinen Transfusionen erhalten haben.

Die meisten schwerer betroffenen Kinder können jedoch nicht mit einer Steigerung der Erythropoese reagieren. Es resultiert eine länger andauernde, hyporegenerative Anämiephase. Diese Verlaufsform ist gekennzeichnet durch eine mehr oder weniger ausgeprägte Hämolyse und eine im Verhältnis dazu bestehende Retikulopenie in Verbindung mit erniedrigten Serum-Erythropoietin-Spiegeln, bezeichnet als „late hyporegenerative anemia“. Diese Form ist besonders bei Kindern nach wiederholten intrauterinen Transfusionen zu beobachten, weshalb als Auslöser der Hyporegenerativität eine Suppression des Knochenmarks durch die Transfusionen angenommen wird. Auch diese Patienten reagieren intrauterin zunächst mit einer gesteigerten Erythropoese; erst nach Erreichen der Grenzen ihrer Kompensationsmöglichkeiten und daher notwendiger Transfusionen bleibt eine weiterhin verstärkte Hämatopoese aus.

Die Angabe einer genauen Inzidenz dieser hyporegenerativen Anämie ist aus der veröffentlichten Literatur nicht möglich, da sich zum einen die untersuchten Patientenkollektive in der Schwere der Erkrankung stark unterscheiden, zum anderen unterschiedliche Verfahren, wie zum Beispiel Verwendung unterschiedlicher Hämoglobingrenzwerte (Ebbesen 1979) oder Beschränkung auf Kinder mit postnatalen Transfusionen (Millard et al. 1990), zur Beschreibung der Anämie verwendet wurden. Im Unterschied zu den anderen beiden Anämieformen, Frühgeborenenanämie und Trimenonanämie, ist die hyporegenerative Form durch eine verminderte Zahl der Retikulozyten (Millard et al. 1990) im peripheren Blutbild in Verbindung mit verminderten Serum-Erythropoietinspiegeln (Koenig et al. 1989) gekennzeichnet. Darüber hinaus tritt diese Form später auf und hat eine längere Dauer, etwa 4-10 Wochen (Ebbesen 1979). In einigen Studien (Koenig et al. 1989, Millard et al. 1990, Scaradavou et al. 1993) wird eine höhere Inzidenz der Spätanämie bei Kindern nach intrauteriner Transfusion beschrieben. Daher wird als pathogenetische Grundlage für die Entwicklung einer hyporegenerativen Spätanämie neben der

oben beschriebenen fort dauernden antikörperinduzierten Hämolyse eine Knochenmarksuppression durch die rezidivierenden Transfusionen und damit durch die Beseitigung der Anämie als Stimulus der Hämatopoiese favorisiert. Bussel et al. (1992) fanden bei zwei betroffenen Patienten in der Knochenmarkanalyse eine relative Hypoplasie erythrozytärer Vorläuferzellen. Koenig et al. (1989) beschrieben das Ausbleiben einer kompensatorischen Aktivitätssteigerung der Vorläuferzellen bei normalen Wachstumsfaktorkonzentrationen von BFU-E (burst forming units erythroid) und CFU-E (colony forming units erythroid), jedoch verminderten Serum-Erythropoetinleveln. Nach Giblett et al. (1956) kommt auch eine antikörperinduzierte Zerstörung intramedullärer Vorläuferzellen als pathogenetischer Faktor in Betracht. Gesichert ist dieser Pathomechanismus für Kell-Antikörper, welche direkt eine Zerstörung von Vorläuferzellen und ausgereiften Erythrozyten bewirken können, was zu einer Spätanämie führt, die bis zur Elimination der Antikörper aus dem Körper andauert (Vaughan et al. 1998).

Neben der Zahl der intrauterinen Transfusionen konnten bislang keine weiteren klaren Risikofaktoren für das Auftreten einer hyporegenerativen Spätanämie gefunden werden. Al-Alaiyan (1999) zeigte ein signifikant vermindertes Auftreten der Spätanämie bei Kindern, welche Austauschtransfusionen erhalten hatten und führte dies auf die Eliminierung persistierender Antikörper zurück. Andere Autoren (Ebbesen 1979, Grannum 1988, Saade et al. 1993) konnten keinen solchen Zusammenhang finden.

Therapie

Retrospektiv betrachtet gelang der entscheidende Schritt im Management der Rhesus-Erythroblastose in der Realisierung einer hocheffektiven Präventionsmaßnahme, nämlich der Anti-D-Rhesus-Prophylaxe. Auch wenn zu Ihrer Einführung Ende der sechziger Jahre bereits wirksame Therapieformen (siehe unten) existierten, so hatte sie doch den entscheidenden Einfluss auf den dramatischen Rückgang der Morbidität und Mortalität der Erkrankung in den folgenden Jahren. So konnten vor Einführung der Rhesus-Prophylaxe in den mittleren fünfziger Jahren in Großbritannien pro Jahr 310 Todesfälle auf einen Rhesus-D verursachten MHN zurückgeführt werden – einen auf 2180 Geburten. Nach Einführung der Prophylaxe 1969 und Erweiterung der Indikation 1976 auf Fehlgeburten und Schwangerschaftsabbrüche und 1981 auf weitere potentiell

sensitivierende Ereignisse sank diese Zahl bis 1989 auf eine von etwa 66.500 Lebendgeburten (Chilcott et al. 2003), d.h., ca. um den Faktor 30.

Vor 1946 stand man den durch die Krankheit verursachten Symptomen aus therapeutischer Sicht weitgehend hilflos gegenüber, mit Ausnahme der bereits üblichen postnatalen Transfusionen. In der Folgezeit entwickelten sich jedoch die verschiedensten Ansätze, um die unterschiedlichen Symptome der betroffenen Kinder therapeutisch beeinflussen zu können. So wurden für jede Komplikation, die im Gesamtbild des MHN vorkommt, bis heute so suffiziente Therapieformen entwickelt, dass die Erkrankung aus heutiger Sicht unter optimaler Betreuung weitgehend beherrschbar geworden ist und eine gute Prognose auch bezüglich der weiteren Entwicklung der Kinder zeigt. Natürlich benötigten die pathogenetisch völlig unterschiedlichen Komplikationen wie Hydrops fetalis und Hyperbilirubinämie oder auch die Spätanämie voneinander unabhängige, an verschiedenen Stellen eingreifende Therapien. Eine Übersicht über die wichtigsten Therapieformen und ihr Platz in den unterschiedlichen Manifestationen des MHN gibt untenstehende Graphik wieder (siehe Abb.3).

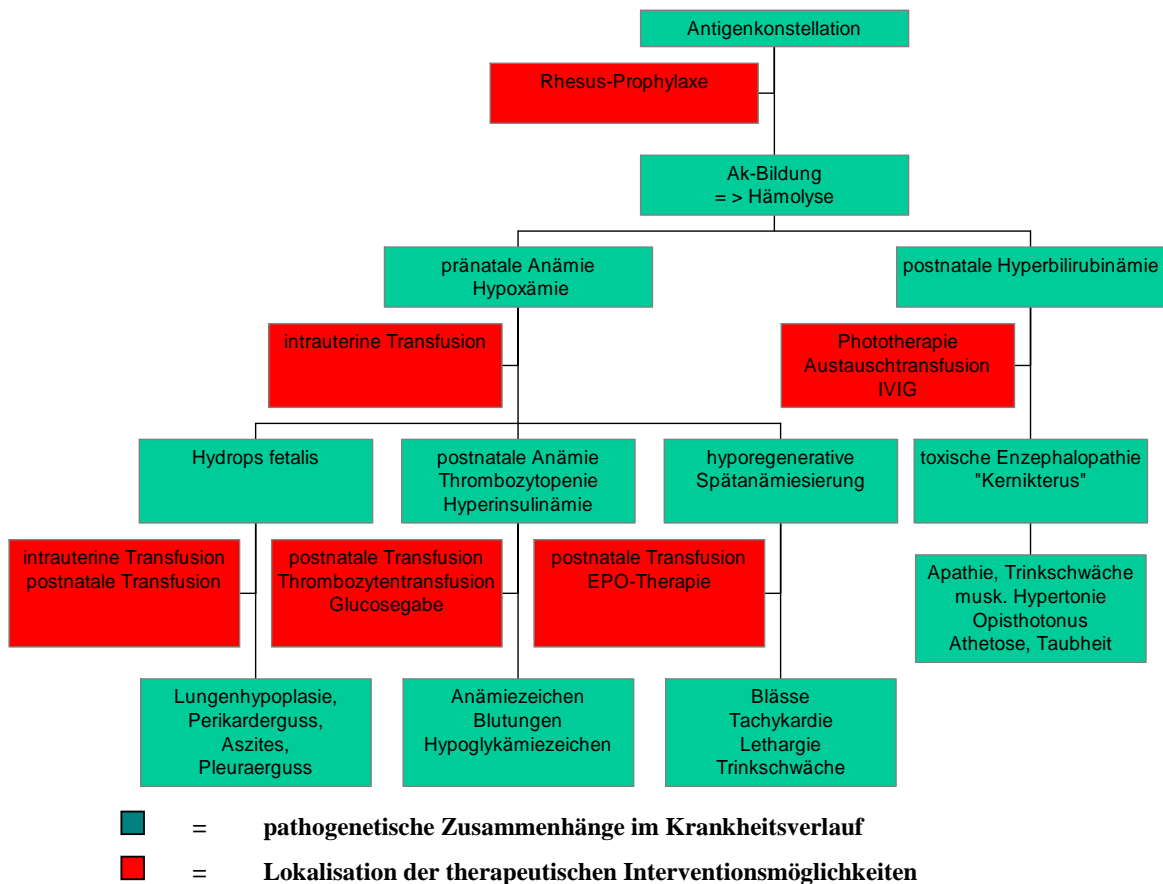


Abb. 3 : Krankheitsverlauf und Punkte für therapeutisches Eingreifen des MHN

1946 berichtet Wallerstein erstmals über die erfolgreiche Durchführung postnataler Austauschtransfusionen bei drei erythroblastotischen Neugeborenen und vermutet bereits zutreffend die neben dem Ausgleich des Hämoglobindexites zusätzliche Wirksamkeit zur Behandlung der Hyperbilirubinämie durch Eliminierung der Hämolyseprodukte aus dem kindlichen Organismus (Wallerstein 1946). Aufgrund der vergleichsweise hohen Mortalität und Morbidität der Austauschtransfusionen als erstmals wirksame Methode zur Prävention hyperbilirubinämieinduzierter enzephalopathischer Folgeschäden wird diese im Folgenden durch eine weniger invasive und trotzdem sehr wirksame Methode ergänzt: Cremer beschreibt 1958 die lichtinduzierte Senkung des Bilirubinspiegels durch Photooxidation und Photoisomerisierung des indirekten Bilirubins bei Frühgeborenen. Reid et al. erweitert die Indikation 1972 auf Kinder mit hämolysebedingtem Icterus gravis. So konnte allein durch eine effiziente Phototherapie die Notwendigkeit der Austauschtransfusionen deutlich gesenkt werden (Ebbesen 1980). Mit diesen beiden bis heute entscheidenden therapeutischen Optionen war eine in den meisten Fällen suffiziente Beherrschung der Hyperbilirubinämie möglich.

Nach Entwicklung der Amniozentese Mitte der fünfziger Jahre eröffneten sich durch die Ausweitung der diagnostischen und therapeutischen Ansätze auf die Pränatalperiode neue Möglichkeiten. Nachdem Liley 1961 aus der Analyse des Fruchtwassers erstmals eine Voraussage bezüglich des Verlaufs der hämolytischen Aktivität herleiten kann, entwickelt er 1963 das zufällig durch einen Amniozentesezwischenfall entstandene Konzept der intrauterinen intraperitonealen Transfusion. Dadurch wurde erstmals eine intrauterine Korrektur der fetalen Anämie und damit eine Prävention eines Hydrops fetalis möglich. Dieses Konzept wurde annähernd zwanzig Jahre praktiziert, bis Anfang der achtziger Jahre durch die Entwicklung und Verbesserung neuer endoskopischer (Fetoskopie) und bildgebender (Sonographie) Verfahren die direkte intravaskuläre Transfusion via Vena/Arteria umbilicalis möglich wurde (Rodeck et al. 1981, Bang et al. 1982). Durch die hierdurch zusätzlich zu der Transfusionstherapie möglich gewordene diagnostische Fetalblutentnahme wurde diese Form des diagnostischen und therapeutischen Zugangs zum bis heute gültigen Standard im pränatalen Management des MHFN. Auch ein Grund dafür war das sehr niedrige interventionsassoziierte Risiko dieses Verfahrens.

In den letzten Jahren etablierte sich zusätzlich zu der direkter und effizienter wirkenden Austauschtransfusion und der Phototherapie die Anwendung von hochdosierten intravenösen Immunglobulingaben (IVIG). Man nimmt an, daß Immunglobuline der Klasse G neonatale

retikuloendotheliale Fc-Rezeptoren von Makrophagen blockieren und damit zu einer verminderten Hämolyse führen (Eggebrecht 1999, Peterec 1995). Andere potentiell die Hyperbilirubinämie positiv beeinflussende Substanzen wie Hämoxygenaseinhibitoren oder Clofibrat als Glucuronyltransferaseaktivator sind bezüglich ihrer Sicherheit und Wirksamkeit noch nicht ausreichend für einen standardmäßigen Einsatz geprüft.

In der Therapie der Spätanämie ist nach wie vor der Ausgleich des Hämoglobindexites durch Transfusionen die entscheidende Behandlungsoption bei schweren Verläufen. Eine Prävention der Spätanämie durch nach der Geburt verabreichtes Erythropoetin hat bei den schwerer betroffenen Kindern nicht zu einer Reduktion der Transfusionshäufigkeit geführt, auch wenn eine Wirksamkeit bei leichter betroffenen Kindern in verschiedenen Studien nachweisbar war und zu positiven Erwartungen Anlass geben kann (Zuppa et al. 1999, Ovali et al 1996, Scaradavou 1993, Ohls et al. 1992). Möglicherweise ist die mangelnde Stimulation durch EPO-Gabe bei manchen Kindern bedingt durch Substratmangel oder Verlust an Vorläuferzellen (Dame 1996).

Fragestellung

Die Entwicklung einer Spätanämie ist bei Kindern, die von einem Morbus haemolyticus fetalis et neonatorum (MHFN) betroffen sind in ihrer ersten Lebenszeit ein häufiges Phänomen. Die Spätanämie kann bei inadäquater oder ausbleibender Behandlung zu schweren Beeinträchtigungen bis zum Tod der Kinder führen. Daher ist eine genaue Betreuungs- und Therapieplanung für den weiterbehandelnden Pädiater essentiell. Um die Beurteilung des zu erwartenden Verlaufs der Spätanämie zu erleichtern, ist die Kenntnis von möglicherweise einflussnehmenden als auch von prädiktiven Faktoren eine Hilfe. Die Frequenz der Nachuntersuchungen, die Indikationsstellung für ggf. notwendige Transfusionen und die Beratung der Eltern kann dann individuell dem jeweiligen Risikoprofil des Patienten angepasst werden.

Diese Studie soll einen Beitrag dazu leisten, relevante Einflußfaktoren auf die Spätanämie bei MHFN aufzuzeigen und in ihrer jeweiligen Aussagekraft zu bewerten. Weiterhin soll untersucht werden, ob ein langer Verlauf der Spätanämie die Gewichtsentwicklung der Kinder beeinträchtigen kann.

Patienten und Methoden

Patienten

Als Patientenkollektiv dienten alle im Perinatalzentrum der Universität Bonn (Abteilung für Neonatologie; Direktor Prof. Dr. Dr. P. Bartmann) behandelten Kinder mit M. haemolyticus neonatorum der Geburtsjahrgänge 1995 – 2001.

Um eine größtmögliche Aussagekraft der vorliegenden Studie zu erreichen, wurde bei der Auswahl des zu untersuchenden Kollektivs folgendermaßen vorgegangen:

Für die Geburtsjahrgänge 1995 – 2001 wurden sämtliche aufgrund M. haemolyticus fetalis et neonatorum (MHFN) im Perinatalzentrum der Universität Bonn (Abteilung für Neonatologie; Direktor Prof. Dr. Dr. P. Bartmann) betreute Patienten in das Ausgangskollektiv einbezogen (n=113). Da die Intention der Studie vor allem in der Untersuchung der Spätanämie sowie von Verlaufsparemtern lag, wurden aus dem Ausgangskollektiv von 113 Patienten jene ausgewählt, für die mindestens eine Nachuntersuchung im Alter von ≥ 28 Tagen dokumentiert war. Bei 31 Patienten war dies aus unterschiedlichen Gründen nicht der Fall. Zwei der Patienten verstarben am 1. bzw. 2. Lebenstag, bei den restlichen war der Grund des Ausscheidens aus dem beobachteten Kollektiv durch die retrospektiv erhobenen Daten nicht mehr zweifelsfrei zu ermitteln. Die Analyse der vorhandenen Daten legte die Schlussfolgerung nahe, dass der bei einigen Kindern der Ausschlussgruppe möglicherweise leichtere Krankheitsverlauf in einem ursächlichen Zusammenhang zu der frühzeitigen Beendigung der Nachsorge stehen könnte. So war der prozentuale Anteil der Kinder, die eine oder mehrere intrauterine Transfusionen benötigten, in der Ausschlussgruppe mit 35,5% gegenüber 81,7% in der Gruppe der eingeschlossenen Kinder deutlich niedriger. Auch die Anzahl der intrauterinen Transfusionen unterschied sich mit im Mittel 3,67 in der Ausschlussgruppe gegenüber 5,89 in der Studiengruppe. Zusätzlich wurde bei vielen der ausgeschlossenen Patienten die weitere Nachsorge aufgrund zum Teil erheblicher Entfernungen zum Heimatort der Familien von näher gelegenen Institutionen durchgeführt.

Bei entsprechender Klinik und dem intrauterinen Nachweis von irregulären Antikörpern wurden alle Patienten postnatal aufgrund ihrer Grunderkrankung eines Morbus haemolyticus im Perinatalzentrum Bonn betreut. Auf die Definition weiterer Einschlusskriterien, z.B.

Beschränkung auf Patienten mit mindestens einer durchgeführten intrauterinen oder postnatalen Transfusion wurde bewusst verzichtet, da dies eine weitere Selektion hin zu Patienten mit schwererem Krankheitsverlauf bedeutet hätte.

Methoden

Für die Studie wurden sowohl die Daten des perinatalen stationären Aufenthaltes, als auch der ambulant vorgenommenen Nachsorgeuntersuchungen und der stationären Aufenthalte in der Neonatalzeit bezüglich verschiedener Parameter ausgewertet. Der Beobachtungszeitraum für die einzelnen Patienten erstreckte sich über mindestens 28 Tage (bzw. 1 Tag in der Ausschlussgruppe) bis maximal 420 Tage.

Folgende Parameter wurden innerhalb des Kollektivs bestimmt:

Es wurden Geschlecht, Gestationsalter und Gestationsgewicht (absoluter Wert und Perzentilenwert) und zusätzlich an drei verschiedenen Zeitpunkten das Gewicht der Patienten erfasst. Da die Nachuntersuchungen der Kinder aufgrund klinischer Parameter und damit nicht zu jeweils festgesetzten Zeitpunkten erfolgten, wurden zur besseren Vergleichbarkeit der Daten 3 Alterszeiträume definiert. Jeweils zwischen den Lebenstagen 28 – 59 (Zeitpunkt 1), 60 – 139 (Zeitpunkt 2) und 140 – max. 420 (Zeitpunkt 3) wurde das Gewicht möglichst einmal pro Patient erfasst. Aufgrund des relativ hohen Anteils an Frühgeborenen und der durch die Datenlage bestimmten breiten „Untersuchungszeitpunkte“ war der Vergleich der Werte nur durch die Verwendung von Perzentilen möglich. Als Grundlage dienten dabei die aus einer 4000 Untersuchungen umfassenden Longitudinalstudie gewonnenen Perzentilenkurven sowohl für Früh- als auch für Reifgeborene nach Brandt (Brandt 1979, 1986). Für die Frühgeborenen wurde je nach Alter entweder eine Alterskorrektur vorgenommen oder frühgeborenen-spezifische Perzentilen verwendet.

Für die Untersuchung des Krankheitsverlaufs wurden folgende Daten erfasst:

Hämatologische Parameter mit Hämoglobin einschließlich des Anteils an fetalem Hämoglobin (HbF), Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl und Retikulozytenzahl, daneben Zahl der intrauterinen und postnatalen Transfusionen, Zahl der Austauschtransfusionen und Art des Antikörpers. Zusätzlich wurden noch potentiell einflussnehmende Faktoren wie Art und Dauer der durchgeführten Therapie wie Immunglobulin-Gabe, Verabreichung von Erythropoetin, Phototherapie, antimikrobielle Therapie sowie besondere Befunde wie Höhe des

Bilirubinanstiegs, CRP-Wert, serologische Befunde zum Ausschluss von HIV-, CMV-, HBV oder HCV-Infektionen, Auffälligkeiten in der zerebralen Sonographie oder im Hörtest dokumentiert.

Um aus diesen Daten letztlich mögliche Risikofaktoren bzw. Prädiktoren für den Verlauf der Spätanämisierung herauszuarbeiten, wurde ein Indikator benötigt, der diesen Verlauf möglichst störungsfrei und umfassend abbildet. Als ungeeignet wurden all jene Parameter eingestuft, welche möglicherweise selbst einen Einfluss auf den Krankheitsverlauf nehmen könnten - z.B. lässt die Anzahl der Transfusionen, sowohl der intrauterinen als auch der postnatalen, zwar einen Rückschluss auf den Krankheitsverlauf zu, hat jedoch möglicherweise durch eine Knochenmarkssuppression selbst eine Auswirkung auf die Spätanämie. Als „reine“ Indikatoren wurden zwei verschiedene Werte ausgewählt, jeweils mit unterschiedlichen Beeinträchtigungen in ihrer Aussagekraft. Der Parameter „Zeitraum von Geburt bis zur letzten Transfusion in Tagen“ hat den Vorteil eines auf den Tag genauen Wertes, der zusätzlich bei fast allen Patienten gut dokumentiert war. Als nachteilig wurde die Selektionierung der schwerer betroffenen Patienten gewertet, da alle Patienten ohne postnatale Transfusionen nicht in die Untersuchungen einbezogen werden konnten. Zudem ist der Transfusionszeitpunkt und somit auch der Zeitraum von der Geburt bis zur letzten Transfusion in Tagen von den jeweils angewandten Transfusionskriterien und der klinischen Einschätzung und damit auch vom jeweiligen Untersucher abhängig. Im Übrigen handelt es sich um einen indirekten Indikator, da die Spätanämisierung zum Zeitpunkt der letzten Transfusion noch nicht überwunden sein muss.

Als zweiter Indikator-Parameter wurde die Zahl der Tage gewählt, bis ein Anstieg der Retikulozyten über 2% im Blutbild der Patienten nachzuweisen war. Pathophysiologisch markiert der Anstieg der Retikulozyten das Ende der hyporegenerativen Phase der Spätanämie, da ab diesem Zeitpunkt der Organismus wieder in der Lage ist, Erythrozyten zum Erhalt des hämatologischen Gleichgewichtes zu produzieren. Insofern zeigt dieser Parameter direkt den Verlauf der Spätanämie an und beinhaltet einen dementsprechend hohen Aussagewert bezüglich der Fragestellung. Eine Selektion der stärker betroffenen Kinder ist ebenfalls ausgeschlossen. Einschränkend muss jedoch gewertet werden, dass der exakte Zeitpunkt des Anstiegs bedingt durch die unterschiedlich langen Intervalle zwischen den hämatologischen Untersuchungen nur näherungsweise dokumentiert sein kann. Zusätzlich konnte dieser Wert nur bei 56 Studienteilnehmern bestimmt werden gegenüber 66 mit einem Wert für „Tage bis zur letzten Transfusion“. Entweder stieg der Retikulozytenwert bei diesen Kindern im Verlauf der

dokumentierten Untersuchungen nie über den festgelegten Wert, oder es wurden in der Ambulanz in Bonn keine weiteren Kontrollen durchgeführt.

Um eventuelle Ungenauigkeiten und Fehlerquellen möglichst gering zu halten und ggf. zu erkennen, wurden in den folgenden statistischen Untersuchungen immer beide Indikatoren parallel verwendet. Ein vorher durchgeführter Test zeigte zusätzlich eine mit einem Koeffizienten von 0,8 hohe Korrelation der beiden Indikatoren untereinander, was die Annahme einer gleichsinnigen und ähnlich starken Aussagekraft beider Indikatoren stützt.

Unter Verwendung dieser Indikatoren wurde nun ein Zusammenhang des Verlaufs der Spätanämie mit folgenden Faktoren und statistischen Verfahren untersucht:

Eine Verbindung der Spätanämie mit der Zahl der intrauterinen, der postnatalen sowie der Austauschtransfusionen wurde anhand der Bestimmung des Korrelationskoeffizienten untersucht. Ebenso wurde mit den Hämoglobinwerten vor Transfusion und dem Wachstum anhand der Perzentilenwerte verfahren.

Für die Untersuchung der drei Faktoren „Art der Antikörper“, „Zahl der Thrombozyten bei Geburt“ sowie „fetales Hämoglobin in % bei Geburt“ wurden zunächst Gruppen von Patienten gebildet und im Folgenden die mittlere Verlaufsdauer der Spätanämie innerhalb der Gruppen auf statistische Unterschiede zwischen den Gruppen untersucht. Als Gruppen wurden dabei definiert: Antikörper: Unbekannt, Anti-D, Anti-D + x, Anti-Kell, Anti-Kell + x, Sonstige.

Thrombozytenwert bei Geburt: < 150.000/ μ l, >150.000/ μ l

HbF in % bei Geburt: <5%, >5% <20%, >20%

Als statistisches Testverfahren für die Vergleiche der Mittelwerte wurde je nach Zahl der einbezogenen Faktoren entweder der „T-Test bei unabhängigen Stichproben“ (2 Stichproben) oder „einfaktorielle ANOVA“ für mehr als zwei unabhängige Stichproben gewählt.

Ergebnisse

Aus den ursprünglich erfassten 113 Patienten wurden 82 Patienten in das Untersuchungskollektiv einbezogen. Für diese standen über einen Zeitraum von mindestens 28 Tagen ab Geburt Daten zur Verfügung. Die restlichen 31 Patienten bildeten das Ausschlusskollektiv.

Analyse des Ausschlusskollektivs

Von den 31 ausgeschlossenen Kindern waren 17 männlich und 14 weiblich. Das Gestationsalter lag zwischen 31+2 und 40+4 Schwangerschaftswochen im Mittel bei 36+4 Wochen, medianer Wert 36+2,5 Wochen. Bei 5 Patienten war das genaue Gestationsalter den Akten nicht zu entnehmen.

Das Geburtsgewicht wurde ebenfalls bei fünf Patienten nicht erfasst, bei den übrigen lag es zwischen 1600g und 3760g bei im Mittel 2782g, Median 2680g, medianer Perzentilenwert 25.-50. Perzentile.

Die Antikörperkonstellation in der Ausschlussgruppe teilte sich wie folgt auf:

Art des Antikörpers	unbekannt	Anti-D	Anti-D/Anti-C	Kein Anti-D(Anti-C)	Anti-Kell
Zahl der Patienten	6 (19,4%)	18 (58,1%)	6 (19,4%)	1 (3,2%)	0

Tab. 3 : Art und Häufigkeit des Antikörpers innerhalb der Ausschlussgruppe

11 (35,5%) der Patienten benötigten zwischen 1 und 10 intrauterine Transfusionen, im Mittel 3,67, Medianwert 3. Bei den übrigen 20 waren keine intrauterinen Transfusionen durchgeführt worden. Bei 20 Patienten erfolgten keine postnatalen Transfusionen, bei 11 erfolgten zwischen 1 und 2 PNT, im Mittel 1,09, Medianwert 1 Transfusion. Insgesamt 7 Patienten benötigten sowohl intrauterine als auch postnatale Transfusionen.

Nur bei einem Patienten wurde eine Austauschtransfusion durchgeführt.

Zwei der Patienten verstarben am 1. bzw. 2. Lebenstag. Sie hatten 6 bzw. 10 IUT erhalten, was auf einen schweren Verlauf des MHFN schließen lässt.

Bei der Analyse der Grunddaten wurden bezüglich Geschlechtsverteilung, Gestationsalter und – gewicht sowie der Antikörperkonstellation keine signifikanten Unterschiede der Ausschlussgruppe zum gewählten Untersuchungskollektiv festgestellt. Der Anteil der Patienten, die intrauterine Transfusionen benötigte, lag jedoch in der Ausschlussgruppe mit 35,5% gegenüber 81,7% im Untersuchungskollektiv deutlich niedriger. Die gleichen Verhältnisse ergaben sich für den Anteil der Patienten mit postnatalen Transfusionen. Daher ist für die Studiengruppe eine Selektion der Patienten im Hinblick auf schwerere Verläufe der Krankheit anzunehmen. Andererseits fielen auch Patienten mit sehr schweren Verläufen, nämlich die, die verstarben, aus der weiteren Analyse heraus; diese Patientengruppe stellt jedoch einen deutlich geringeren Anteil (2/31) des Ausschlusskollektivs als die Gruppe mit einem verhältnismäßig leichten Krankheitsverlauf (20/31 ohne IUT). In der Untersuchungsgruppe verstarb keiner der Patienten im beobachteten Zeitraum.

Vergleich Ausschlussgruppe – Untersuchungsgruppe

In folgender Tabelle wurden die Grunddaten innerhalb beider Gruppen zur besseren Vergleichbarkeit einander gegenübergestellt:

	Geschlecht	Gestations- alter (Median)	Gestations- gewicht (Median)	Zahl IUT (Median)	Zahl PNT (Median)	Anteil in % mit IUT	Anteil in % mit PNT
Ausschluss- gruppe	m = 17 (54,8%) w = 14 (45,2%)	36 + 2,5 Wochen	2680 g	3	1	35,5%	35,5%
Untersuchungs- gruppe	m = 44 (53,7%) w = 38 (43,3%)	35 + 1 Wochen	2470 g	6	2	81,7%	81,7%

Tab. 4: Vergleich Ausschlussgruppe - Untersuchungsgruppe

Analyse des Untersuchungskollektivs

Allgemeine Faktoren:

Insgesamt wurden 82 Patienten in die weitere Analyse eingeschlossen.

44 der eingeschlossenen Patienten waren männlich, 38 weiblich. Der Vergleich der beiden Geschlechtergruppen hinsichtlich krankheitsspezifischer Parameter ergab keinen signifikanten Unterschied:

Gruppenstatistiken

	Geschlecht	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Tage bis zur letzten Transfusion	männlich	36	35,42	19,59	3,27
	weiblich	30	40,03	28,75	5,25
Tage bis Retikulozyten > 2 %	männlich	27	61,15	28,51	5,49
	weiblich	29	55,97	32,42	6,02
Anzahl IUT	männlich	44	5,09	3,25	,49
	weiblich	38	4,61	3,52	,57
Anzahl PNT	männlich	44	1,82	1,73	,26
	weiblich	38	1,61	1,13	,18
IUT + PNT	männlich	44	6,45	4,04	,61
	weiblich	38	5,82	4,00	,65

Tab. 5: Allgemeine Gruppenstatistik

Test bei unabhängigen Stichproben

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Tage bis zur letzten Transfusion	Varianzen sind gleich	4,882	,031	-,772	64	,443	-4,62	5,98	-16,56	7,32
	Varianzen sind nicht gleich			-,747	49,631	,459	-4,62	6,18	-17,04	7,80
Tage bis Retikulozyten > 2 %	Varianzen sind gleich	,338	,564	,633	54	,529	5,18	8,18	-11,22	21,59
	Varianzen sind nicht gleich			,636	53,836	,527	5,18	8,15	-11,15	21,51
Anzahl IUT	Varianzen sind gleich	,489	,487	,649	80	,518	,49	,75	-1,00	1,97
	Varianzen sind nicht gleich			,645	76,019	,521	,49	,75	-1,01	1,98
Anzahl PNT	Varianzen sind gleich	1,171	,282	,649	80	,518	,21	,33	-,44	,87
	Varianzen sind nicht gleich			,669	74,733	,506	,21	,32	-,42	,85
IUT + PNT	Varianzen sind gleich	,180	,673	,718	80	,475	,64	,89	-1,13	2,41
	Varianzen sind nicht gleich			,718	78,482	,475	,64	,89	-1,13	2,41

Tab. 6: Statistische Testung auf Unterschiede

Daher wurde im Folgenden auf eine getrennte Auswertung bezogen auf das Geschlecht verzichtet und bei allen Testungen das eingeschlossene Gesamtkollektiv zugrundegelegt.

Das Gestationsalter betrug zwischen 24+3 und 40+0 Schwangerschaftswochen, im Mittel 34+6, Medianwert 35+1 SSW. Bei einem Patienten wurde das Gestationsalter nicht erfasst.

Das Geburtsgewicht wurde zwischen 710g und 3860g bestimmt, im Mittel 2782g, Median 2470g, medianer Perzentilenwert 50. Perzentile. Bei drei Patienten konnte den Akten kein Geburtsgewicht entnommen werden.

Antikörperspezifität:

Die Antikörperkonstellation in der Untersuchungsgruppe teilte sich wie folgt auf::

Art des Antikörpers	nicht erfasst	Anti-D	Anti-D+X	Kein Anti-D (je 2xAnti-E/- C)	Anti-Kell	Anti-Kell+X
Zahl der Patienten	9 (11%)	48 (58%)	15 (18%)	4 (5 %)	3 (4 %)	3 (4%)

Tab.7: Art und Häufigkeit des Antikörpers innerhalb des Untersuchungskollektivs

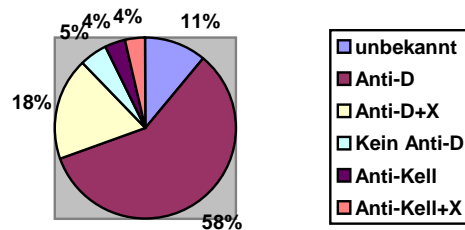


Abb. 4: Verteilungshäufigkeit der verschiedenen Antikörper

Transfusionen:

67 (81,7%) Patienten benötigten zwischen einer und zwölf intrauterine Transfusionen (IUT), im Mittel 5,9, Medianwert 6. Bei 15 Patienten wurde keine IUT durchgeführt. 15 Patienten erhielten keine postnatalen Transfusionen (PNT), bei 67 (81,7%) wurden zwischen einer und zehn PNT

durchgeführt, im Mittel 2, Medianwert 2. 6 Patienten erhielten weder intrauterine noch postnatale Transfusionen.

Bei fünf Patienten wurde eine Austauschtransfusion (AT) durchgeführt, bei zwei Patienten zwei AT.

Bei einem Patienten wurde eine Plasmapherese vorgenommen.

Hämatologischer Verlauf / Spätanämie:

Hinsichtlich des Verlaufs der Spätanämie innerhalb des Untersuchungskollektivs ergaben sich folgende Ergebnisse:

Von den 67 Patienten, die PNT erhalten hatten, war der Parameter „Zeit in Tagen bis zur letzten Transfusion“ bei einem Patienten nicht bestimmbar, bei den übrigen lag er zwischen 1 und 105 Tagen, im Mittel bei 37,5 d, Medianwert 37d.

Im Gegensatz zum Parameter „Zeit in Tagen bis zur letzten Transfusion“, der nur für Patienten bestimmt werden kann, welche PNT erhalten haben, kann der Parameter „Zeit in Tagen bis Retikulozyten >2%“ prinzipiell bei allen Patienten der Studiengruppe bestimmt werden, sofern ein solcher Anstieg dokumentiert ist.

Von den 82 Patienten war der Parameter „Zeit in Tagen bis Retikulozyten > 2%“ bei 26 Patienten nicht eindeutig bestimmbar. Bei den übrigen lag er zwischen 13 und 133 Tagen, im Mittel bei 58,5 d, Medianwert 52 d. Um einen Überblick über die Entwicklung der entscheidenden hämatologischen Parameter innerhalb des Untersuchungskollektivs zu erhalten, wurden Verlaufskurven der Parameter „Hämoglobin (Hb)“ und „Retikulozyten“ erstellt. Lagen für einen Patienten mehrere Werte innerhalb einem der vordefinierten Zeiträume (siehe Diagramm) vor, wurde jeweils ein Mittelwert dieser Parameter für den Zeitraum berechnet. Aus den Mittelwerten aller Patienten ergab sich dann wiederum der Gesamtmittelwert für den jeweiligen Zeitraum:

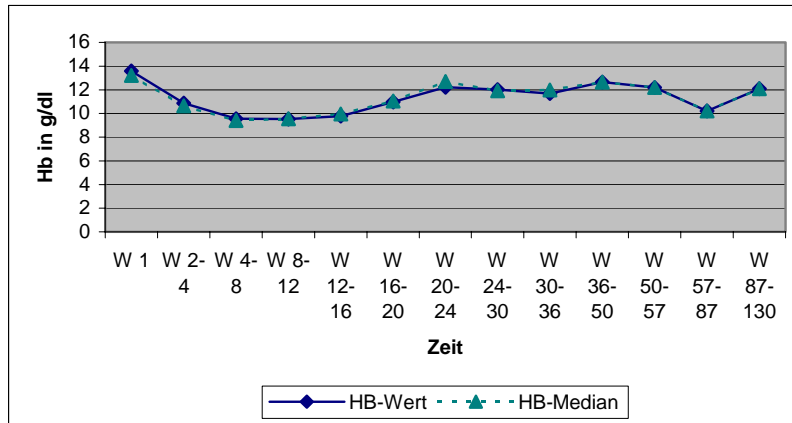


Abb. 5: Hb-Entwicklung über die Zeit in Wochen (W)

Zeitraum in Wochen (W)	Hb-Mittelwert in g/dl	Hb-Median in g/dl
W 1	13,6	13,2
W 2-4	10,9	10,7
W 4-8	9,6	9,4
W 8-12	9,5	9,6
W 12-16	9,8	10,0
W 16-20	11,0	11,0
W 20-24	12,2	12,7
W 24-30	12,0	11,9
W 30-36	11,7	12,0
W 36-50	12,7	12,7
W 50-57	12,2	12,2
W 57-87	10,2	10,2
W 87-130	12,1	12,1

Tab. 8: Hb-Entwicklung über die Zeit in Wochen (W) - Werte

Da in der Kurve des Hb-Verlaufs alle gemessenen Werte in die Mittelwertbildung einfließen, ist ein Ausgleicheffekt durch die Einbeziehung der Posttransfusionswerte, also der Werte, die direkt nach Durchführung einer therapeutischen Transfusion erhoben wurden, nicht zu vermeiden.

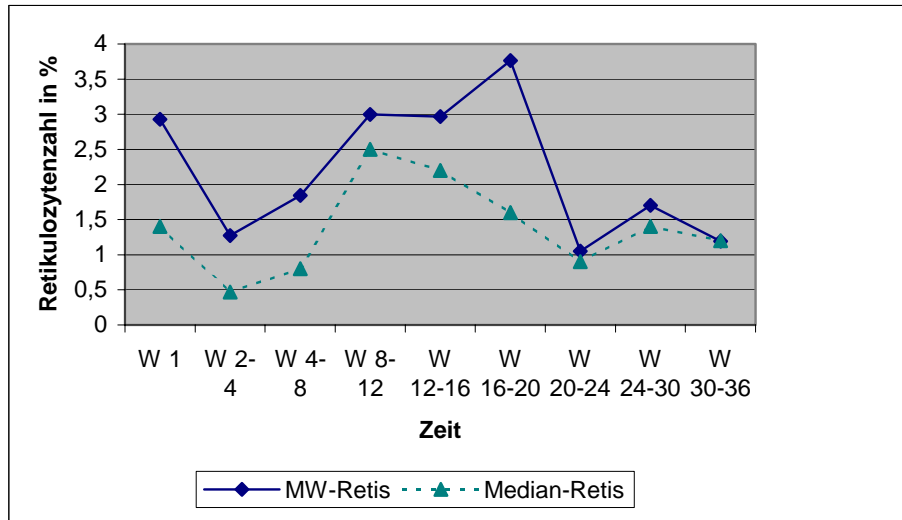


Abb. 6: Retikulozytenentwicklung über die Zeit in Wochen (W)

Zeitraum in Wochen (W)	Mittelwert-Retikulozyten in %	Median-Retikulozyten in %
W 1	2,9	1,4
W 2-4	1,3	0,5
W 4-8	1,8	0,8
W 8-12	3,0	2,5
W 12-16	3,0	2,2
W 16-20	3,8	1,6
W 20-24	1,1	0,9
W 24-30	1,7	1,4
W 30-36	1,2	1,2

Tab. 9: Retikulozytenentwicklung über die Zeit in Wochen (W) – Werte in %.

Auf den Retikulozytenwert haben die therapeutischen Transfusionen keinen direkten Einfluss, allenfalls einen leichten „Verdünnungseffekt“, insofern ist die Aussagekraft der Kurve der Retikulozytenentwicklung durch die Mittelwertbildung nicht wesentlich eingeschränkt. Bei dieser Kurve fällt eine größere Differenz zwischen Mittelwert und Medianwert auf. Dieser Effekt ist bedingt durch das Vorkommen sehr viel höherer Werte bei einzelnen Patienten. Daher ist in diesem Fall von einer höheren Aussagekraft des Medianwertes auszugehen.

Wachstum und Entwicklung:

Folgende Tabelle zeigt, für wie viele der Patienten für die einzelnen Zeiträume Gewichtswerte vorliegen. Des Weiteren kann man entnehmen, wie viele der Patienten hinsichtlich ihrer Gewichtswerte zu den jeweiligen Untersuchungszeiträumen in welchem Perzentilenbereich liegen. Die Werte sind jeweils ausgedrückt in absoluten Zahlen und in prozentualen Anteilen an der erhobenen Gesamtzahl. Die Gesamtzahl der untersuchten Patienten sinkt hin zu den späteren Untersuchungszeitpunkten.

Perzentile		<3.	3.-10.	10.-25.	25.-50.	50.-75.	75.-90.	90.-97.	>97.
	gesamt								
Geburt	79/82 (96,3%)	0	0	7 (8,9%)	27 (34,2%)	30 (38,0%)	11 (13,9%)	4 (5,1%)	0
4 –8,5 w (28-59d)	54/82 (65,9%)	0	0	2 (3,7%)	4 (7,4%)	28 (51,9%)	12 (22,2%)	4 (7,4%)	4 (7,4%)
8,5-20w (60–139d)	39/82 (47,6%)	0	0	0	5 (12,8%)	16 (41,0%)	8 (20,5%)	9 (23,1%)	1 (2,6%)
20-60w (140- max.420d)	37/82 (45,1%)	0	1 (2,7%)	3 (8,1%)	5 (13,5%)	13 (35,1%)	7 (18,9%)	6 (16,2%)	2 (5,4%)

Tab. 10: Wachstumsparameter

In der folgenden Tabelle werden die Mittelwerte und Mediane der erhobenen Perzentilenwerte in den verschiedenen Zeiträumen einander gegenübergestellt. Perzentile 0 bezeichnet dabei die Werte, die zum Zeitpunkt der Geburt erhoben wurden, Perzentile 1, Perzentile 2 und Perzentile 3 dementsprechend die jeweiligen Werte zu den Untersuchungszeiträumen Lebenstag 28 – 59, 60 – 139 und 140 – maximal 420.

Statistiken

		Perzentile0 (Gestation)	Perzentile1 (d28 - d59)	Perzentile2 (d60 - d139)	Perzentile3 (d140 - max.d420)
N	Gültig	79	54	39	37
	Fehlend	3	28	43	45
Mittelwert		49,715	64,139	68,603	62,365
Median		50,000	62,500	62,500	62,500
Standardabweichung		21,600	21,083	20,548	25,549
Minimum		10,0	15,0	25,0	6,5
Maximum		93,5	98,0	98,0	98,0

Tab. 11: Wachstumsparameter – Statistiken

Statistische Auswertungen

Korrelationen:

Um mögliche Risikofaktoren und Prädiktoren für den Verlauf der Spätanämie herauszuarbeiten, wurden zunächst verschiedene Parameter durch gegenseitige Korrelation auf Zusammenhänge untersucht. Da bei den verschiedenen Parametern nicht von einer Normalverteilung auszugehen war und unterschiedliche Messniveaus untersucht wurden, wurde jeweils die Rangkorrelation nach Spearman-Rho verwendet. Zur Interpretation des jeweiligen Korrelationskoeffizienten wurde die folgende übliche Abstufung benutzt:

Ein Wert bis 0,2 entspricht einer sehr geringen Korrelation, zwischen 0,2 und 0,5 einer geringen, zwischen 0,5 und 0,7 einer mittleren, zwischen 0,7 und 0,9 einer hohen und mehr als 0,9 einer sehr hohen Korrelation.

Zusammenhang zwischen Zahl intrauteriner / postnataler Transfusionen

Korrelationen

			Anzahl IUT	Anzahl PNT
Spearman-Rho	Anzahl IUT	Korrelationskoeffizient	1,000	,273*
		Sig. (2-seitig)	,	,013
		N	82	82
	Anzahl PNT	Korrelationskoeffizient	,273*	1,000
		Sig. (2-seitig)	,013	,
		N	82	82

*. Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 signifikant (2-seitig).

Tab. 12: Korrelation Anzahl IUT/ Anzahl PNT

Zwischen der Zahl der intrauterinen und postnatalen Transfusionen ergibt sich mit einem Koeffizienten von 0,273 ein geringer, jedoch signifikanter positiver Zusammenhang. Das bedeutet, je mehr intrauterine Transfusionen benötigt wurden, desto mehr postnatale Transfusionen wurden durchgeführt.

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Zahl intrauteriner Transfusionen

Korrelationen

			Tage bis zur letzten Transfusion	Anzahl IUT
Spearman-Rho	Tage bis zur letzten Transfusion	Korrelationskoeffizient	1,000	,467**
		Sig. (2-seitig)	,	,000
		N	66	66
	Anzahl IUT	Korrelationskoeffizient	,467**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	,
		N	66	82

** . Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (2-seitig).

Tab. 13: Korrelation Tage bis letzte Transfusion / Anzahl IUT

Der erste gewählte Indikator für den Verlauf der Spätanämie, Dauer in Tagen bis zur letzten Transfusion, weist mit einem Koeffizienten von 0,467 einen geringen, jedoch hoch signifikanten positiven Zusammenhang zu der Zahl der intrauterinen Transfusionen auf. Demnach dauerte die Spätanämie, gemessen an der Dauer in Tagen bis zur letzten Transfusion, umso länger, je mehr intrauterine Transfusionen die betroffenen Patienten erhalten hatten.

Korrelationen

			Tage bis Retikulozyten > 2 %	Anzahl IUT
Spearman-Rho	Tage bis Retikulozyten > 2 %	Korrelationskoeffizient	1,000	,540**
		Sig. (2-seitig)	,	,000
		N	56	56
	Anzahl IUT	Korrelationskoeffizient	,540**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	,
		N	56	82

** . Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (2-seitig).

Tab. 14: Korrelation Tage bis Retikulozyten > 2% / Anzahl IUT

Der zweite Indikator, Dauer in Tagen bis Retikulozytenanstieg über 2%, weist mit einem Koeffizienten von 0,540 bereits einen mittleren hoch signifikanten positiven Zusammenhang zu der Zahl der intrauterinen Transfusionen auf. Hier zeigt sich der oben genannte Effekt noch

deutlicher: Mit zunehmender Zahl der intrauterinen Transfusionen nimmt die Dauer der Spätanämie zu, gemessen an der Dauer, bis der Retikulozytenwert über 2 % ansteigt.

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Zahl postnataler Transfusionen

Korrelationen

			Tage bis zur letzten Transfusion	Anzahl PNT
Spearman-Rho	Tage bis zur letzten Transfusion	Korrelationskoeffizient	1,000	,633**
		Sig. (2-seitig)	,	,000
		N	66	66
	Anzahl PNT	Korrelationskoeffizient	,633**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	,
		N	66	82

** · Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (2-seitig).

Tab. 15: Korrelation Tage bis zur letzten Transfusion / Anzahl PNT

Der erste Indikator der Spätanämie ergibt mit einem Koeffizienten von 0,633 eine mittlere positive Korrelation mit der Anzahl der postnatalen Transfusionen, ebenfalls hochsignifikant. Demnach war die Dauer der Spätanämie, gemessen an der Zeit in Tagen bis zur letzten Transfusion, umso länger, je mehr postnatale Transfusionen durchgeführt wurden. Dieser Zusammenhang war zu erwarten, da ein direkter Bezug der beiden Größen untereinander besteht.

Korrelationen

			Tage bis Retikulozyten > 2 %	Anzahl PNT
Spearman-Rho	Tage bis Retikulozyten > 2 %	Korrelationskoeffizient	1,000	,533**
		Sig. (2-seitig)	,	,000
		N	56	56
	Anzahl PNT	Korrelationskoeffizient	,533**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	,
		N	56	82

** · Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (2-seitig).

Tab. 16: Korrelation Tage bis Retikulozyten > 2% / Anzahl PNT

Der zweite Marker der Spätanämie ergibt mit einem Koeffizienten von 0,533 eine mittlere positive Korrelation mit der Anzahl der postnatalen Transfusionen, ebenfalls hochsignifikant. Der oben genannte Bezug besteht also auch für den zweiten Indikator der Spätanämie, die Zeit in Tagen bis der Retikulozytenwert über 2 % ansteigt, obwohl hier keine direkte Beziehung der beiden Größen untereinander besteht. Für beide Größen gilt jedoch, dass sie Ausdruck der Schwere der Spätanämie sind und daher eine gegenseitige Abhängigkeit zu postulieren ist.

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Summe intrauteriner und postnataler Transfusionen

Korrelationen

			Tage bis zur letzten Transfusion	IUT + PNT
Spearman-Rho	Tage bis zur letzten Transfusion	Korrelationskoeffizient	1,000	,612**
		Sig. (2-seitig)	,	,000
		N	66	66
	IUT + PNT	Korrelationskoeffizient	,612**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	,
		N	66	82

** . Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (2-seitig).

Tab. 17: Korrelation Tage bis zur letzten Transfusion / Summe aus IUT + PNT

Der erste Indikator der Spätanämie weist mit einem Koeffizienten von 0,612 einen mittleren, hoch signifikanten positiven Zusammenhang zu der Summe der intrauterinen und postnatalen Transfusionen auf. Demnach dauerte die Spätanämie, gemessen an der Zeit in Tagen bis zur letzten Transfusion, umso länger, je höher die Summe der intrauterinen und postnatalen Transfusionen bei den Patienten war.

Korrelationen

			Tage bis Retikulozyten > 2 %	IUT + PNT
Spearman-Rho	Tage bis Retikulozyten > 2 %	Korrelationskoeffizient	1,000	,594**
		Sig. (2-seitig)	,	,000
		N	56	56
	IUT + PNT	Korrelationskoeffizient	,594**	1,000
		Sig. (2-seitig)	,000	,
		N	56	82

** . Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 signifikant (2-seitig).

Tab. 18: Korrelation Tage bis Retikulozyten > 2% / Summe aus IUT + PNT

Der zweite Indikator der Spätanämie weist mit einem Koeffizienten von 0,594 ebenfalls einen mittleren, hoch signifikanten positiven Zusammenhang zu der Summe der intrauterinen und postnatalen Transfusionen auf. Danach dauerte die Spätanämie, hier gemessen an der Zeit in Tagen bis der Retikulozytenwert über 2 % ansteigt, umso länger, je höher die Summe der intrauterinen und postnatalen Transfusionen bei den Patienten war.

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Zahl der Austauschtransfusionen

Korrelationen

			Tage bis zur letzten Transfusion	ZAHL_AT
Spearman-Rho	Tage bis zur letzten Transfusion	Korrelationskoeffizient	1,000	-,217
		Sig. (2-seitig)	,	,082
		N	66	65
	ZAHL_AT	Korrelationskoeffizient	-,217	1,000
		Sig. (2-seitig)	,082	,
		N	65	81

Tab. 19: Korrelation Tage bis zur letzten Transfusion / Zahl AT

Der erste Indikator der Spätanämie ergibt mit einem Koeffizienten von – 0,217 eine geringe negative Korrelation mit der Zahl der Austauschtransfusionen, zweiseitig geprüft jedoch mit $p=0,082$ knapp nicht signifikant. Trotz knapp nicht gegebener Signifikanz zeigt sich die Tendenz, dass die Spätanämie, gemessen an der Zeit in Tagen bis zur letzten Transfusion, umso kürzer dauerte, wenn bei den Patienten Austauschtransfusionen durchgeführt wurden.

Korrelationen

			Tage bis Retikulozyten > 2 %	ZAHL_AT
Spearman-Rho	Tage bis Retikulozyten > 2 %	Korrelationskoeffizient	1,000	-,170
		Sig. (2-seitig)	,	,215
		N	56	55
ZAHL_AT		Korrelationskoeffizient	-,170	1,000
		Sig. (2-seitig)	,215	,
		N	55	81

Tab. 20: Korrelation Tage bis Retikulozyten > 2% / Zahl AT

Der zweite Marker der Spätanämie ergibt mit einem Koeffizienten von $-0,170$ eine sehr geringe, ebenfalls negative Korrelation zu der Zahl der Austauschtransfusionen, jedoch deutlich nicht signifikant. Bei hier deutlich nicht gegebener Signifikanz zeigt sich zwar ebenfalls die Tendenz, dass die Spätanämie, jetzt gemessen an der Zeit in Tagen bis der Retikulozytenwert über 2 % ansteigt, umso kürzer dauerte, wenn bei den Patienten Austauschtransfusionen durchgeführt wurden. Dieses Ergebnis ist jedoch aufgrund der deutlich fehlenden Signifikanz nicht dazu verwendbar, die Hypothese eines tatsächlichen Zusammenhanges aufzustellen.

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Hb-Werten (Median) vor Transfusion

Korrelationen

			Tage bis zur letzten Transfusion	Hb vor Transfusion (Median)
Spearman-Rho	Tage bis zur letzten Transfusion	Korrelationskoeffizient	1,000	-,286*
		Sig. (2-seitig)	,	,024
		N	66	62
Hb vor Transfusion (Median)		Korrelationskoeffizient	-,286*	1,000
		Sig. (2-seitig)	,024	,
		N	62	62

*. Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 signifikant (2-seitig).

Tab. 21: Korrelation Tage bis zur letzten Transfusion / Hb-Werte (Median) vor Transfusion

Der erste Indikator der Spätanämie weist mit einem Koeffizienten von $-0,286$ einen geringen, signifikanten negativen Zusammenhang zu dem Medianwert des Hb-Wertes der Patienten jeweils

vor (postnatalen) Transfusionen. Danach dauerte die Spätanämie, gemessen an der Zeit in Tagen bis zur letzten Transfusion, umso länger, je niedriger der Hb-Wert der Patienten vor den jeweiligen (postnatalen) Transfusionen war.

Korrelationen

			Tage bis Retikulozyten > 2 %	Hb vor Transfusion (Median)
Spearman-Rho	Tage bis Retikulozyten > 2 %	Korrelationskoeffizient	1,000	-,371*
		Sig. (2-seitig)	,	,013
		N	56	44
	Hb vor Transfusion (Median)	Korrelationskoeffizient	-,371*	1,000
		Sig. (2-seitig)	,013	,
		N	44	62

*. Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 signifikant (2-seitig).

Tab. 22: Korrelation Tage bis Retikulozyten > 2% / Hb-Werte (Median) vor Transfusion

Der zweite Indikator der Spätanämie weist mit einem Koeffizienten von - 0,371 einen geringen, signifikanten negativen Zusammenhang zu dem Medianwert des Hb-Wertes der Patienten jeweils vor (postnatalen) Transfusionen. Danach dauerte die Spätanämie, jetzt gemessen an der Zeit in Tagen bis der Retikulozytenwert über 2 % ansteigt, umso länger, je niedriger der Hb-Wert der Patienten vor den jeweiligen (postnatalen) Transfusionen war.

Gruppenvergleiche:

Um Zusammenhänge der Parameter Antikörper, Thrombozytenzahl bei Geburt und fetales Hämoglobin bei Geburt mit der Spätanämie zu untersuchen, wurden jeweils Patientengruppen gebildet und miteinander in Bezug auf den Verlauf der Spätanämie verglichen. Je nach Zahl der Gruppen wurde dabei zum statistischen Testen auf Unterschiede entweder der „T-Test bei unabhängigen Stichproben“ oder „einfaktorielle ANOVA“ als Vergleichsverfahren eingesetzt.

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Art des/der pathogenen Antikörper

Deskriptive Statistik

	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum	
					Untergrenze	Obergrenze			
Tage bis zur letzten Transfusion	Unbekannt	9	34,78	16,31	5,44	22,24	47,31	5	57
	Anti-D	37	37,35	27,95	4,59	28,03	46,67	1	105
	Anti-D + x	13	39,31	21,45	5,95	26,35	52,27	1	76
	Anti-Kell	3	47,33	9,50	5,49	23,72	70,94	38	57
	Anti-Kell + x (außer D)	2	38,50	3,54	2,50	6,73	70,27	36	41
	Sonstige	2	25,50	33,23	23,50	-273,10	324,10	2	49
	Gesamt	66	37,52	24,10	2,97	31,59	43,44	1	105
Tage bis Retikulozyten > 2 %	Unbekannt	6	67,67	18,26	7,46	48,50	86,83	45	87
	Anti-D	32	52,84	29,32	5,18	42,27	63,41	17	133
	Anti-D + x	13	69,54	35,25	9,78	48,24	90,84	13	131
	Anti-Kell	1	96,00	,	,	,	,	96	96
	Anti-Kell + x (außer D)	2	63,00	31,11	22,00	-216,54	342,54	41	85
	Sonstige	2	25,50	3,54	2,50	-6,27	57,27	23	28
	Gesamt	56	58,46	30,43	4,07	50,31	66,61	13	133

Tab. 23: Deskriptive Statistik der Patientengruppen, aufgeteilt nach Antikörper

Bezüglich eines möglichen Einflusses der diagnostizierten Antikörperkonstellation auf beide Indikatoren der Spätanämie ergibt sich die gleiche Tendenz. Den längsten Krankheitsverlauf hat die Patientengruppe mit Kell-Antikörpern, gefolgt von der Gruppe der Patienten mit Mischkonstellation Anti-D + beliebiger Antikörper, danach Anti-Kell + x und reinem Anti-D Nachweis. Die Unterschiede sind jedoch durch die Inhomogenität der Gruppengrößen im folgenden ANOVA-Test nicht signifikant.

ANOVA

		Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Tage bis zur letzten Transfusion	Zwischen den Gruppen	690,061	5	138,012	,223	,951
	Innerhalb der Gruppen	37068,424	60	617,807		
	Gesamt	37758,485	65			
Tage bis Retikulozyten > 2 %	Zwischen den Gruppen	6736,646	5	1347,329	1,524	,199
	Innerhalb der Gruppen	44201,283	50	884,026		
	Gesamt	50937,929	55			

Tab. 24: Statistischer Mittelwertvergleich der Patientengruppen, aufgeteilt nach Antikörper

**Zusammenhang zwischen Spätanämie und Kell-positiver/Kell-negativer
Antikörperkonstellation**

Gruppenstatistiken

		N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Tage bis zur letzten Transfusion	mit Kell-Ag	6	49,17	15,17	6,19
	ohne Kell-Ag	51	36,63	25,91	3,63
Tage bis Retikulozyten > 2 %	mit Kell-Ag	5	66,00	37,20	16,64
	ohne Kell-Ag	45	56,40	31,17	4,65

Tab. 25: Gruppenstatistik Kell-negative/Kell-positive Patienten

Bei gesonderter Gegenüberstellung der Kell-positiven Patientengruppe gegenüber der Kell-negativen Gruppe, ohne Betrachtung eventuellen Vorliegens weiterer pathogener Antikörper bestätigt sich durch beide Indikatoren der längere Krankheitsverlauf der Kell-positiven Gruppe. So ist der Verlauf bei Betrachtung des ersten Parameters „Zeit in Tagen bis zur letzten Transfusion“ bei Kell-negativen Patienten um ca. 13 Tage, bei Betrachtung des zweiten Parameters „Zeit bis Retikulozyten > 2%“ um ca. 10 Tage kürzer. Erneut ist das Ergebnis bei sehr unterschiedlichen Vergleichsgruppengrößen nicht signifikant.

Test bei unabhängigen Stichproben

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Tage bis zur letzten Transfusion	Varianzen sind gleich	1,852	,179	1,157	55	,252	12,54	10,84	-9,19	34,27
	Varianzen sind nicht gleich			1,747	8,914	,115	12,54	7,18	-3,72	28,80
Tage bis Retikulozyten > 2 %	Varianzen sind gleich	,514	,477	,642	48	,524	9,60	14,95	-20,46	39,66
	Varianzen sind nicht gleich			,556	4,646	,604	9,60	17,27	-35,84	55,04

Tab. 26: Statistischer Mittelwertvergleich der Gruppen Kell-positiv/Kell-negativ Patienten

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Thrombozytenzahl bei Geburt

Gruppenstatistiken

	TZ Rang	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Tage bis zur letzten Transfusion	<150.000	14	43,14	28,93	7,73
	>150.000	52	36,00	22,71	3,15
Tage bis Retikulozyten > 2 %	<150.000	10	64,40	36,03	11,39
	>150.000	46	57,17	29,37	4,33

Tab. 27: Statistik der Patientengruppen, aufgeteilt nach Thrombozytenzahl bei Geburt

Nach Aufteilung der Patienten in zwei Gruppen bezogen auf das Kriterium Thrombozytenzahl bei Geburt $<$ bzw. ≥ 150.000 zeigt sich ein leicht verlängerter Krankheitsverlauf um 6 (Parameter 1) bzw. 7 (Parameter 2) Tage in der Gruppe der Patienten mit einer Thrombozytenzahl < 150.000 bei Geburt. Dies ist in der statistischen Überprüfung jedoch nicht signifikant.

Test bei unabhängigen Stichproben

		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
Tage bis zur letzten Transfusion	Varianzen sind gleich	,434	,513	,984	64	,329	7,14	7,26	-7,36	21,64
	Varianzen sind nicht gleich			,855	17,548	,404	7,14	8,35	-10,43	24,72
Tage bis Retikulozyten > 2 %	Varianzen sind gleich	1,175	,283	,677	54	,501	7,23	10,67	-14,17	28,62
	Varianzen sind nicht gleich			,593	11,739	,565	7,23	12,19	-19,40	33,85

Tab. 28: Statistischer Mittelwertvergleich der Patientengruppen, aufgeteilt nach Thrombozytenzahl bei Geburt

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Anteil fetalen Hämoglobins bei Geburt

Deskriptive Statistik

	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum	
					Untergrenze	Obergrenze			
Tage bis zur letzten Transfusion	Hbf<5%	24	45,04	21,07	4,30	36,15	53,94	10	105
	Hbf>5%<20%	7	28,14	30,09	11,37	,31	55,97	1	80
	Hbf>20%	11	24,82	22,12	6,67	9,96	39,68	2	71
	Gesamt	42	36,93	24,33	3,75	29,35	44,51	1	105
Tage bis Retikulozyten > 2 %	Hbf<5%	18	70,33	26,89	6,34	56,96	83,71	26	131
	Hbf>5%<20%	5	53,80	33,55	15,00	12,14	95,46	29	104
	Hbf>20%	11	44,36	23,71	7,15	28,43	60,29	13	82
	Gesamt	34	59,50	28,72	4,93	49,48	69,52	13	131

Tab. 29: Statistik der Patientengruppen, aufgeteilt nach Anteil HbF in % bei Geburt

Zur Untersuchung eines möglichen Zusammenhanges zwischen dem Verlauf der Spätanämie und dem Anteil des fetalen Hämoglobins bei Geburt wurden die Patienten in drei Gruppen aufgeteilt mit den Grenzen Anteil HbF bei Geburt $< 5\%$, $\geq 5\%$ und $< 20\%$ sowie $\geq 20\%$. Die Dauer der Spätanämie gemessen anhand beider Indikatoren nahm mit Abnahme des HbF-Anteils signifikant zu. Das bedeutet, je niedriger der HbF-Wert war, desto länger dauerte die Spätanämie.

ANOVA

		Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Tage bis zur letzten Transfusion	Zwischen den Gruppen	3733,334	2	1866,667	3,545	,038
	Innerhalb der Gruppen	20535,452	39	526,550		
	Gesamt	24268,786	41			
Tage bis Retikulozyten > 2 %	Zwischen den Gruppen	4795,155	2	2397,577	3,315	,050
	Innerhalb der Gruppen	22421,345	31	723,269		
	Gesamt	27216,500	33			

Tab. 30: Statistischer Mittelwertvergleich der Patientengruppen, aufgeteilt nach Anteil HbF in % bei Geburt

Wachstumskorrelationen:

Zur Ermittlung eines eventuellen Zusammenhanges zwischen Verlauf der Spätanämie und Gewichtsentwicklung der Kinder wurden jeweils Korrelationen zwischen den beiden Krankheitsindikatoren mit dem Gewicht der Kinder zum entsprechenden Zeitpunkt, ausgedrückt im errechneten Perzentilenwert, durchgeführt. Das Gewicht als Perzentilenwert wurde als stellvertretender Indikator für die körperliche Entwicklung benutzt, da bei Analyse der Daten eine

weitgehend proportionale Gewichts- und Größenentwicklung ein abweichendes Ergebnis für die Korrelation mit der Größenentwicklung sehr unwahrscheinlich machte.

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Wachstum bzw. Entwicklung

1. Indikator: Tage bis zur letzten Transfusion

Korrelationen

			Tage bis zur letzten Transfusion	Perzentile 0 (Geburt)
Spearman-Rho	Tage bis zur letzten Transfusion	Korrelationskoeffizient	1,000	,246
		Sig. (2-seitig)	,	,052
		N	66	63
	Perzentile 0 (Geburt)	Korrelationskoeffizient	,246	1,000
		Sig. (2-seitig)	,052	,
		N	63	79

Tab. 31: Korrelation Tage bis zur letzten Transfusion / Perzentilenwert zum Zeitpunkt 0 (Geburt)

Für den Zeitpunkt der Geburt ergibt sich für den ersten Indikator der Spätanämie mit einem Koeffizienten von 0,246 ein geringer positiver, in zweiseitiger Testung jedoch knapp nicht signifikanter Zusammenhang zum Perzentilenwert. Tendenziell wiesen demnach die Kinder, die im weiteren Verlauf zu einem späteren Zeitpunkt noch transfundiert werden mussten, zum Zeitpunkt der Geburt eine vergleichsweise höhere Gewichtsperzentile auf. Andersherum ausgedrückt mussten die Kinder mit einem bei Geburt für das Gestationsalter leicht höheren Gewicht im weiteren Verlauf noch zu einem späteren Zeitpunkt transfundiert werden als die Kinder, die bei Geburt eher leichter für ihr Gestationsalter waren.

Korrelationen

			Tage bis zur letzten Transfusion	Perzentile 1 (d28 - d59)
Spearman-Rho	Tage bis zur letzten Transfusion	Korrelationskoeffizient	1,000	,088
		Sig. (2-seitig)	,	,571
		N	66	44
	Perzentile 1 (d28 - d59)	Korrelationskoeffizient	,088	1,000
		Sig. (2-seitig)	,571	,
		N	44	54

Tab. 32: Korrelation Tage bis zur letzten Transfusion / Perzentilenwert zum Zeitpunkt 1 (d28 – d59)

Für den Zeitraum 1 (d28 – d59) ergibt sich für den ersten Indikator der Spätanämie mit einem Koeffizienten von 0,088 ein sehr geringer positiver, deutlich nicht signifikanter Zusammenhang zum Perzentilenwert. Aus diesem Ergebnis lässt sich ableiten, dass zu diesem Untersuchungszeitpunkt keinerlei Verbindung zwischen Gewicht und Spätanämie zu erkennen ist.

Korrelationen

			Tage bis zur letzten Transfusion	Perzentile 2 (d60 - d139)
Spearman-Rho	Tage bis zur letzten Transfusion	Korrelationskoeffizient	1,000	-,110
		Sig. (2-seitig)	,	,570
		N	66	29
	Perzentile 2 (d60 - d139)	Korrelationskoeffizient	-,110	1,000
		Sig. (2-seitig)	,570	,
		N	29	39

Tab. 33: Korrelation Tage bis zur letzten Transfusion / Perzentilenwert zum Zeitpunkt 1 (d60 – d139)

Für den Zeitraum 2 (d60 – d139) ergibt sich für den ersten Indikator der Spätanämie mit einem Koeffizienten von – 0,110 ein sehr geringer negativer, deutlich nicht signifikanter Zusammenhang zum Perzentilenwert. Auch wenn der negative Koeffizient leicht höher ist als für den vorherigen Zeitraum, ist bei fehlender Signifikanz ($p = 0,570$) ebenfalls keine Verbindung zu postulieren.

Korrelationen

			Tage bis zur letzten Transfusion	Perzentile 3 (d140 - max.d420)
Spearman-Rho	Tage bis zur letzten Transfusion	Korrelationskoeffizient	1,000	-,345
		Sig. (2-seitig)	,	,053
		N	66	32
	Perzentile 3 (d140 - max.d420)	Korrelationskoeffizient	-,345	1,000
		Sig. (2-seitig)	,053	,
		N	32	37

Tab. 34: Korrelation Tage bis zur letzten Transfusion / Perzentilenwert zum Zeitpunkt 1 (d140 – max.d420)

Für den Zeitraum 3 (d140 – max.d420) ergibt sich für den ersten Indikator der Spätanämie mit einem Koeffizienten von – 0,345 ein geringer negativer, in zweiseitiger Testung wiederum knapp nicht signifikanter Zusammenhang zum Perzentilenwert. Hieraus lässt sich schließen, dass anders als zum Zeitpunkt der Geburt zu diesem Untersuchungszeitraum die Kinder einen höheren Gewichtsperzentilenwert zeigten, die zu einem früheren Zeitpunkt letztmalig transfundiert werden mussten, deren Spätanämie also einen kürzeren Verlauf hatte. Umgekehrt hatten also Kinder mit einem längeren Verlauf der Spätanämie tendenziell niedrigere Gewichtsperzentilenwerte, bezogen auf diesen Untersuchungszeitraum.

2. Indikator: Tage bis Retikulozyten >2%

Korrelationen

			Tage bis Retikulozyten > 2 %	Perzentile 0 (Geburt)
Spearman-Rho	Tage bis Retikulozyten > 2 %	Korrelationskoeffizient	1,000	,101
		Sig. (2-seitig)	,	,467
		N	56	54
	Perzentile 0 (Geburt)	Korrelationskoeffizient	,101	1,000
		Sig. (2-seitig)	,467	,
		N	54	79

Tab. 35: Korrelation Tage bis Retikulozyten > 2% / Perzentilenwert zum Zeitpunkt 0 (Geburt)

Für den Zeitpunkt der Geburt ergibt sich für den zweiten Indikator der Spätanämie mit einem Koeffizienten von 0,101 ein sehr geringer positiver, nicht signifikanter Zusammenhang zum Perzentilenwert. Auch wenn die Tendenz im Vergleich zum ersten Indikator für diesen Zeitpunkt gleich ist, lässt sich durch den niedrigen Koeffizienten und die fehlende Signifikanz ($p = 0,467$) keinerlei Verbindung des Gewichtes mit der Spätanämie, gemessen mit diesem Indikator, erkennen.

Korrelationen

			Tage bis Retikulozyten > 2 %	Perzentile 1 (d28 - d59)
Spearman-Rho	Tage bis Retikulozyten > 2 %	Korrelationskoeffizient	1,000	,196
		Sig. (2-seitig)	,	,227
		N	56	40
	Perzentile 1 (d28 - d59)	Korrelationskoeffizient	,196	1,000
		Sig. (2-seitig)	,227	,
		N	40	54

Tab. 36: Korrelation Tage bis Retikulozyten > 2% / Perzentilenwert zum Zeitpunkt 1 (d28 – d59)

Für den Zeitraum 1 (d28 – d59) ergibt sich für den zweiten Indikator der Spätanämie mit einem Koeffizienten von 0,196 ein sehr geringer positiver, nicht signifikanter Zusammenhang zum Perzentilenwert. Auch hier gilt, dass eine Verbindung nicht mit ausreichender Wahrscheinlichkeit angenommen werden kann.

Korrelationen

			Tage bis Retikulozyten > 2 %	Perzentile 2 (d60 - d139)
Spearman-Rho	Tage bis Retikulozyten > 2 %	Korrelationskoeffizient	1,000	,228
		Sig. (2-seitig)	,	,202
		N	56	33
	Perzentile 2 (d60 - d139)	Korrelationskoeffizient	,228	1,000
		Sig. (2-seitig)	,202	,
		N	33	39

Tab. 37: Korrelation Tage bis Retikulozyten > 2% / Perzentilenwert zum Zeitpunkt 2 (d60 – d139)

Für den Zeitraum 2 (d60 – d139) ergibt sich für den zweiten Indikator der Spätanämie mit einem Koeffizienten von 0,228 ein geringer positiver, nicht signifikanter Zusammenhang zum Perzentilenwert. Eine tatsächlich bestehende Verbindung kann jedoch auch hier durch die fehlende Signifikanz nicht konstatiert werden.

Korrelationen

			Tage bis Retikulozyten > 2 %	Perzentile 3 (d140 - max.d420)
Spearman-Rho	Tage bis Retikulozyten > 2 %	Korrelationskoeffizient	1,000	-,105
		Sig. (2-seitig)	,	,595
		N	56	28
	Perzentile 3 (d140 - max.d420)	Korrelationskoeffizient	-,105	1,000
		Sig. (2-seitig)	,595	,
		N	28	37

Tab. 38: Korrelation Tage bis Retikulozyten > 2% / Perzentilenwert zum Zeitpunkt 3 (d140 – max.d420)

Für den Zeitraum 3 (d140 – max.d420) ergibt sich für den zweiten Indikator der Spätanämie mit einem Koeffizienten von – 0,105 ein sehr geringer negativer, deutlich nicht signifikanter Zusammenhang zum Perzentilenwert. Dieses Ergebnis ist ebenfalls durch die deutlich fehlende Signifikanz ($p = 0,595$) nicht aussagekräftig, interessant ist jedoch die ähnliche Tendenz wie die des ersten Indikators für diesen Zeitraum. Demnach sind auch gemessen an diesem Indikator in diesem Zeitraum die Kinder mit höheren Perzentilenwerten relativ leichter von der Spätanämie betroffen als die Kinder mit niedrigeren Perzentilenwerten für ihr Gewicht.

Zusammenfassung Korrelationskoeffizienten

	Korrelationskoeffizien	Korrelationskoeffizien	Korrelationskoeffizien	Korrelationskoeffizien
	t	t	t	t
	Zeitpunkt 0 (Geburt)	Zeitpunkt 1(d28 - d59)	Zeitpunkt 2 (d60 – d139)	Zeitpunkt 3 (d140 – max.d420)
Tage bis zur letzten Transfusion	0,246 (p = 0,052)	0,088 (p = 0,571)	- 0,110 (p = 0,570)	- 0,345 (p = 0,053)
Tage bis Retikulozyte n > 2%	0,101 (p = 0,467)	0,196 (p = 0,227)	0,228 (p = 0,202)	-0,105 (p = 0,595)

Tab. 39: Zusammenfassung Wachstumskorrelationen

Zusammenfassend zeigen sich, vor allem deutlich im ersten Indikator, über die Entwicklungszeit sich verschiebende Verhältnisse. Zum Zeitpunkt der Geburt besteht eine positive Korrelation, d. h., je länger die Spätanämie bei den Kindern andauern wird, desto höher ist zu diesem Zeitpunkt der Perzentilenwert ihres Gewichtes, auf dem sie sich befinden. Zum letzten beobachteten Zeitraum zeigt sich ein umgekehrtes Verhältnis, d.h., je länger die Spätanämie andauert, desto niedriger ist der Perzentilenwert des Gewichtes in diesem Zeitraum. Daraus lässt sich schließen, dass ein Großteil der stark betroffenen Kinder (charakterisiert durch die längere Dauer der Spätanämie) im Laufe des Beobachtungszeitraums von einem zu Beginn hohen Perzentilenwertes bezüglich ihres Gewichtes auf einen niedrigeren zurückfallen, und zwar umso mehr, je länger die Spätanämie bei ihnen andauert. Diese Beobachtung beruht auf nicht signifikanten Korrelationskoeffizienten, dennoch sind bei zwei Korrelationen die Signifikanzwerte nur knapp an der Grenze ($p = 0,052$ zum Zeitpunkt der Geburt bzw. $p = 0,053$ zum Zeitpunkt 3). Daher ist ein tatsächlicher Zusammenhang, so wie er eben beschrieben wurde, durchaus denkbar, jedoch durch eine zu geringe Fallzahl nicht signifikant.

Diskussion

Aufbau und Intention der Studie

Aufgrund des seit Einführung der Anti-D-Immunglobulinprophylaxe in den sechziger Jahren deutlichen Rückgangs der Inzidenz des Morbus haemolyticus fetalis et neonatorum sind aktuelle Studien, die eine große Fallzahl betroffener Patienten beinhalten, selten geworden. Dennoch handelt es sich nach wie vor aufgrund des hohen Risikos sowohl der Erkrankung selbst als auch ihrer therapeutischen Ansätze, wie IUT oder AT, um ein wichtiges Krankheitsbild der Neonatologie und Geburtshilfe. Die aktuelle Inzidenz wird in der näheren Zukunft nicht mehr wesentlich geringer werden (Luban 1993). Neben den für die RhD-Immunisierung wesentlichen Faktoren der durch fehlerhafte oder zeitlich verzögerte insuffiziente Anti-D-Verabreichung und der sogenannten „stillen“ fetomaternalen Hämorrhagie (Urbaniak SJ 1998) sind die Zuwanderung aus Ländern mit ungenügender prophylaktischer Versorgung sowie die relative Zunahme irregulärer Antikörper, die nicht gegen das RhD-Merkmal gerichtet sind (Kell u.a.), als Gründe für das Fortbestehen des Krankheitsbildes zu nennen.

Das vor allem im Verlauf eines mit IUT behandelten Morbus haemolyticus häufig auftretende Phänomen einer Spätanämisierung der betroffenen Patienten ist und bleibt also eine mit hohem apparativem und zeitlichem Engagement verbundene Herausforderung für den betreuenden Neonatologen, sowohl was Diagnostik als auch Therapie betrifft. Für den behandelnden Arzt ist die Kenntnis einfacher bestimmender Parameter, welche eine Prognose für den zu erwartenden Krankheitsverlauf zulassen, für die Planung der postnatalen Therapie- und Beobachtungsphase eine große Hilfe. Zusätzlich böte die Identifikation möglicher den Verlauf der Spätanämie direkt beeinflussender Faktoren die Option, verwendete Therapieschemata entsprechend anzupassen. Die meisten der bisher veröffentlichten Studien zum Thema der Spätanämie untersuchen mögliche Therapieformen wie Erythropoetingabe und intravenöse Immunglobulingabe (IVIg), die indirekt die Anämie beeinflussen (Mukhopadhyay K et al. 2003, Ovali F et al. 1996, Scaradavou et al. 1993, Ohls RK et al. 1992). Lozinska veröffentlichte 1978 die mit 300 eingeschlossenen Patienten bisher umfangreichste Studie zum Verlauf des MHN (Lozinska D 1978). Bei dieser Studie lag jedoch der Schwerpunkt auf der Untersuchung perinataler Komplikationen, vor allem der Ausbildung und Ausprägung eines Ikterus. Seit Einführung von

intrauterinen Transfusionen als wesentlicher Bestandteil der Therapie und damit deutlich verbessertem „Outcome“ der Kinder bei Geburt sowie durch die gute Beherrschung der Hyperbilirubinämie durch Phototherapie und Austauschtransfusion, ist die ausgeprägte Spätanämie als späte Komplikation der Erkrankung weiter in den Vordergrund gerückt. Zwei Studien (al-Alaiyan S 1999, Saade GR et al. 1993) untersuchen bisher mögliche Risikofaktoren für den Verlauf der Spätanämie mit einem Kollektiv von jeweils 36 Patienten. Beide kommen dabei zu dem Schluss, dass möglicherweise Austauschtransfusionen den Verlauf günstig beeinflussen können. Andere Risiko- bzw. beeinflussende Faktoren konnten von al-Alaiyan, auch aufgrund der begrenzten Patientenzahl, nicht identifiziert werden. Saade et al. postulierten zusätzlich einen ursächlichen Zusammenhang zwischen Schwere und Dauer der fetalen Knochenmarksuppression und Zahl der postnatalen Transfusionen. Als Maß dafür wurden mehrere Faktoren verwendet: So hatten die schwerer betroffenen Kinder eine niedrigere Retikulozytenzahl zum Zeitpunkt der letzten IUT, eine längere Dauer zwischen niedrigster Retikulozytenzahl und Geburt, sowie einen höheren Nabelschnur-Hämoglobinwert und einen größeren prozentualen Anteil adulter Erythrozyten bei Geburt. Beide Autoren differenzierten in ihrer Analyse bei der auftretenden Spätanämie nicht nach den pathophysiologisch unterschiedlichen Grundlagen, der Anämie als direkte Folge der Hämolyse und der hyporegenerativen Anämie als Folge der KM-Suppression. In beiden Studien wurde versucht, Einflussfaktoren auf den Verlauf der Anämie zu entdecken, die letztlich aus einer Überlagerung beider Phänomene entsteht.

Die vorliegende Studie versucht weitere, einfach zu erhebende Risikofaktoren, prädiktive Faktoren sowie Einflussfaktoren, auch durch den höheren Umfang des Kollektivs zu erfassen. Eine weitere Intention ist es, einen möglichen Zusammenhang zwischen Verlauf der Spätanämie und Wachstum und Entwicklung der betroffenen Patienten zu untersuchen.

Es handelt sich dabei um eine retrospektive Studie, in der sowohl die Daten aus den Akten des perinatalen stationären Aufenthaltes, als auch der ambulanten Nachsorgeuntersuchungen für die betroffenen Patienten der Geburtenjahrgänge 1995 – 2001 eingehen. In Verbindung mit der Beschränkung auf ein einziges Einschlusskriterium, nämlich das Vorliegen mindestens einer Nachsorgeuntersuchung im Alter von ≥ 28 Tagen, konnte durch dieses Vorgehen der Umfang des untersuchten Kollektivs mit 82 Patienten für diese seltene Erkrankung vergleichsweise groß gehalten werden. Da für manche Patienten nicht alle untersuchten Parameter erfasst werden

konnten, wurden die erhobenen Daten statistisch untersucht, was für den jeweiligen einzelnen Test einer Verringerung der Fallzahl entsprach.

Auf die Definition weiterer Einschlusskriterien wurde bewusst verzichtet, da neben der Verkleinerung des Kollektivs noch weitere Effekte die Folge gewesen wären. So wurden durch Saade et al. (1993) nur Patienten berücksichtigt, die neben dem Nachweis irregulärer Antikörper mindestens eine IUT erhalten hatten. Dadurch kommt es jedoch neben der Reduktion der Fallzahl bereits im Vorfeld zu einer Selektion von schwerer betroffenen Kindern. Diese Art der Selektion konnte auch in der vorliegenden Studie nicht vollständig vermieden werden, da aufgrund des retrospektiven Designs der Studie ein gewisser Anteil leichter betroffener Kinder durch die für unsere Einschlusskriterien zu kurze Beobachtungszeit aus dem Untersuchungskollektiv herausfiel. Es wurde jedoch versucht, derartige Effekte möglichst gering zu halten. In der Studie durch al-Alaiyan (1999) wurde die Fallzahl durch Einführung des Einschlusskriteriums „Geburtsalter nicht < 35. Woche“ deutlich verringert. Hintergrund dabei stellt der Versuch dar, durch Ausschluss der Frühgeborenen eine Vermischung der beiden pathophysiologisch getrennt zu betrachtenden bekannten Phänomene „Frühgeborenenanämie“ und „Spätanämie bei MHFN“ zu vermeiden. Diese grundsätzlich korrekte Trennung der beiden Phänomene wird jedoch zum einen durch eine Verringerung der Fallzahl, zum anderen vor allem durch eine Selektion schwächer betroffener Patienten erkauft, da häufig gerade nach Gabe von einer sehr hohen Anzahl an IUTs eine frühere Entbindung erforderlich ist. Auch nehmen Komplikationen bei IUTs, die zu einer sofortigen Entbindung führen können, mit der Zahl der IUTs und zunehmendem Gestationsalter zu, weswegen gerade bei schwer betroffenen Kindern häufig eine Frühgeburtlichkeit resultiert. Für den Kliniker ist gerade der Verlauf der Spätanämie bei den Kindern, bei denen sich beide Effekte gegenseitig verstärken von großem Interesse, da bei diesen Patienten eine besondere Aufmerksamkeit auf die Nachsorge nötig erscheint und die Therapie für beide Phänomene gleichsinnig ist. Eine Trennung erschien somit nicht sinnvoll. Daher wurde dieses Einschlusskriterium in der vorliegenden Studie nicht verwendet.

Die Anwendung des Einschlusskriteriums „mindestens eine Nachsorgeuntersuchung im Alter von ≥ 28 Tagen“ barg ebenfalls Probleme. Zum einen wurde das Untersuchungskollektiv von ursprünglich 113 Patienten auf 82 verringert. Zum anderen führte dies zu einer leichten Selektion der Patienten mit schwererem Verlauf. Die Analyse der vorhandenen Daten legte die Schlussfolgerung nahe, dass der bei einigen Kindern der Ausschlussgruppe möglicherweise leichtere Krankheitsverlauf in einem ursächlichen Zusammenhang zu der frühzeitigen

Beendigung der Nachsorge stehen könnte. So war der prozentuale Anteil der Kinder, die eine oder mehrere intrauterine Transfusionen benötigten, in der Ausschlussgruppe mit 35,5% gegenüber 81,7% in der Gruppe der eingeschlossenen Kinder deutlich niedriger. Auch die Kinder, welche intrauterine Transfusionen benötigt hatten, unterschieden sich in der Anzahl mit im Mittel 3,67 in der Ausschlussgruppe gegenüber 5,89 in der Gruppe der Eingeschlossenen. Bei einigen der ausgeschlossenen Patienten wurde aufgrund zum Teil erheblicher Entfernungen der Familien zum Heimatort die weitere Nachsorge von näher gelegenen Institutionen durchgeführt. Damit waren die Verlaufsdaten dieser Kinder nicht zugänglich. Da das Ziel der Studie die Untersuchung der Spätanämie und ihre ggf. vorhandenen Auswirkungen auf das Wachstum darstellt und der Verlauf der Spätanämie in den meisten Fällen deutlich länger als 27 Tage dauert, konnte auf dieses Einschlusskriterium jedoch nicht verzichtet werden.

Um letztlich mögliche Risikofaktoren bzw. Prädiktoren für den Verlauf der Spätanämisierung herauszuarbeiten, wurden Indikatoren benötigt, die diesen Verlauf möglichst störungsfrei und umfassend abbilden. Als ungeeignet dazu wurden alle Daten eingeschätzt, welche möglicherweise selbst einen Einfluss auf den Krankheitsverlauf nehmen könnten: Die Zahl der Transfusionen, sowohl der intrauterinen als auch der postnatalen, lässt zwar einen Rückschluss auf den Krankheitsverlauf zu, hat jedoch möglicherweise durch eine Knochenmarkssuppression selbst eine Auswirkung auf die Spätanämie. Als „reine“ Indikatoren wurden zwei verschiedene Werte ausgewählt, jeweils mit unterschiedlichen Beeinträchtigungen in ihrer Aussagekraft. Der Parameter „Zeitraum von Geburt bis zur letzten Transfusion in Tagen“ hat den Vorteil eines auf den Tag genauen Wertes, der zusätzlich bei fast allen Patienten gut dokumentiert ist. Als nachteilig wurde die Selektionierung der schwerer betroffenen Patienten gewertet, da alle Patienten ohne postnatale Transfusionen nicht in die Untersuchungen einbezogen werden konnten. Zudem ist die Dauer von den jeweils angewandten Transfusionskriterien abhängig und sind damit, da diese subjektive Kriterien beinhalten, nicht untersucherunabhängig. Im Übrigen handelt es sich um einen indirekten Indikator, da die Spätanämisierung zum Zeitpunkt der letzten Transfusion ggf. noch nicht überwunden ist.

Als zweiter Indikator-Parameter wurde die Zahl der Tage gewählt, bis ein dauerhafter Anstieg der Retikulozyten über 2% im Blutbild der Patienten nachzuweisen war. Pathophysiologisch markiert der Anstieg der Retikulozyten das Ende der hyporegenerativen Phase der Spätanämie, da ab diesem Zeitpunkt der Organismus wieder in der Lage ist, Erythrozyten zum Erhalt des hämatologischen Gleichgewichtes zu produzieren. Nur selten, vor allem bei Kindern, die keine

oder nur wenige IUTs erhalten haben oder deren Knochenmark wenig supprimiert ist liegt bei einem Anstieg der Retikulozyten noch eine so ausgeprägte Hämolyse vor, dass weitere Transfusionen notwendig sind. Insofern zeigt dieser Parameter in der Regel direkt den Verlauf der Spätanämie an und beinhaltet einen dementsprechend hohen Aussagewert bezüglich der Fragestellung. Eine Selektion der stärker betroffenen Kinder ist ebenfalls ausgeschlossen. Einschränkend muss jedoch gewertet werden, dass der exakte Zeitpunkt des Anstiegs bedingt durch die verschiedenen langen Intervalle zwischen den hämatologischen Untersuchungen nur näherungsweise dokumentiert sein kann. Zusätzlich konnte dieser Wert nicht bei allen Studienteilnehmern erfasst werden, exakt bei 56 Patienten gegenüber 66 mit einem Wert für „Tage bis zur letzten Transfusion“. Entweder stieg die Retikulozytenzahl bei diesen Kindern im Verlauf der dokumentierten Untersuchungen nie über 2%, oder es sind in der Ambulanz in Bonn keine weiteren Kontrollen dokumentiert.

Stellvertretend für die Untersuchung des Wachstums der Patienten wurde die jeweilige Gewichtsentwicklung der Kinder zu den Indikatoren der Spätanämie in Bezug gebracht. Um dies zu ermöglichen, war es nötig, genaue Zeitpunkte zu definieren, die später sinnvoll miteinander verglichen werden konnten. Wie bereits erwähnt, fanden die jeweiligen Nachuntersuchungen zum Zeitpunkt klinischer Notwendigkeit und somit nicht zu standardisierten Zeitpunkten statt. Durch die Definition der drei Alterszeiträume „Lebenstag 28 – 59“, „Lebenstag 60 – 139“ und „Lebenstag 140 – max. 420“ konnten mit dem Zeitpunkt der Geburt vier Wachstumsstadien, gemessen am jeweiligen Gewicht, miteinander verglichen werden. Die Definition der Zeiträume erfolgte aufgrund Anzahl und Verteilung der dokumentierten Nachuntersuchungen. Durch die mit fortlaufendem Alter zunehmenden Intervalle zwischen den Untersuchungen und die insgesamt abnehmende Zahl an Nachuntersuchungen über die Zeit ergaben sich mit 31, 79 und 280 Tagen drei unterschiedlich lange Zeiträume. Andererseits war für einen statistischen Vergleich für jeden Zeitpunkt das Vorliegen mindestens eines Wertes von Vorteil. Durch die unterschiedlich großen Zeiträume und die unterschiedlichen Gestationsalter war die Verwendung von Perzentilenwerten Voraussetzung. Zusätzlich wurde, wenn pro Zeitraum mehr als ein Wert pro Patient dokumentiert war, ein mittlerer Perzentilenwert für den jeweiligen Zeitraum berechnet. So konnte letztlich für jeden definierten Zeitraum ein Wert festgelegt werden. Trotz längerer Zeiträume mit Zunahme des Alters, standen für die späteren Zeiträume weniger Werte zur Verfügung.

Neben den im Kapitel Methoden bereits erwähnten, in der vorliegenden Studie untersuchten Parametern, sind durchaus noch weitere mögliche Einflussfaktoren bzw. Prädiktoren für den

Verlauf der Spätanämie denkbar. Höhe des Antikörpertiters der Mutter, Zahl der vorangegangenen Schwangerschaften und Serumerythropoetinspiegel der Kinder sind hierbei zu nennen. Es war jedoch nicht möglich, die für diese Untersuchungen nötigen Daten auf retrospektivem Weg zu erheben, da z.B. die Werte zum Teil nicht gemessen worden sind oder die mütterliche Akte nicht verfügbar war, so dass auf die Untersuchung dieser Parameter verzichtet werden musste.

Vergleich der Ausschlussgruppe mit der Untersuchungsgruppe

Bei Gegenüberstellung der Ausschluss- und Untersuchungsgruppe ergibt sich auf den ersten Blick eine weitgehende Übereinstimmung bei wichtigen Grunddaten. Bezüglich Geschlechtsverteilung, Antikörperkonstellation und Geburtsgewicht finden sich wie schon erwähnt nur geringe, nicht statistisch signifikante Unterschiede. Der Anteil der Patienten, die Transfusionen benötigten, sowohl intrauterine als auch postnatale, unterscheidet sich mit 35,5% in der Ausschlussgruppe gegenüber 81,7% in der Untersuchungsgruppe deutlich. Zusätzlich ist die Zahl der Transfusionen bei den Patienten, die überhaupt Transfusionen erhalten haben bei der Untersuchungsgruppe höher. Bei Vergleich der Medianwerte für erhaltene IUTs ergibt sich ein Verhältnis von 6 IUTs in der Untersuchungsgruppe gegenüber 3 IUTs in der Ausschlussgruppe. Bei den postnatalen Transfusionen ist das Verhältnis mit 2 PNTs gegenüber 1 PNT (Medianwerte) ähnlich. Demnach ist eine Selektionierung zu Gunsten der schwerer betroffenen Patienten anzunehmen, auch wenn beide verstorbenen Patienten mit sehr schwerem Verlauf ebenfalls zur Ausschlussgruppe gehören.

Eine Einschränkung der Aussagekraft ist dennoch nicht zu befürchten, da mit 15 Patienten ohne IUTs bzw. PNTs genügend Patienten mit vergleichsweise leichtem Verlauf in der Untersuchungsgruppe repräsentiert sind, um Risikofaktoren für die größere Gruppe der schwerer betroffenen Patienten aufdecken zu können. Möglicherweise wären die Ergebnisse bei längerer Nachuntersuchungsdauer der leichter betroffenen Kinder und somit deren Einbeziehung statistisch deutlicher zu erkennen. Dennoch sind verschiedene Trends, wenn auch zum Teil statistisch nicht signifikant, zu erkennen.

Untersuchungskollektiv

Um den hämatologischen Verlauf vor allem in Hinblick auf die Entwicklung einer Spätanämie zu beschreiben, wurden die Indikatoren „Tage bis zur letzten Transfusion“ und „Zeit in Tagen bis Retikulozyten $> 2\%$ “ gewählt. Bei der Analyse dieser Daten ergeben sich bezüglich der Zeit in Tagen unterschiedliche Größenordnungen für diese beiden Werte. Ebenso untersuchen beide Größen unterschiedliche Gruppen innerhalb des Untersuchungskollektivs. Die 66 Patienten, für die Daten für das Merkmal „Tage bis zur letzten Transfusion“ vorlagen, repräsentieren eine Patientengruppe, deren Spätanämie bereits transfusionspflichtig und somit als schwerer einzustufen ist. Für das Kriterium „Zeit in Tagen bis Retikulozyten $> 2\%$ “ gibt es keinen solchen Zusammenhang, auch Kinder ohne postnatale Transfusionen sind hierbei berücksichtigt. Dennoch korrelieren beide Indikatoren was den Verlauf der Spätanämie betrifft untereinander mit einem Koeffizienten von 0,8 hochgradig. Insofern zeigen beide Indikatoren bei unterschiedlichem Verlauf der Spätanämie gleichsinnige Veränderungen. Die absolute Höhe beider Werte muss jedoch auch aus pathophysiologischer Sicht unterschiedlich sein. Der Medianwert für alle Patienten mit dem Merkmal „Tage bis zur letzten Transfusion“ zeigt 37 Tage bis zum durchschnittlichen Ende der postnatalen Transfusionstherapie, was jedoch mit dem Ende der Spätanämie nicht direkt gleichzusetzen ist. Folgerichtig zeigt der Median für den Wert „Tage bis Retikulozyten $> 2\%$ “ mit 52 Tagen eine insgesamt durchschnittlich um 15 Tage längere eigentliche Krankheitsdauer an. Jedoch markiert auch dies nicht in jedem Fall sicher das Ende der Erkrankung, da die Möglichkeit einer Transfusionspflichtigkeit trotz eines Retikulozytenwertes größer als 2 % theoretisch weiter besteht und auch eine frühzeitige Beendigung der Betreuung durch die Bonner Ambulanz und Fortführung andernorts möglich ist.

Für einen Überblick über den hämatologischen Verlauf wurde ein Diagramm (siehe Abb.6) des Hb-Verlaufs erstellt.

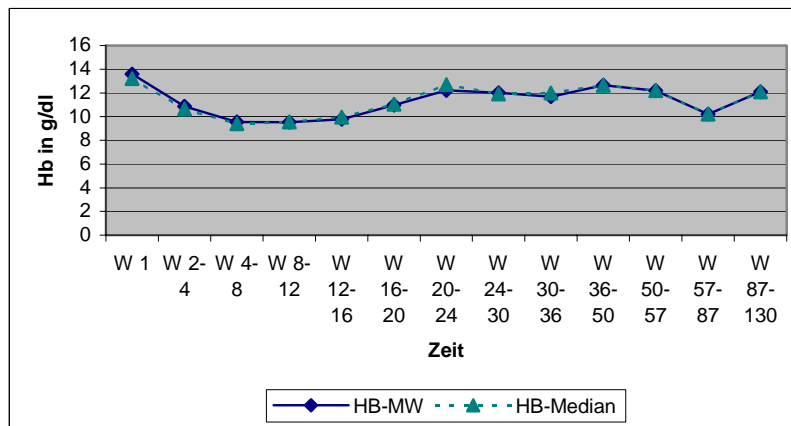


Abb. 6: Hb-Entwicklung über die Zeit in Wochen (W)

Dieses Diagramm zeigt auch, warum zur Beurteilung der Spätanämie nicht der sonst zur Beurteilung von Anämien verwendete Parameter des Hb-Wertes verwendet wurde. Die Kurve des Hb-Wertes zeigt einen weitgehend normalen Verlauf, insgesamt jedoch auf einem Niveau unterhalb der Norm. Der vorübergehende postnatale Abfall spiegelt den physiologischen Anpassungsprozess des Neugeborenen an das verbesserte postnatale Sauerstoffangebot wider. Dieser trotz tatsächlich vorliegender starker Krankheitsaktivität normale Kurvenverlauf kommt durch den Ausgleichseffekt der durch therapeutische Transfusionen erreichten hohen Hb-Werte zustande. Der ohne Therapie zu sehende Kurvenverlauf wird durch das lebensnotwendige Anheben des Hb-Wertes der Patienten durch die Transfusionen überlagert. Insofern ist aus dieser Kurve nur die bereits erfolgte suffiziente Therapie der betroffenen Patienten bei einer generell anämischen Grundsituation abzulesen. Einzig die unmittelbar vor jeder Transfusion erhobenen Hb-Werte lassen einen Rückschluss auf das Krankheitsgeschehen zu, dieser Parameter wurde dementsprechend untersucht.

Da der Retikulozytenwert den Krankheitsverlauf durch den Blick auf die Aktivität der Hämatopoese besser abbildet und gleichzeitig keine Verschleierung durch die Transfusionen stattfindet, zeigt die Kurve der Retikulozytenentwicklung folgerichtig den durchschnittlichen Verlauf der Anämie.

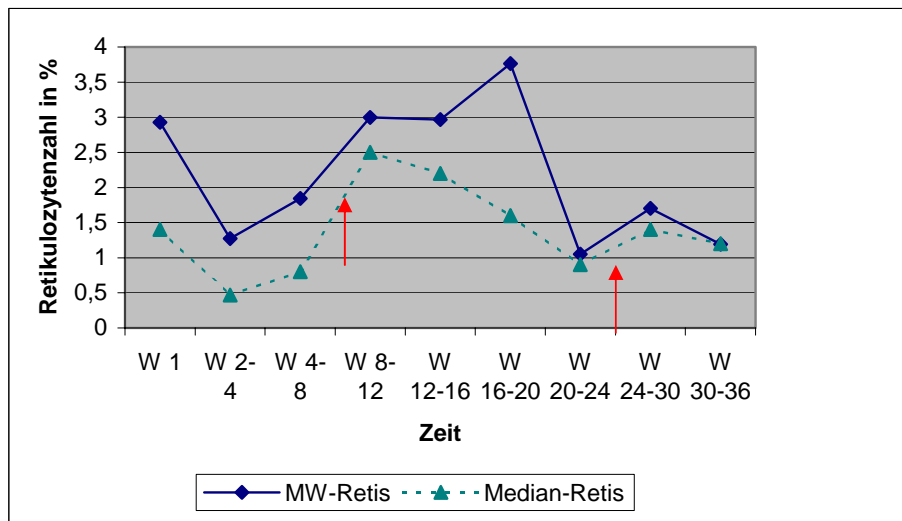


Abb. 7: Retikulozytenentwicklung über die Zeit in Wochen (W). Die Pfeile markieren den Retikulozytenanstieg bei den meisten Patienten (1. Pfeil) und bei den weniger schwerer betroffenen Kindern (2. Pfeil)

Eine Aussage lässt der Verlauf jedoch nur für den ersten Teil der Kurve zu. Der Wert für den Zeitraum „Woche 8-12“, in der ein deutlicher Anstieg des Retikulozytenwertes zu erkennen ist beinhaltet noch die Einzelwerte von 48 Patienten. Ebenso scheint dieser Wert sinnvoll, da der mittlere Zeitpunkt des Retikulozytenanstiegs (52 Tage) am Anfang dieser Periode steht. Die dem Anstieg vorangehende Phase der relativen Suppression entspricht der hypoproliferativen Aktivität des Knochenmarkes in der Genese der Spätanämie. Der auf den „Peak“ folgende langsame Abfall der Retikulozytenwerte könnte als Normalisierung der Werte nach Normalisierung des Hb-Wertes interpretiert werden. Bei genauer Betrachtung wird jedoch deutlich, dass in den tiefsten Wert, für die Woche 20-24, nur noch 6 Kinder einfließen. Auch wenn die zeitliche Verteilung der tatsächlich erhobenen Daten unregelmäßig war, so sinkt doch die Gesamtzahl hin zu den späteren Zeitpunkten. Insofern ist eher davon auszugehen, dass es zu den späteren Zeitpunkten zu einem Überwiegen der schwerer betroffenen Kinder gekommen ist, welche erst zu einem späteren Zeitpunkt einen Retikulozytenanstieg aufweisen. Daher ist der durchschnittliche hämatologische Krankheitsverlauf nur bis zu dem Zeitpunkt „Woche 8-12“ vergleichsweise störungsfrei abgebildet. Der erste „Peak“ (1. roter Pfeil) kann somit als Ende der Spätanämie bei den meisten Patienten interpretiert werden. Danach werden nur noch Patienten erfasst, die einen längeren

Verlauf der Spätanämie aufweisen, damit schwerer betroffen sind und erst später einen Anstieg des Retikulozytenwertes zeigen (2. roter Pfeil).

Zu den späteren Untersuchungszeitpunkten hin gehen weniger Werte in die Erfassung der Wachstumsparameter ein. Jedoch sind hierbei zum letzten Untersuchungszeitraum „Tag 140 – max. 420“ immer noch für 45,1% der Patienten (n = 37 Patienten) Werte dokumentiert. Zum ersten Zeitpunkt, der Geburt, beträgt dieser Prozentsatz 96,3% (n = 79 Patienten). Grundsätzlich fällt bei Betrachtung der Wachstumswerte kein pathologischer Verlauf auf, die Medianwerte der Perzentilenwerte sind bei Geburt 50. Perzentile, in den folgenden Zeiträumen sogar insgesamt mit einer medianen Perzentile von 62,5 über der 50. Perzentile. In der Gesamtbetrachtung ist somit für die betroffenen Kinder keine Wachstumsverzögerung zu erkennen. Um möglicherweise doch einen Einfluss der Schwere der Spätanämie zu erkennen, wurden die Verhältnisse der Kinder, was ihre Entwicklung betrifft, untereinander verglichen. Es bleibt jedoch zu konstatieren, dass, sollte ein Zusammenhang mit der Spätanämie zu erkennen sein, dieser dennoch insgesamt gesehen nicht zu einer signifikanten Verlangsamung der Gewichtszunahme der Kinder führt.

Korrelationen

Bei der Interpretation von Korrelationen muss beachtet werden, dass diese Art der Untersuchung nur eine gleich- oder gegensinnige Veränderung zweier Parameter darstellt. Wenn dies der Fall ist, müssen die beiden Parameter nicht zwangsläufig direkt miteinander in Beziehung stehen. Eine übergeordnete Korrelation über einen oder mehrere unbekannte Faktoren muss immer in die Überlegungen miteinbezogen werden. Bei einer Korrelation wird also immer ein Zusammenhang zwischen zwei Parametern und auf diese Parameter Einfluss nehmende Größen untersucht. Grundsätzlich besteht die Möglichkeit, diese Zusatzfaktoren aus der Analyse herauszurechnen, die Korrelation zu „bereinigen“. Dazu wird ein bestimmter Faktor virtuell konstant gehalten. In der vorliegenden Studie konnte dieses Verfahren jedoch nicht angewandt werden, da sehr viele und zum Teil auch unbekannte Faktoren in Frage kamen und ebenso viele Faktoren gleichzeitig prädiktive und einflussnehmende Faktoren darstellen konnten.

Ebenso muss beachtet werden, dass eine nicht vorliegende Korrelation keinesfalls zwangsläufig eine Unabhängigkeit der Variablen bedeutet. Das kann, muss aber nicht der Fall sein. Umgekehrt jedoch weisen alle unabhängigen Größen keine Korrelation auf.

Ein möglicher Kritikpunkt an der Verwendung des Korrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho ist, dass die ursprünglichen Daten durch Zuordnung von Rangplätzen ersetzt werden und somit Verzerrungen des Ergebnisses möglich sind, was in dem sonst üblichen Verfahren nach Pearson nicht stattfindet. Da jedoch zum Teil sehr unterschiedlich hohe Größen korreliert wurden und gleichzeitig nicht von einer Normalverteilung der zugrundeliegenden Werte auszugehen war, wurde die Verwendung des Verfahrens nach Spearman-Rho als sinnvoller erachtet.

Korrelation zwischen intrauterinen und postnatalen Transfusionen:

Ein direkter Zusammenhang zwischen der Zahl intrauteriner und postnataler Transfusionen erscheint aus pathophysiologischen Überlegungen heraus wahrscheinlich. In der Pathogenese der Spätanämie wird eine Suppression der Erythropoese durch wiederholte (intrauterine und postnatale) Transfusionen angenommen. Damit hätte eine größere Zahl intrauteriner Transfusionen durch einen längeren und schwereren Verlauf der Spätanämie indirekt die Notwendigkeit häufigerer therapeutischer Interventionen im Sinne von postnatalen Transfusionen zur Folge. Unabhängig von der evtl. durch die IUTs verursachten KM-Suppression ist ohnehin ein schwerer Krankheitsverlauf mit vielen IUTs und einer ausgeprägteren Anämie vergesellschaftet, u.a. aufgrund der verstärkten Hämolyse, der Frühgeburtlichkeit und der möglichen Thrombopenie mit Blutungen. Zusätzlich gehen in die Auswertung auch Kell-Ak-positive Patienten ein, bei denen neben einem oftmals besonders schweren Verlauf mit vielen IUTs auch eine direkte Suppression der erythropoetischen Vorläuferzellen durch die Antikörper zu beobachten ist (Vaughan et al. 1998) und damit viele postnatale Transfusionen nötig sind. Um diese Hypothese zu untersuchen, wurde eine Korrelation beider Größen untereinander durchgeführt.

Dabei ergab sich ein signifikanter, wenn auch mit einem Koeffizienten von 0,273 vergleichsweise „unscharfer“ positiver Zusammenhang zwischen den beiden Größen. Demnach benötigten Kinder mit mehr intrauterinen Transfusionen wie erwartet auch häufiger postnatale Transfusionen, jedoch bei einer starken Streuung der Werte.

Bei der Interpretation dieses Ergebnisses muss jedoch folgendes beachtet werden:

Beide Größen sind gleichsinnig abhängig von der Schwere der Erkrankung, insofern ist eine positive Korrelation auch ohne direkten Einfluss der Zahl der IUTs auf die Zahl der PNTs zu erwarten. Bei Nichtvorliegen einer Korrelation wäre jedoch ein direkter Zusammenhang sehr unwahrscheinlich, wenn auch nicht komplett auszuschließen.

Da es immer wieder Kinder gibt, die jedoch aus dem obengenannten Schema herausfallen, d.h., die trotz vieler IUTs keine komplette Suppression der Erythropoese aufweisen (ablesbar an hohen Werten für HbF, Retikulozyten und Erythroblasten bei Geburt), ist unter Umständen eine Abschwächung des Korrelationskoeffizienten durch diese Patienten denkbar.

Auch muss angefügt werden, dass bei dieser Untersuchung die Zahl der postnatalen Transfusionen als indirekter Indikator für den Verlauf der Spätanämie zu betrachten ist. Da diese Zahl jedoch, genauso wie die Zahl der intrauterinen Transfusionen, von der Art der zugrundegelegten Transfusionskriterien abhängt, ist sie als genaues Maß dafür nur bedingt brauchbar. In der vorliegenden Studie wurden der Entscheidung zur Transfusion immer sowohl hämatologische Parameter wie Hb-Wert und Retikulozytenwert, als auch klinische Symptome und Untersuchungsbefunde zugrundegelegt. Somit war diese Entscheidung immer auch untersucher- und patientenabhängig und bildet einen nur bedingt vergleichbaren Indikator.

Abschließend bleibt festzuhalten, dass ein direkter Einfluss der Zahl der IUTs auf die Zahl der PNTs weiterhin möglich und auch wahrscheinlich ist, eine definitive Verifikation dieser Hypothese durch die Art der beiden zu untersuchenden Größen jedoch nicht zweifelsfrei möglich ist.

Um eine verlässliche Vorhersage für die Zahl der zu erwartenden postnatalen Transfusionen auf Grundlage der Zahl der intrauterinen Transfusionen zu treffen, ist der beobachtete Zusammenhang zu unscharf. Somit ist in dieser Hinsicht eine prädiktive Aussagekraft nicht ausreichend begründet, auch wenn eine Tendenz zu erkennen ist.

Korrelation zwischen Spätanämie und Zahl intrauteriner Transfusionen

Derselbe pathophysiologische Hintergrund wie in der vorangegangenen Testung liegt der Untersuchung eines Zusammenhanges zwischen Verlauf der Spätanämie und Zahl der IUTs zugrunde. Genauso wie eine durch wiederholte IUTs verstärkte mögliche Knochenmarksuppression zu einer höheren Anzahl PNTs führen könnte, würde vor allem jedoch die Dauer der Spätanämie verlängert werden. Auch ist eine Antizipation des Verlaufs der Spätanämie aufgrund der Zahl der IUTs, auch ohne direkten Einfluss darauf, möglich. Diese

beiden Hypothesen wurden durch die Korrelation der beiden Marker für die Spätanämie, „Zeit in Tagen bis zur letzten Transfusion“ und „Zeit in Tagen bis Retikulozyten > 2%“, mit der Zahl der IUTs untersucht.

Es zeigt sich dabei ein mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,467 bzw. 0,540 geringer bzw. mittlerer Zusammenhang der beiden Größen, jeweils hochsignifikant.

Da eine Trennung der dem Zusammenhang zugrundeliegenden Ursachen durch die Art der Untersuchung nicht möglich ist, lässt sich ein direkter Einfluss der Zahl der Transfusionen auf den Verlauf der Spätanämie durch eine mögliche Knochenmarksuppression durch diese Untersuchung nicht beweisen, jedoch auch nicht ausschließen. Dass ein Zusammenhang dieser beiden Größen zu erkennen ist, war grundsätzlich zu erwarten, da ein insgesamt schwererer Krankheitsverlauf durch eine höhere hämolytische Aktivität sowohl die Zahl der IUTs, als auch die Dauer der Spätanämie beeinflusst.

Da weitere Einflussgrößen wie die Art des Antikörpers, die Zahl der postnatalen Transfusionen oder die Suppression des Knochenmarkes für die Dauer der Spätanämie mitbestimmend sind, ist der Anteil der Zahl der IUTs an diesem Zusammenhang nur grob zu beurteilen.

Die Möglichkeit einer Vorhersage des Verlaufs der Spätanämie aufgrund der Zahl der IUTs ist dem vorliegenden Ergebnis nach durchaus gegeben, die Präzision einer solchen Vorhersage ist bedingt durch die relative Unschärfe des Zusammenhanges jedoch nicht sehr hoch.

Korrelation zwischen Spätanämie und Zahl der postnatalen Transfusionen

Wie oben bereits erwähnt, handelt es sich bei dem Wert „Zahl der postnatalen Transfusionen“ ebenfalls um einen, wenn auch ungenauen und störungsanfälligen, Indikator für den Verlauf der Spätanämie. Daher war im Vorfeld ein recht hoher Korrelationskoeffizient für den Vergleich mit den beiden Indikatoren für den Verlauf der Spätanämie, „Zeit in Tagen bis zu letzten Transfusion“ und „Zeit in Tagen bis Retikulozyten > 2%“, zu erwarten. Zusätzlich ist auch für diesen Wert die Hypothese zu prüfen, ob wiederholte postnatale Transfusionen den Verlauf der Spätanämie durch eine potentielle Knochenmarkssuppression verlängern können.

Bei der Korrelation ergeben sich Koeffizienten von 0,633 und 0,533, also eine mittlere, positive Korrelation, in beiden Fällen hochsignifikant.

Somit zeigt sich zwar durchaus ein Zusammenhang, der jedoch nur eine vergleichsweise unscharfe Beziehung der beiden Größen wiedergibt. So zeigen die beiden verwendeten Indikatoren im Vergleich dazu eine mit einem Koeffizienten von 0,8 hohe Korrelation

untereinander. Gründe dafür sind zum einen die untersucherabhängige Indikationsstellung für die Durchführung von PNTs. Zum anderen kann der Wert „Zahl der postnatalen Transfusionen“ nur den Krankheitsverlauf der schwerer betroffenen Kinder abbilden, da die Entwicklung einer Spätanämie auch möglich ist, ohne dass die Patienten transfusionspflichtig werden. Somit rechtfertigt sich der Gebrauch der beiden gewählten Indikatoren ohne zusätzlichen Einsatz des Wertes „Zahl der PNTs“.

Ob die Zahl postnataler Transfusionen umgekehrt direkt einen Einfluss auf das Krankheitsgeschehen haben, lässt sich durch diese Untersuchung weder beweisen noch ausschließen. Da jedoch ein deutlicher Zusammenhang zu erkennen ist, erscheint diese Hypothese weiterhin möglich.

Als prädiktiver Wert für den Kliniker, um den zu erwartenden Verlauf der Spätanämie abzuschätzen ist dieser Parameter ungeeignet, da sich beide Größen, sowohl die Entwicklung der Spätanämie als auch die Zahl der PNTs, anders als zum Beispiel die Zahl der IUTs, im gleichen Zeitfenster entwickeln.

Korrelation zwischen Spätanämie und Summe der IUTs und PNTs

Der direkte Einfluss von Transfusionen auf den Verlauf der Spätanämie müsste umso deutlicher hervortreten, je öfter eine Transfusion durchgeführt wird, unabhängig davon ob intrauterin oder postnatal, da jedes Mal durch Anheben des Hb-Wertes die Sauerstoffversorgung des Gewebes verbessert wird und somit der entscheidende Stimulus zur Erythropoese verringert wird. Um diese Hypothese zu prüfen, wurde eine Korrelation der Dauer der Spätanämie mit der Summe der intrauterinen und postnatalen Transfusionen durchgeführt.

Das Ergebnis zeigt einen mit Koeffizienten von 0,612 bzw. 0,594 mittleren, hochsignifikanten Zusammenhang der beiden Größen.

Genauso wie bei den vorangegangenen Korrelationen ist dabei zu beachten, dass wiederum die Zahl der Transfusionen möglicherweise nur eine hohe Krankheitsaktivität anzeigt, ohne einen direkten Einfluss auf die Spätanämie auszuüben. Diese Möglichkeit kann, bedingt durch die Art der Untersuchung und den Stellenwert der Transfusionen innerhalb des Krankheitsgeschehens nicht ausgeschlossen werden. Dennoch erscheint ein direkter Zusammenhang in der Zusammenschau pathophysiologischer Überlungen mit den vorliegenden Ergebnissen als zumindest nicht unwahrscheinlich, auch wenn zur definitiven Verifikation dieser Hypothese

andere Untersuchungen nötig wären, evtl. unter Einbeziehung der Erythropoetin-Werte und zytologischer Knochenmarksuntersuchungen.

Korrelation zwischen Spätanämie und Zahl der Austauschtransfusionen

Nach den vorangegangenen Überlegungen wäre auf den ersten Blick ebenso wie bei den IUTs und PNTs auch für die Zahl der Austauschtransfusionen eine positive Korrelation mit dem Verlauf der Spätanämie zu erwarten. Zum einen zeigt die Notwendigkeit einer Austauschtransfusion eine hohe hämolytische Aktivität und somit ein schweres Krankheitsgeschehen an, zum anderen wird bei anämischen Kindern bei jeder AT auch der Hb-Wert angehoben, auch wenn die Indikationsstellung für eine AT nicht immer mit der Anämie in Zusammenhang steht. Daher müsste tendenziell, ebenso wie bei den „einfachen“ Transfusionen eine gewisse Suppression der Erythropoese mit einem konsekutiv verlängerten Verlauf der Spätanämie die Folge sein. Die Mehrzahl der Publikationen beschreibt keinen Zusammenhang der beiden Größen (Grannum 1988, Ebbesen 1979, Saade et al. 1993). Bei genauer Betrachtung der Daten von Saade et al. (1993) zeigt sich jedoch ein umgekehrtes Verhältnis, d.h., die Kinder, die keine PNTs benötigt hatten, hatten tendenziell mehr ATs. Diese Zahlen sind jedoch nicht signifikant. Al-Alaiyan (1999) beschreibt ein signifikant selteneres Auftreten einer Spätanämie bei Kindern mit AT als ohne AT. Dieses auf den ersten Blick paradoxe Ergebnis erklärt er mit einer Reduzierung des Hämolyseprozesses durch Eliminierung persistierender Anti-D Antikörper in der Zirkulation des Kindes. Ruckstuhl (1979) geht ebenfalls von einer durch persistierende Antikörper verursachten Spätanämie aus und untersuchte die Titerreduktion durch Austauschtransfusionen, die Untersuchung zeigte jedoch keine wesentliche Reduktion der Ak-Titer durch die Austauschtransfusionen. Zur Überprüfung eines Einflusses der AT auf den Verlauf der Spätanämie in unserem Kollektiv führten wir eine Korrelation zwischen Spätanämie und Zahl der ATs durch.

Als Ergebnis zeigte sich eine mit Koeffizienten von $-0,217$ bzw. $-0,170$ ein geringer negativer Zusammenhang der beiden Größen. Demnach war der Verlauf der Spätanämie bei den Patienten kürzer, die eine oder zwei ATs erhalten hatten als bei den Patienten ohne AT. In der ersten Korrelation war das Ergebnis mit $p=0,082$ nur knapp, in der zweiten Korrelation deutlich nicht signifikant.

Die fehlende Signifikanz der Testung resultiert aus der Tatsache, dass insgesamt nur fünf Patienten ATs erhalten hatten, zwei davon zwei ATs. Die geringe Anzahl der Patienten mit ATs

ist das Ergebnis modernen Konzepte in der Behandlung des MHFN. Dabei sind die ATs nur den schwersten, nicht anders zu beherrschenden Verläufen vorbehalten. Zudem ist die Indikationsstellung für ihre Durchführung ebenfalls hochgradig untersucherabhängig.

Trotz der fehlenden Signifikanz und des geringen Korrelationskoeffizienten ist die Tendenz des Ergebnisses bemerkenswert, da alle denkbaren übergeordneten Faktoren wie Schwere der Erkrankung und Knochenmarksuppression diese Tendenz umgekehrt beeinflussen müssten. Somit unterstützt das Ergebnis die Hypothese und Erkenntnisse von al-Alaiyan (1999), dass die Zahl der ATs einen verkürzenden Effekt auf den Verlauf der Spätanämie hat. Aus diesen leichten Tendenzen eine Empfehlung zur Erweiterung der Indikationsstellung für ATs abzuleiten, wäre jedoch übertrieben, da die Durchführung von ATs im Vergleich zur Therapie der Spätanämie mit deutlich höheren Risiken und Komplikationen verbunden ist (Peterec 1995, Ebbesen 1979). Demnach schwankt die Angabe der Letalität der AT-Prozedur zwischen 4,8% und 0,3 %. Gravierende Komplikationen wie schwere Bradykardie und reversibler Herzstillstand, sowie Hirnblutung und Sepsis werden in Einzelfällen beschrieben.

Korrelation zwischen Spätanämie und Hb-Werten vor Transfusion

Unzweifelhaft ist ein niedriger Hb-Wert mit einer konsekutiven Minderung der Sauerstoffversorgung der Gewebe einer der wichtigsten Stimuli der Erythropoese. Folglich liegt die Hypothese nahe, dass je höher dieser Stimulus für die einzelnen Patienten ist, die eigene Erythropoese umso früher wiederangeregt werden müsste. Aufgrund dieser Überlegung wurde die Möglichkeit untersucht, ob vergleichsweise tiefe Hb-Werte zu einer Verkürzung des Verlaufs der Spätanämie führen könnten. Zur Prüfung dieser Hypothese wurde zunächst versucht, für jeden Patienten den Wert in Tagen zu ermitteln, an denen sein Hb-Wert unter einem definierten Grenzwert, und zwar 10 mg/dl, gelegen hatte. Nach Erhalt von Transfusionen lag der Hb-Wert jeweils deutlich über diesem Grenzwert, was entsprechend zu einer großen Zeitspanne bis zur nächsten Kontrolluntersuchung führte. Damit konnte der genaue Zeitpunkt, an dem erneut ein Unterschreiten des Grenzwertes stattfand, retrospektiv nicht mit ausreichender Genauigkeit festgestellt werden. Als repräsentativer Wert, der in ausreichender Häufigkeit zu erheben war und der nicht durch eventuell vorangegangene Transfusionen beeinflusst wurde, war der jeweilige Hb-Wert vor den postnatalen Transfusionen erfassbar. Zusätzlich muss dieser Wert einen der niedrigsten im hämatologischen Krankheitsverlauf darstellen, da er die Grundlage zur Indikation für eine postnatale Transfusion darstellt. Folglich konnte auf diese Art nur der Einfluss der

Stimulation durch die Schwere der Anämie, nicht jedoch durch die Dauer derselben geprüft werden. Unter der Annahme, dass möglicherweise tiefe Hb-Werte vor Transfusion im Schnitt auch mit einer längeren Dauer niedrigerer Hb-Werte und dies wiederum mit einem vermehrten Stimulus zur Erythropoiese korreliert sind, was mit einer Verkürzung des Krankheitsgeschehens einhergehen könnte, wurde eine Korrelation der Spätanämie mit den Hb-Werten vor Transfusion durchgeführt. Aufgrund zum Teil hoher intraindividuelle Schwankungen wurde der jeweilige Medianwert der Untersuchung zugrundegelegt.

Die Werte bewegten sich dabei zwischen 3,8 mg/dl und 15,2 mg/dl mit einem Mittel von 7,6 mg/dl. Der sehr hohe Maximalwert von 15,2 mg/dl kam dadurch zustande, dass auch Austauschtransfusionen durch ihre Hb-Wert-Anhebung als postnatale Transfusion gewertet wurde, und bei der entsprechenden Patienten nur eine einzige (Austausch-)Transfusion durchgeführt wurde.

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Hb vor Transfusion (Median)	62	3,80	15,20	7,5621	1,8964
Gültige Werte (Listenweise)	62				

Tab. 40: Hb-Wert vor Transfusion

Als Ergebnis zeigte sich ein mit Koeffizienten von $-0,286$ bzw. $-0,371$ geringer negativer, signifikanter Zusammenhang.

Demnach war der Verlauf der Spätanämie länger bei den Patienten, die jeweils einen niedrigeren Hb-Wert vor Transfusionen aufgewiesen hatten, auch wenn der Zusammenhang sehr unscharf ist. Eine Verkürzung der Krankheitsdauer durch hohe Stimulation ist also in dieser Untersuchung nicht festzustellen. Im Gegenteil ergibt sich ein, wenn auch nur geringer, negativer Zusammenhang der beiden Größen. Neben der Tatsache, dass der untersuchte Parameter durch Einfluss des jeweiligen Untersuchers, der ja die Indikation zur Transfusion stellt, beeinflusst wird, sind noch weitere Gründe als Ursache dieses Ergebnisses denkbar. Da insgesamt schwerer betroffene Kinder eine höhere hämolytische Aktivität aufweisen, können sie somit schneller einen größeren Hb-Abfall erfahren. Dies kann zu insgesamt niedrigeren Hb-Werten vor den

Transfusionen führen, da die Kinder bei sehr schnell aufgetretenen sehr niedrigen Werten zur Untersuchung erscheinen. Danach wäre dieser Wert auf gewisse Weise ein Indikator für die Schwere der Erkrankung, genauso wie der Verlauf der Spätanämie und muss folglich negativ mit diesem korrelieren (negativ, da hohe Hb-Werte eine kurze Dauer der Spätanämie bedeuten würde). Folglich erscheint es auch wahrscheinlich, dass das Kriterium „Hb-Wert vor Transfusion“ das möglicherweise bessere Kriterium „Tage mit Hb < 10 mg/dl“ nicht adäquat ersetzen kann. Pathophysiologisch wäre das Fehlen des eingangs postulierten Effektes durch eine verminderte Fähigkeit des erkrankten Organismus, auf den hohen Stimulus adäquat zu reagieren, erklärbar. Diese verminderte Reaktion wird in der Literatur zum einen einer antikörpervermittelten Zerstörung von intramedullären Vorläuferzellen (Giblett et al 1956) und zum anderen einer inadäquaten Erythropoetin-Antwort auf den Stimulus (Koenig et al. 1989) zugeschrieben.

Dieser Punkt hat klinische Relevanz. Bisher ging man davon aus, dass es günstig ist, die Kinder auf ein niedriges Niveau abfallen zu lassen, um eine Stimulation der Erythropoese zu erreichen. Dies ist unter Umständen mit einer vermehrten Belastung für Eltern und behandelnde Ärzte verbunden. Bei grenzwertig niedrigen Hb-Werten (in der Regel zwischen 7 und 8 mg/dl) müssen Eltern vermehrt in die Beobachtung der Kinder eingebunden werden, um eine hämodynamisch wirksame Anämie rechtzeitig aufzudecken, was unter Umständen mit Ängsten und Überforderung seitens der Eltern verbunden ist. Auch sind häufigere Kontrolluntersuchungen nötig. Eine frühere Intervention mittels Transfusion ist daher bei Fehlen eines Effektes auf die Dauer der Spätanämie zu diskutieren. Weitere und umfangreichere Untersuchungen zu diesem Thema, ggf. mit Knochenmarkuntersuchungen, wären zur Klärung dieser Frage jedoch sicher vonnöten.

Gruppenvergleichen

Bei den folgenden Untersuchungen wurde aus mehreren Gründen das statistische Verfahren von den Korrelationen zu Gruppenvergleichen geändert. So kann zum Beispiel eine nominale Größe wie „Art des Antikörpers“ nicht mit einer metrischen Größe wie „Zeit in Tagen bis ...“ korreliert werden, da sich die nominale Größe nicht abhängig verändern kann, sie ist für den jeweiligen Patienten fest definiert. Es ist jedoch sehr gut möglich, die zu untersuchenden Mittelwerte für die Patienten mit dem Merkmal X mit den Mittelwerten der Patienten mit dem Merkmal Y auf

Unterschiede zu prüfen. Bei den grundsätzlich zwar metrischen, oder zumindest ordinalen Größen „Thrombozytenzahl“ und „Anteil fetalen Hbs“ wurde dieses Verfahren angewendet, da in beiden Fällen eine große Variabilität der Werte in einem nicht relevanten, weil „normalen“ Bereich eine korrelative Aussage nicht zulassen würde. So ist bei Thrombozytenzahlen zwischen 200.000 und 600.000/ml nicht von einer Abhängigkeit dieser Größe vom Krankheitsgeschehen auszugehen. Erst ab einer Zahl von $<150.000/\text{ml}$ liegt eine Thrombozytopenie vor, und damit ein pathophysiologisch relevanter Befund. Also muss auch in diesem Fall die ursprünglich metrische Größe „Thrombozytenzahl“ zu dem nominalen Merkmal „Thrombozytopenie ja oder nein“ umgewandelt werden und kann dann statistisch verglichen werden.

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Art der/des pathogenen Antikörper

In der Literatur besteht weitgehend Konsens darüber, dass weniger die Höhe des maternalen Antikörpertiters als vielmehr die Art des pathogenen Antikörpers für den Krankheitsverlauf von Bedeutung ist. Unter anderem spielt hierbei eine Rolle, dass die Höhe des gemessenen Antikörpertiters maßgeblich auch von dem jeweils untersuchenden Labor abhängig ist. Auch wenn bei einem Titer von $<1:8$ bzw. 15 IU/mL von einem milden Verlauf auszugehen ist (Moise 2002), ist bei höheren Titern oft keine Korrelation zwischen Antikörpertiter und hämolytischer Aktivität zu beobachten (Greenough 1999). Lozinska (1978) berichtet über Zwillinge mit sehr unterschiedlich schwerem Krankheitsverlauf und schließt daraus entweder auf das Vorliegen individuell unterschiedlicher fetaler Widerstandskapazitäten gegenüber mütterlichen Antikörpern oder auf Unterschiede in der transplazentaren Passage der Antikörper, sogar in ein und derselben Schwangerschaft. Die durch den Rückgang des Anteils an Anti-D relativ zunehmende Zahl an anderen irregulären Antikörpern scheint für den hohen Anteil vergleichsweise schwerer Krankheitsverläufe verantwortlich zu sein. Innerhalb dieser Gruppe ist vor allem das Merkmal Anti-Kell zu nennen (K1 und K2 sind in der vorliegenden Studie nicht getrennt beobachtet). Narrang et al. (2001) beschreiben das häufige Vorkommen dieses Antikörpers bei Patienten, die multiple Transfusionen benötigt hatten und bei denen ein schnelles Voranschreiten der Hämolyse zu beobachten war. Als Erklärung dafür beschreibt Moise (2000) die Fähigkeit dieses Antikörpers, die fetale erythropoetische Antwort zu unterdrücken. Im Gegensatz zu Anti-D-Antikörpern binden diese Antikörper auch Stammzellen direkt (Vaughan et al. 1998).

Um diese Beobachtungen in unserem Kollektiv zu überprüfen, wurden zuerst sechs Gruppen aufgrund ihrer Antikörperkonstellation gebildet und untereinander verglichen. Dabei zeigte sich

bei dem Merkmal Anti-Kell eine für den ersten Marker, die Dauer bis zur letzten Transfusion, ca. 8 Tage, für den zweiten Marker, den Retikulozytenanstieg sogar ca. 26 Tage länger dauernde Krankheitsdauer. Diese Gruppe bestand jedoch nur aus 3 bzw. 1 Patienten gegenüber zum Beispiel 37 Patienten mit dem Merkmal Anti-D. Daher war dieser Unterschied im statistischen Gruppenvergleich nicht signifikant. Die übrigen Gruppen unterschieden sich in der Testung wie in Tab.23 zu sehen nur gering voneinander. Um die in der ersten Testung zu erkennenden Tendenzen möglicherweise deutlicher hervortreten zu lassen, wurde ein weiterer Test durchgeführt. Hierbei wurde die Gesamtzahl der Kinder mit dem Merkmal „Kell-Antikörper vorhanden“ mit der Gruppe ohne anti-Kell Nachweis verglichen. Durch die Einbeziehung der Kinder mit dem Nachweis von multiplen Antikörpern konnte die Gruppe der Kinder mit anti-Kell auf 6 bzw. 5 vergrößert werden, gegenüber 51 bzw. 45 ohne dieses Merkmal. In der Testung ergab sich eine mittlere Krankheitsdauer (entsprechend dem jeweiligen Indikator) von 49 bzw. 66 Tagen in der Gruppe der Kell-positiven Kinder gegenüber 37 bzw. 56 Tage in der Gruppe der Kell-negativen Patienten, also ein 12 bzw. 10 Tage längerer Verlauf. Durch die immer noch sehr unterschiedlichen Gruppengrößen ist dieses Ergebnis jedoch ebenfalls nicht signifikant.

Insgesamt ist jedoch eine deutliche Tendenz zu erkennen, die die Ergebnisse in der Literatur insofern unterstützt, dass auch in unserem Kollektiv eine längere Dauer der Spätanämie in der Gruppe der Kell-positiven Patienten zu erkennen ist, was übergeordnet einem schwereren Krankheitsverlauf entspricht. Das immer noch seltene Vorkommen dieser Antikörperkonstellation erschwert die Durchführung weiterer Untersuchungen zu diesem Thema. Die Schlussfolgerung der Empfehlung zu einer besonders sorgfältigen und lückenlosen Beobachtung für Kinder mit Kell-Antikörpernachweis ist jedoch aus den vorhandenen Ergebnissen, sowohl unserer Studie als auch anderer Publikationen, durchaus zu rechtfertigen.

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Thrombozytenzahl bei Geburt

In der Literatur wird über das gemeinsame Auftreten von schweren Verläufen eines MHN mit Thrombozytopenien und Blutungen berichtet (Peterec 1995, Ekert et al. 1967). Neben anderen das Krankheitsgeschehen begleitenden Faktoren wie perinatale Infektionen und Frühgeburtslichkeit kommen noch andere Faktoren als Ursache in Betracht. So ist eine antikörperinduzierte Zerstörung hämatologischer Vorläuferzellen im Knochenmark denkbar, auch eine mögliche Herunterregulierung von megakaryozytären Wachstumsfaktorrezeptoren durch hohe Erythropoetinspiegel wird als Option erwähnt (Christensen et al. 1991). Wagner (2000)

beschreibt eine Verdrängung anderer Vorläuferzellen durch eine massiv gesteigerte Erythropoese sowie einen direkten Einfluss von Kell-Antikörpern auf Thrombozyten. Ohne den pathophysiologischen Hintergrund dieser Beobachtung klären zu wollen, wurde in der vorliegenden Studie untersucht, ob sich aus der Thrombozytenzahl bei Geburt möglicherweise ein Hinweis für den weiteren Verlauf der Spätanämie erkennen lässt, unter der Annahme, dass ein niedriger Thrombozytenwert eine hohe Krankheitsaktivität anzeigt mit der Folge einer verlängerten Phase der Spätanämie. Ein derartiger Zusammenhang war nur für die Gruppe zu erwarten, die eine pathologisch verminderte Thrombozytenzahl aufwies. Primär wurde also der Grenzwert von <100.000 definiert. Die Gruppengröße erwies sich jedoch als zu klein. Bei Festlegung des Grenzwertes auf 150.000 konnte eine Gruppe von 14 Patienten mit Thrombozytopenie für den Marker „Dauer in Tagen bis zur letzten Transfusion“ bzw. 10 für den Marker „Zeit bis Retikulozyten $> 2\%$ “ mit Werten unter 150.000 mit einer Gruppe von 52 Kindern für den ersten Marker bzw. 46 Kindern für den zweiten Marker mit Werten über dem Grenzwert verglichen werden.

Im Ergebnis zeigte sich eine für beide Indikatoren ca. um 7 Tage verlängerte Krankheitsdauer der thrombozytopenischen Patienten. Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte jedoch erneut aufgrund der unterschiedlichen Gruppengrößen nicht gezeigt werden.

Eine Überschneidung mit dem vorherigen Punkt ist für Patienten mit Nachweis von Kell-AK nicht auszuschließen, da Kell-Antikörper durch die direkte Suppression der Stammzellen auch die Thrombozytenzahl beeinflussen kann (Wagner 2000).

Dennoch lässt sich die Tendenz festhalten, dass Kinder mit verminderter Thrombozytenzahl bei Geburt einen längeren Verlauf der Spätanämie durchlaufen. Insofern kann dieser Wert durchaus einen tendenziellen prädiktiven Wert für den Kliniker besitzen, auch wenn exakte Aussagen über den Verlauf auf Grundlage dieses Parameters natürlich nicht möglich sind.

Zusammenhang zwischen Spätanämie und Anteil fetalen Hämoglobins bei Geburt

Nach bisherigen Erkenntnissen ist der Grad der fetalen Knochenmarksuppression durch intrauterine Transfusionen ein entscheidender Faktor in der Genese der hypoproliferativen Spätanämie. So zeigte Saade et al. (1993) einen signifikant schwereren Verlauf der Spätanämie bei Kindern mit einem höheren Anteil adulter und damit transfundierter Erythrozyten bei Geburt. Als aussagekräftiger Indikator für den Grad der Knochenmarksuppression ist der Anteil fetalen Hämoglobins (HbF) in der kindlichen Zirkulation anzusehen. Der unbeeinträchtigte fetale

Organismus produziert bis zur Geburt überwiegend fetales Hämoglobin, um durch dessen höhere Sauerstoffaffinität einen plazentaren Sauerstoffaustausch zwischen kindlichem und mütterlichem Hämoglobin zu erleichtern. Der Normwert liegt bei Geburt bei 50-80% Anteil HbF (Klaus 1986). Ein niedrigerer Anteil bei nicht transfundierten Kindern lässt auf eine gestörte Hämatopoiese schließen. Die Anzahl der intrauterinen Transfusionen hat einen direkten Einfluss auf diesen Anteil durch Austausch der Erythrozyten. Zudem erwartet man durch die gewünschte Suppression der fetalen Erythropoese einen Rückgang des HbF auf <5% nach wiederholten IUTs. Kommt es jedoch trotz vieler IUTs nicht zu einer Suppression des KM, ist der Anteil des HbF bei Geburt noch über diesen Wert „erhöht“, in der Regel > 20%. Die pathophysiologischen Vorgänge, warum es bei manchen Patienten nicht zu einer Suppression des KM kommt, sind bisher nicht bekannt.

Hypothetisch müsste also ein Zusammenhang zwischen dem Anteil an HbF und dem Verlauf der Spätanämie zu erkennen sein, da beide Größen von dem Grad der Knochenmarksuppression abhängig sind. Um diese These zu überprüfen, wurden drei Patientengruppen gebildet, die jeweils einen unterschiedlichen HbF-Anteil bei Geburt zeigten. Die Bereiche wurden folgendermaßen festgelegt: HbF < 5%, HbF \geq 5% < 20%, HbF \geq 20%. Insgesamt wurde für 42 Patienten für den ersten Marker „Tage bis zur letzten Transfusion“ bzw. 34 Patienten für den zweiten Marker „Tage bis Retikulozyten > 2%“ dieser Wert erfasst. In der Analyse zeigte sich für beide Indikatoren eine mit abnehmendem HbF-Anteil zunehmend prolongierte Spätanämie. Die durchschnittliche Dauer nahm von ca. 25 bei dem ersten Marker bzw. 44 Tagen bei dem zweiten Marker auf 45 bei dem ersten bzw. 70 Tage bei dem zweiten Marker zu. In der folgenden statistischen Überprüfung erwiesen sich diese Unterschiede als signifikant ($p = 0,038$ für den ersten Marker „Tage bis zur letzten Transfusion“, $p = 0,050$ für den zweiten Marker „Tage bis Retikulozyten > 2%“).

Bezogen auf das untersuchte Kollektiv und den Marker „Tage bis Retikulozyten > 2%“ als Ende der Spätanämie wäre somit für Kinder mit einem HbF bei Geburt zwischen 5 und 20 % eine ca. 9 Tage längernde Dauer der Spätanämie zu erwarten, für Kinder mit einem HbF <5% sogar mit einer 26 Tage längeren Anämiephase als bei Kindern mit einem HbF bei Geburt > 20%. In die Überlegungen mit einbezogen werden muss, dass in die Gruppe mit einem HbF > 20% die Patienten eingehen, die keine IUTs erhalten haben.

Das Ergebnis steht im Einklang mit den vorher formulierten Überlegungen. Somit kann daraus abgeleitet werden, dass einerseits die Suppression der Erythropoese eine Rolle in der

Entwicklung der Spätanämie spielt und andererseits der HbF-Anteil bei Geburt eine fundierte Aussage über den zu erwartenden Verlauf der hyporegenerativen Spätanämie zulässt. Bei Kindern mit einem HbF-Anteil von $< 5\%$ bei Geburt ist von einem deutlich prolongierten Verlauf der Spätanämie auszugehen, was eine intensive und engmaschige postnatale Nachbehandlungsphase erfordert.

Wachstumsuntersuchungen

Es existiert eine Vielzahl von Publikationen zur Untersuchung des Langzeitverlaufs bei Kindern mit MHN. Sehr viele dieser Studien befassen sich mit der Wirksamkeit neuer und verbesserter Therapieformen wie intrauterine Transfusionen, Austauschtransfusionen, EPO-Therapie und deren Auswirkung auf die körperliche und neurologische Entwicklung der Kinder. Nachdem in den Zeiten vor Existieren dieser Therapieformen noch häufig neuropsychologische Störungen wie Hörstörungen und statomotorische Retardierung zu beobachten waren, konnte nach Einführen der neuen Therapieformen und daraus folgender besserer Kontrolle des Hydrops und der Hyperbilirubinämie bei ca. 90 % - 100 % der betroffenen Kinder eine normale Entwicklung erreicht werden (Doyle et al. 1993, Stewart et al. 1994, Janssens et al. 1997, Hudon et al. 1998, Grab et al. 1999, Wahl 2001). In dem von uns untersuchten Kollektiv fanden sich bei insgesamt 21 dokumentierten Entwicklungstests in fünf Fällen (entspricht 6,1% des gesamten Untersuchungskollektivs) auffällige Befunde. Eine kausale Rückführung dieser Befunde auf den Verlauf des MHN muss jedoch nur in einem Fall als wahrscheinlich angesehen werden, in einem weiteren Fall ist ein indirekter Zusammenhang anzunehmen. Im ersten Fall konnte ein postnatales Ansteigen des Bilirubinwertes auf ein Maximum von 30,1 mg/dl trotz zweimaliger Austauschtransfusion nicht vermieden werden. Die im späteren Entwicklungstest nachgewiesene beidseitige Taubheit ist als Folge eines Kernikterus anzusehen. Im zweiten Fall entwickelten sich postnatal multiple Komplikationen, unter anderem eine perinatale Infektion und eine intrakranielle Hämorrhagie Grad II. Im späteren Entwicklungstest zeigten sich, vermutlich als Folge der perinatalen Hirnblutung schwere psychische Verhaltensauffälligkeiten. Dieser Verlauf ist nur indirekt mit dem MHN in Verbindung zu sehen. In drei weiteren Fällen wurden leichte statomotorische Retardierungen beschrieben, wobei in einem Fall eine perinatale CMV Infektion nachgewiesen wurde und ansonsten keine weiteren Risikofaktoren auffielen. Da bei diesen

Kindern kein besonders auffälliger Verlauf des MHN zu beobachten war, ist in diesen Fällen ein Zusammenhang zum MHN eher unwahrscheinlich, letztlich jedoch auch nicht komplett auszuschließen.

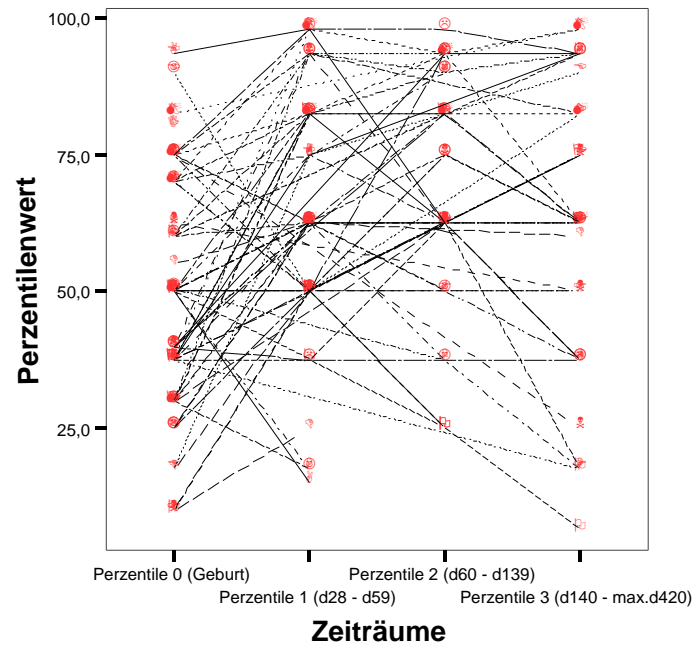
Weniger umfassend als die vorwiegend durch die neurotoxische Wirkung der Hyperbilirubinämie verursachten neurologischen Störungen wurden in einigen Publikationen eventuelle Auswirkungen der Erkrankung auf das Wachstum untersucht. In keiner Studie wurden hierzu signifikante Verzögerungen in der körperlichen Entwicklung gezeigt. Eine Beeinträchtigung der normalen Entwicklungsgeschwindigkeit durch die große Belastung einer lange persistierenden relativen Hypoxämie, bedingt durch die Spätanämie, erscheint jedoch trotzdem nicht unwahrscheinlich. Die in der großen Dynamik der postnatalen Entwicklungsphase begründete extreme Variationsbreite der Wachstumsparameter macht eine konkrete Zuordnung einzelner auffallend niedriger Werte zu einem pathologischen Geschehen schwierig bis unmöglich. Um trotzdem einen möglichen Zusammenhang erkennen zu können, wurde zur Untersuchung der Hypothese erneut das statistische Mittel der Korrelation gewählt. Dadurch lag der Schwerpunkt der Untersuchung nicht auf der Entdeckung pathologischer Wachstumsverzögerungen, sondern nur auf der Aufdeckung eines grundlegenden Zusammenhanges, ohne dass die einzelnen Werte pathologisch verändert sein müssen. Das Vorkommen pathologischer Werte war nach der Literatur nicht zu erwarten, es wurden auch in unserer Studie in der Gesamtanalyse keine pathologisch wachstumsverzögerten Kinder, bezogen auf das Gewicht, beobachtet. In vier, zwei und einem Fall (in den verschiedenen Entwicklungszeiträumen) wurden nur relativ zu schwere (Perzentile <97.) Patienten gesehen. Unter der Annahme, trotz grundlegend weitgehend normaler Gewichtsparameter möglicherweise einen Trend zu erkennen, wurden die definierten Indikatoren für die Spätanämie jeweils mit den durchschnittlichen Perzentilenwerten (in absoluten Zahlen) zu den vier Untersuchungszeiträumen korreliert.

Als Ergebnis zeigte sich ein zum Zeitpunkt der Geburt schwach positiver Zusammenhang mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,246 für den ersten Marker bzw. 0,101 für den zweiten Marker zwischen Gewicht und Dauer der Spätanämie. Demnach waren die stärker von der Anämie betroffenen Kinder zu diesem Zeitpunkt noch relativ zu der Gesamtzahl der Kinder schwerer. Eine Umkehrung dieses Verhältnisses über die Zeit konnte bei Analyse der späteren Zeiträume erkannt werden. So ergibt sich für den letzten Zeitraum ein geringer negativer Zusammenhang mit Korrelationskoeffizienten von -0,345 bzw. -0,105, d.h., die Kinder mit waren in diesem Zeitraum umso leichter, je länger die Spätanämie bei ihnen andauerte.

Bei der Interpretation dieses Ergebnisses müssen folgende Einschränkungen beachtet werden: Eine wirklich verwertbare Aussagekraft haben nur zwei Werte des ersten Indikators. Auch wenn für den zweiten Indikator eine ähnlich Tendenz zu erkennen ist, sind die Ergebnisse zu deutlich nicht signifikant bei p-Werten zwischen 0,202 und 0,595. Auch die zwei Werte der zwei mittleren Zeiträume (d 28 – d 59, d 60 – d 139) zeigen zum einen mit Koeffizienten von 0,088 und -0,110 so gut wie keinen Zusammenhang an, zum anderen sind sie ebenfalls nicht signifikant ($p = 0,571$ bzw. $0,570$). Die einzigen beiden Werte, die eine Aussage über einen Trend zulassen sind die Korrelationen des ersten Indikators „Tage bis zur letzten Transfusion“ mit den Perzentilenwerten zum Zeitpunkt der Geburt und für den letzten Zeitraum „d 140 – max. d 420“. Beide zeigen zwar geringe, jedoch durchaus sichtbare Zusammenhänge der beiden Größen mit Korrelationskoeffizienten von 0,246 und -0,345. In beiden Fällen sind die Ergebnisse nur knapp nicht mehr signifikant ($p = 0,052$ bzw. $0,053$). Bemerkenswert an den Ergebnissen dieser beiden Korrelationen ist die Gegenläufigkeit der gezeigten Beziehung. Warum die Kinder mit schwererem Verlauf der Spätanämie zum Zeitpunkt der Geburt im Vergleich noch höhere Perzentilenwerte aufweisen, erscheint auf den ersten Blick schwer erklärbar. Es ist dabei jedoch zu berücksichtigen, dass zu diesem Zeitpunkt das Gewicht in erster Linie intrauterine Einflußfaktoren mitabbildet (z.B. pränataler Verlauf des MHFN, Hydrops, intrauterine Mangelversorgung etc.). Ebenso ist das Phänomen bekannt, dass Neugeborene von Müttern mit schlecht eingestelltem Diabetes mellitus oft hypertroph sind, sie teilweise jedoch eine noch verzögerte Organentwicklung aufweisen und sie sich insgesamt ihren Entwicklungsstand betreffend unterhalb der Norm befinden. Da auch bei Kindern mit MHFN über eine Hyperinsulinämie bei einer durch Hämolyseprodukte ausgelösten Hyperplasie der Inselzellen des Pankreas berichtet wird (Steinke et al. 1967), ist ein derartiger Zusammenhang auch für das Untersuchungskollektiv nicht auszuschließen. Erst die postnatalen Werte für Wachstum und Gewichtszunahme lassen Schlüsse bzgl. der Entwicklung des Kindes unter der Spätanämie zu. Der zweite Wert, die negative Korrelation zum letzten Zeitraum, könnte demnach eine Auswirkung des Verlaufs der Spätanämie auf das Wachstum zeigen. Dafür spricht die zunehmende Deutlichkeit dieses Zusammenhanges über die Zeit. Mit fortschreitender Dauer der Anämie nimmt die Schärfe dieser Korrelation zu, genauso wie der Einfluss der Anämie auf die Entwicklung mit längerer Dauer stärkere Effekte hervorrufen müsste. Der beobachtete Zusammenhang ist jedoch mit einem Koeffizienten von -0,345 gering. Außerdem bewegen sich alle Kinder im Normwertbereich, was stärkere Beeinträchtigungen des Wachstums

unwahrscheinlich macht. Dennoch ist eine tatsächlich vorhandene Beeinträchtigung anzunehmen, da in der hochdynamischen postnatalen Entwicklungsphase Faktoren wie eine andauernde oder rezidivierende Hypoxämie durch eine Anämie sehr wahrscheinlich relevante Störungen wie eine Verzögerung der Gewichtszunahme, z.B. durch reduzierte Trinkmengen bei hämodynamisch relevanter Anämie nach sich ziehen können. Insgesamt kann jedoch nach dieser Untersuchung von nur leichten Beeinträchtigungen ausgegangen werden.

Gewichtsentwicklung (Einzelfallverlauf)



nummer															
2	11	19	30	43	55	63	72	3	12	20	32	44	56	64	73
4	13	21	33	45	57	66	74	5	14	23	35	46	58	67	76
7	15	24	36	47	59	68	8	16	26	39	48	60	69		
9	17	27	41	53	61	70	10	18	28	42	54	62	71		

Punkte/Linien zeigen Mittelwerte

Abb. 8: Gewichtsentwicklung aller Kinder im Einzelfallverlauf. Zur Wahrung des Datenschutzes wurden die Namen der Kinder durch Nummern ersetzt. Nicht bei allen Kindern wurden Perzentilenwerte erhoben, daher ist die Nummerierung nicht fortlaufend.

Klinische Relevanz der erhobenen Daten

Ziel der vorliegenden Studie war es, dem behandelnden Arzt Hilfestellung bei Planung und Durchführung der Therapie und Beobachtung der Spätanämie bei Kindern mit MHFN an die Hand zu geben. Es gelang Parameter für den jeweils behandelnden Arzt zu identifizieren, die zu einer Anpassung der Beobachtungs- und Behandlungsstrategie führen können.

Im Folgenden werden anhand eines exemplarischen Krankheitsverlaufs eines der Patienten aus dem Untersuchungskollektiv die wesentlichen, relevanten Daten und die resultierenden Überlegungen dargestellt. Dieser Einzelfallverlauf hat aus statistischer Sicht keinerlei Aussagekraft und dient lediglich der Veranschaulichung der bei der statistischen Auswertung des gesamten Untersuchungskollektivs gewonnenen Ergebnisse.

Folgende Grunddaten wurden erhoben:

Gestationsalter 37 + 1 SSW, Geburtsgewicht 3300g entsprechend 70. Perzentile. Pränataler Antikörpernachweis von Anti-D und Anti-C. 7 intrauterine Transfusionen.

HbF-Anteil bei Geburt 0,17%, Thrombozytenzahl bei Geburt 163.000, am 3.LT 109.000/ μ l. Keine Zeichen einer perinatalen Infektion. Nur moderater Bilirubinanstieg auf max. 3,49 mg/dl, keine Austauschtransfusionen nötig.

Es wurde damit ein Patient ausgewählt, dessen Krankheitsverlauf insgesamt als schwer einzustufen ist. Nach oben beschriebenen Ausführungen sind folgende Risikofaktoren für einen prolongierten Verlauf der Spätanämie identifizierbar: hohe Zahl an IUT (n=7), stark verminderter HbF-Anteil (0,17%). Relative niedrige Thrombozytenzahl (163.000/ μ l) bei Geburt. Am 29. und 53. Lebenstag wurde jeweils eine postnatale Transfusion durchgeführt bei Hb-Werten von 6,5 bzw. 7,5 g/dl. Ein Retikulozytenwert > 2% wurde erstmals am 107. Lebenstag mit 3,2% gemessen.

Im Vergleich zum Durchschnitt des Untersuchungskollektivs war damit die Phase der Spätanämie folglich deutlich prolongiert. Der Durchschnittswert für die letzte postnatale Transfusion von 37 Tagen (Median) bei dem Untersuchungskollektiv wurde mit 53 Tagen bei dem betroffenen Patienten um 16 Tage, der Durchschnittswert von 52 Tagen (Median) für den Anstieg des Retikulozytenwertes über 2% mit 107 Tagen sogar um 55 Tage überschritten.

Mit Bezug auf die aus der vorliegenden Studie gewonnenen statistischen Ergebnisse könnte ein bevorstehender schwererer bzw. längerer Verlauf der Spätanämie bereits bei Geburt und im weiteren Verlauf antizipiert werden. Die mit 7 IUT vergleichsweise hohe Zahl an intrauterinen

Transfusionen in Verbindung mit dem stark verminderten HbF-Anteil von 0,17% lassen ebenso wie die relativ niedrige Thrombozytenzahl eine starke Suppression des Knochenmarkes vermuten und sind nach den vorliegenden Ergebnissen mit einer signifikanten Verlängerung der Spätanämie vergesellschaftet. Eine zusätzliche Tendenz in dieser Richtung lässt sich aus dem Fehlen von Austauschtransfusionen ableiten. Die Antikörperkonstellation von Anti-D und Anti-C lässt keine weiteren eindeutigen Rückschlüsse zu. Nur bei Vorliegen von Anti-Kell-AK wäre von einer zusätzlichen Verlängerung auszugehen.

Der behandelnde Kliniker könnte also seine Beobachtungs- und Behandlungsstrategie und die Information der Eltern auf den zu erwartenden langen Verlauf ausrichten.

Im weiteren Verlauf wurden die zwei postnatalen Transfusionen bei relativ niedrigen Hb-Werten von 6,5 und 7,5 g/dl durchgeführt. In Anbetracht der Ergebnisse der Studie wäre hier zu diskutieren, ob man die Transfusionen bereits zu früheren Zeitpunkten hätte durchführen können, ohne den Verlauf der Anämie zu verlängern. Ob zum Zeitpunkt der Transfusionen bereits klinische Symptome einer Anämie bestanden, ist retrospektiv nicht mehr zu klären. Sollte dies der Fall gewesen sein, wäre diese Belastung der Eltern und Patienten durch frühere Transfusionen vermeidbar gewesen.

Die Gewichtsentwicklung des Patienten folgt den statistisch erkennbaren Tendenzen der Untersuchung. Demnach weisen Kinder mit einer langen Anämiephase eine leicht verzögerte Gewichtszunahme auf, ohne dass jedoch eine pathologisch verzögerte Gewichtsentwicklung gezeigt werden kann. Bei Geburt befindet sich das Gewicht des Patienten noch auf der 70. Perzentile, in den folgenden Untersuchungen fällt der jeweilige Perzentilenwert in den ersten beiden Nachuntersuchungen auf die 50., in der letzten Nachuntersuchung zwischen 25. und 50. Perzentile; er hat also während des Beobachtungszeitraums seine Gewichtspersentilen geschnitten.

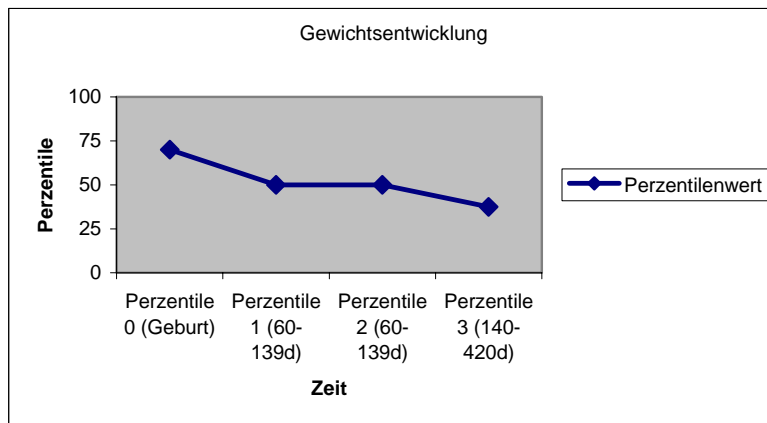


Abb. 9: Gewichtsentwicklung des Patienten anhand des Perzentilenverlaufs.

Zusammenfassung

Die Entwicklung einer Spätanämie ist im Verlauf eines Morbus haemolyticus fetalis et neonatorum ein häufiges Phänomen, welches für den behandelnden Kliniker bezüglich Betreuung und Therapie nach wie vor einen großen personellen und apparativen Aufwand darstellt.

Um sowohl einflussnehmende Faktoren und gleichzeitig eine Vorhersage ermöglichende Faktoren den Verlauf betreffend zu identifizieren, als auch eventuelle Folgen der Spätanämie bezüglich der Gewichtsentwicklung der Kinder aufzuzeigen, wurde am Perinatalzentrum Bonn (Abteilung für Neonatologie; Direktor Prof. Dr. Dr. P. Bartmann) eine retrospektive Studie durchgeführt.

Das Untersuchungskollektiv stellten dabei 82 Kinder der Geburtenjahrgänge 1995 – 2001, die während dieser Zeit im Perinatalzentrum Bonn aufgrund eines MHFN behandelt wurden. Um die obengenannten Fragen behandeln zu können, wurden die Daten der betroffenen Kinder unter Einbeziehung folgender Parameter analysiert: Zahl der intrauterinen, postnatalen und Austauschtransfusionen, Hämoglobinwerte vor Transfusion, Art der Antikörper, Zahl der Thrombozyten bei Geburt und fetales Hämoglobin (HbF) bei Geburt. Als Indikatoren für den Verlauf bzw. die Dauer der Spätanämie wurden die Faktoren „Zeit in Tagen bis zur letzten Transfusion“ und „Zeit in Tagen bis Retikulozyten > 2%“ gewählt und mit den vorher genannten Faktoren in Beziehung gesetzt. Für die Erfassung der Gewichtsentwicklung der Kinder wurde zu vier verschiedenen Zeitpunkten bzw. Zeiträumen das Gewicht anhand von Perzentilenwerten erfasst und ebenfalls mit den Indikatoren für die Spätanämie in Beziehung gesetzt. Zur interindividuellen Vergleichbarkeit wurden dabei folgende Zeitpunkte bzw. Zeiträume definiert: Geburt, Lebenstag 28 – 59, Lebenstag 60 – 139, Lebenstag 140 – max. 420.

Als statistische Verfahren wurde die Bestimmung der Korrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho, der „T-Test bei unabhängigen Stichproben“ oder „einfaktorielle ANOVA“ verwendet.

Signifikante Ergebnisse ließen sich bezüglich eines positiven Zusammenhanges zwischen Dauer der Spätanämie und Zahl der intrauterinen, postnatalen und der Summe von intrauterinen und postnatalen Transfusionen erkennen. Mit Abnahme des HbF-Wertes der Kinder bei Geburt nahm die Dauer der Spätanämie signifikant zu. Je niedriger der Hb-Wert der Kinder vor den Transfusionen war, desto länger war die Dauer der Spätanämie bei diesen Kindern, ebenfalls signifikant.

Bezüglich der übrigen Faktoren ergaben sich nur Tendenzen, die jedoch statistisch nicht signifikant waren. Demnach zeigte sich bei Kindern mit steigender Zahl von Austauschtransfusionen eine abnehmende Dauer der Spätanämie. Die Patienten mit einer Thrombozytopenie von weniger als 150.000 zeigten einen leicht verlängerten Verlauf der Spätanämie. In der Untersuchung des Einflusses des pathogenen Antikörpers zeigte sich der längste Verlauf der Spätanämie bei Kindern mit Anti-Kell- AK-Nachweis.

In der Zusammenschau der erwähnten Ergebnisse lässt sich das Fazit ziehen, dass eine längere Dauer der Spätanämie im Verlauf eines MHFN für den behandelnden Arzt dann zu erwarten ist, wenn der betroffene Patient während der Schwangerschaft, bei Geburt oder in der Nachbetreuungszeit folgende Charakteristika aufweist: Eine große Anzahl intrauteriner Transfusionen, einen niedrigen HbF-Wert bei Geburt bei evtl. zusätzlich vorhandener Thrombozytopenie, als pathogenen Antikörper Anti-Kell-Nachweis sowie im weiteren Verlauf keine oder wenige Austauschtransfusionen, viele postnatale Transfusionen bei jeweils niedrigen Hb-Werten vor Transfusion. Das letzte Kriterium lässt zur Diskussion stellen, ob es sinnvoll ist, die Kinder vor den postnatalen Transfusionen auf sehr niedrige Hb-Werte abfallen zu lassen, da eine Stimulierung der Erythropoese mit Verkürzung der Dauer der Spätanämie nicht gezeigt werden konnte.

Bei Analyse der Gewichtsentwicklung der betroffenen Kinder zeigten sich insgesamt weitgehend normale Perzentilenwerte. Zwar konnte die Tendenz gezeigt werden, dass mit längerer Dauer der Spätanämie die Perzentilenwerte vor allem zu den späteren Zeitpunkten hin kleiner wurden, die Kinder bewegten sich jedoch alle weiterhin in der entsprechenden Altersnorm. Eine leichte Beeinträchtigung der Gewichtsentwicklung durch die Dauer der Spätanämie kann somit angenommen werden, ihre Bedeutung ist jedoch klinisch zu vernachlässigen. Insgesamt kann mit einer normalen Entwicklung der Patienten trotz langer Spätanämie gerechnet werden.

Literaturverzeichnis

al-Alaiyan S, al Omran A. Late hyporegenerative anemia in neonates with rhesus hemolytic disease. *J Per Med* 1999; 27: 112-115

Bang J, Bock JE, Trolle D. Ultrasound-guided fetal intravenous transfusion for severe rhesus haemolytic disease. *Br Med J* 1982; 284: 373-374

Brandt I. Perzentilkurven für die Gewichtsentwicklung bei Früh- und Reifgeborenen in den ersten fünf Jahren. *Der Kinderarzt* 1979; 10: 713-718

Brandt I. Growth dynamics of low-birth-weight infants with emphasis on the perinatal period . In: Falkner F, Tanner JM, Hrsg. *Human growth*. Plenum Publishing Corporation, 1986: 415-474

Chilcott J, Lloyd Jones M, Wight J, Forman K, Wray J, Beverly C, et al. A review of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of routine anti-D prophylaxis for pregnant women who are rhesus-negative. *Health Technol Assess* 2003; 7

Christensen RD, Liechty KW, Koenig JM, Schibler KR, Ohls RKSO. Administration of erythropoietin to newborn rats results in diminished neutrophil production. *Blood* 1991; 78: 1241-1246

Conolly AM, Volpe JJ. Clinical Features of Bilirubin Encephalopathy. *Clin Perinatol* 1990; 17: 371-379

Cremer RJ, Perryman PW, Richards DH. Influence of light on thr hyperbilirubinaemia of infants. *Lancet* 1958; I: 1094

Dame C. Untersuchungen zur Physiologie und Pathophysiologie des Erythropoietins beim Frühgeborenen und reifen Neugeborenen. Medizinische Dissertation Bonn 1996.

Diamond LK, Blackfan KD, Baty JM. Erythroblastosis fetalis and its association with universal edema of the fetus, icterus gravis neonatorum and anemia of the newborn. *J Pediatr* 1932; 1: 269-309

Doyle LW, Kelly EA, Rickards AL, Ford GW, Callanan C. Sensorineural outcome at 2 years for survivors of erythroblastosis treated with fetal intravascular transfusions. *Obstet Gynecol* 1993; 81: 931-935

Ebbesen F. Superiority of intensive phototherapy – blue double light – in rhesus haemolytic disease. *Eur J Pediatr* 1979; 130: 279-284

Ebbesen F. Late anemia in infants with rhesus haemolytic disease treated with intensive phototherapy. *Eur J Pediatr* 1979; 130: 285-290

Eggebrecht H. Postpartale Immunglobulintherapie und somatische Entwicklung bei intrauterin transfundierten Neugeborenen mit schwerem Morbus haemolyticus neonatorum. Medizinische Dissertation Bonn 1999.

Ekert H, Mathew RY. Platelet counts and plasma fibrinogen levels in erythroblastosis foetalis. *Med J Aust* 1967; 2: 844

Farina A, Calderoni P, Simonazzi G, Carinci P, Rizzo N. Survival analysis of transfused fetuses affected by Rh-alloimmunization. *Prenat Diagn* 2000; 20: 881-885

Giblett ER, Varela JE, Finch CA. Damage of the bone marrow due to Rh antibody. *Pediatrics* 1956; 18: 37-44

Grab D, Paulus W, Bommer A, Buck G, Terinde R. Treatment of fetal erythroblastosis by intravascular transfusions: outcome at 6 years. *Obstet Gynecol* 1999; 93: 165-168

Grannum PA, Copel JA. Prevention of Rh isoimmunization and treatment of the compromised fetus. *Semin Perinatol* 1988; 12: 324-335

Greenough A. Rhesus disease: postnatal management and outcome. *Eur J Pediatr* 1999; 158: 689-693

Hadley AG, Kumpel BM. The role of Rh antibodies in haemolytic disease of the newborn. *Bailliere's Clinical Haematology* 1993; 6: 423-444

Hoch J. Zur pränatal transfusionspflichtigen fetalen Erythroblastose infolge fetomaternalen Blutgruppeninkompatibilität: Drei Studien über Spezifität, Häufigkeit und Induktion erythrozytärer Antikörper sowie über sich daraus für die Behandlung ableitende Konsequenzen. Medizinische Dissertation Bonn 1994.

Hudon L, Moise KL, Hegemier SE, Hill RM, Moise AA, Smith EO, Carpenter RJ. Long-term neurodevelopmental outcome after intrauterine transfusions for the treatment of fetal haemolytic disease. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 858-863

Janssens HM, de Haan MJJ, van Kamp IL, Brand R, Kanhai HHH, Veen S. Outcome for children treated with fetal intravascular transfusions because of severe blood group antagonism. *J Pediatr* 1997; 131: 373-380

Klaus, Fanaroff. Care of the high risk neonate, 1986: 412, www.neonatology.org,
Zugriffsdatum: 12.11.2004

Koenig JM, Ashton RD, De Vore GR, Christensen RD. Clinical and laboratory observations: Late hyporegenerative anemia in Rh haemolytic disease. *J Pediatr* 1989; 115: 315-318

Landsteiner K, Wiener AS. An Agglutinable Factor in Human Blood Recognized by Immune Sera for Rhesus Blood. *Proc Soc Exp Biol Med* 1940; 43: 223

Levine P, Katzin EM, Burnham L. Isoimmunization in pregnancy: its possible bearing on the etiology of erythroblastosis foetalis. *J Am Med Assoc* 1941; 116: 825-827

Liley AW. Liquor amnii analysis in the management of the pregnancy complicated by rhesus sensitisation. *Am J Obstet Gynecol* 1961; 82: 1350-1370

Liley AW. Intrauterine transfusion of fetus in haemolytic disease. *Br Med J* 1963; ii: 1107-1109

Lozinska D. The course of hemolytic disease of the newborn in Rh incompatibility. *Arch immunol exp* 1978; 26: 1117-1120

Luban NLC. The new and the old – molecular diagnostics and haemolytic disease of the newborn. *N Engl J Med* 1993; 329: 658-660

Millard DD, Gidding SS, Socol ML, et al. Effects of intravascular, intrauterine transfusion on prenatal and postnatal hemolysis and erythropoiesis in severe fetal isoimmunization. *J Pediatr* 1990; 117: 447-454

Moise KJ Jr. Non-anti-D antibodies in red-cell alloimmunization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 92: 75-81

Moise KJ Jr. Management of Rhesus Alloimmunization in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2002; 100: 600-611

Mollison PL. Blood transfusion in clinical medicine. Blackwell scientific publications, Oxford 1967.

Mukhopadhyay K, Murki S, Narang A, Dutta S. Intravenous immunoglobulins in rhesus hemolytic disease. *Indian J Pediatr* 2003; 70: 697-699

Narang A, Jain N. Haemolytic disease of the newborn. *Indian J Pediatr* 2001; 68: 167-172

Ohls RK, Wirkus PE, Christensen RD. Recombinant erythropoietin as treatment for the late hyporegenerative anemia of Rh hemolytic disease. *Pediatrics* 1992; 90: 678-680

Ovali F, Samanci N, Dagoglu T. Management of late anemia in Rhesus hemolytic disease: use of recombinant human erythropoietin (a pilot study). *Pediatr Res* 1996; 39: 831-834

Peterec SM. Management of neonatal Rh disease. *Clin Perinatol* 1995; 22: 561-592

Phibbs RH, Johnson P, Kittermann JA, et al. Cardiorespiratory status of erythroblastotic newborn infants: II. Blood volume, hematocrit, and serum albumin concentration in relation to hydrops fetalis. *Pediatrics* 1974; 53: 13

Reid M, McClure G, Marks E, et al. Phototherapy in Rhesus haemolytic disease. *Lancet* 1972; I: 879

Rocha VLL, Benjamin ACW, Procianoy RS. The effect of recombinant human erythropoietin on the treatment of anemia of prematurity. *J Pediatr (Rio J)* 2001; 77: 75-83

Rodeck CH, Kemp JR, Holman CA, Whitmore CA, Karnicki J, Austin MA. Direct intravascular fetal blood transfusion by fetoscopy in severe Rhesus isoimmunization. *Lancet* 1981; i: 625-27

Ruckstuhl J. Titerverlauf und hämolytische Späteffekte der Rhesusantikörper bei Austauschtransfusion bei Neugeborenen mit rhesusbedingter hämolytischer Anämie. *Helv Paediat Acta* 1970; 3: 258 - 272

Saade GR, Moise KJ, Belfort MA, Hesketh DE, Carpenter RJ. Fetal and neonatal hematologic parameters in red cell alloimmunization: Predicting the need for late neonatal transfusions. *Fetal Diagn Ther* 1993; 8: 161-164

Scaradavou A, Inglis S, Peterson P, Dunne J, Chervenak F, Bussel J. Suppression of erythropoiesis by intrauterine transfusions in hemolytic disease of the newborn: use of erythropoietin to treat the late anemia. *J Pediatr* 1993; 123: 279-284

Schmorl G. Zur Kenntnis des Icterus neonatorum. *Verh Dtsch Ges Pathol* 1903; 6: 109

Steinke J, Gries FA, Driscoll SG. In vitro studies of insulin inactivation with reference to erythroblastosis fetalis. *Blood* 1967; 30: 359

Stewart G, Day RE, Del Priore C, Whittle MJ, Turner TL, Holland BM. Developmental outcome after intrauterine transfusions for rhesus haemolytic disease. *Arch Dis Child* 1994; 70: F52-F53

Urbaniak SJ. The scientific basis of antenatal prophylaxis. *Br J Obst Gyn* 1998; Suppl 18: 11 – 18

Van Maldergem L, Jauniaux E, Fourneau C, et al. Genetic causes of hydrops fetalis. *Pediatrics* 1992; 89: 81

Vaughan JI, Manning M, Warwick RM, Letsky EA, Murray NA, Roberts IAG. Inhibition of erythroid progenitor cells by anti-kell antibodies in fetal alloimmune anemia. *N Engl J Med* 1998; 338: 798 – 803

Wagner T, Bernaschek G, Geissler K. Inhibition of megakaryopoiesis by kell-related antibodies. *N Engl J Med* 2000; 343: 72

Wahl HC. Langzeitprognose nach intrauterinen intravaskulären Transfusionen bei Morbus haemolyticus fetalis et neonatorum. *Medizinische Dissertation Bonn* 2001.

Wallerstein H. Treatment of severe erythroblastosis by simultaneous removal and replacement of the blood of the newborn infant. *Science* 1946; 5: 583-584

Zuppa AA, Maragliano G, Scapillati ME, Florio MG, Girlando P, Noia G, De Santis M, Cavaliere F, Romagnoli F, Tortorolo G. Recombinant erythropoietin in the prevention of late anemia in intrauterine transfused neonates with Rh-haemolytic disease. *Fetal Diagn Ther* 1999; 14: 270-274

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Ak	Antikörper
AT	Austauschtransfusion
bzw.	beziehungsweise
d.h.	das heißt
EPO	Erythropoietin
IG	Immunglobulin
IUT	intrauterine Transfusion
IVIG	intravenöse Immunglobulingabe
Hb	Hämoglobin
HbF	fetales Hämoglobin
max.	maximal
MHFN	Morbus haemolyticus fetalis et neonatorum
PNT	postnatale Transfusion
RES	retikuloendotheliales System
RhD	Rhesusfaktor D
Retis	Retikulozyten
Tab.	Tabelle
TZ	Thrombozyten

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt vor allem Herrn Prof. Dr. Dr. P. Bartmann für die freundliche Überlassung des Themas sowie die jederzeit zuverlässige und wohlwollende Unterstützung und Begleitung bei der Entstehung der vorliegenden Arbeit.

Ganz besonderer Dank gilt ebenso Frau Dr. F. Schaaff (Universitäts-Kinderklinik Mainz), die als Betreuerin der Arbeit durch unermüdliches Engagement in unzähligen Korrespondenzen und Treffen die Fertigstellung der Arbeit erst ermöglicht hat.

Bei Erfassung der Daten sowie in organisatorischen Fragen war mir Frau A. Josefus, Sekretariat der Abteilung Neonatologie der Universitäts-Kinderklinik Bonn, eine jederzeit hilfsbereite und unverzichtbare Hilfe. Ihr sei hiermit ebenfalls herzlich gedankt.