

Granulozytentransfusionen bei Patienten mit Granulozytopenie oder -pathie

Einleitung:

Obwohl in den vergangenen Jahren eine Vielzahl hocheffektiver Antibiotika und Antimykotika entwickelt wurde, sind Patienten mit Granulozytopenien bzw. Granulozytopathien nach wie vor gefährdet, an einer lebensbedrohlichen bakteriellen Infektion oder Pilzinfektion zu erkranken. Insbesondere Infektionen mit gramnegativen Keimen oder Aspergillen führen bei bis zu 18 % der neutropenischen Patienten zum Tode (1). Dazu kommt das sich zunehmend verschärfende Problem der Resistenzen von Mikroorganismen, hier seien Methicillin resistenter Staphylokokkus aureus und Vancomycin resistente Enterokokken genannt.

Davon ausgehend ist die Transfusion funktionsfähiger Granulozyten gesunder Spender eine logische Konsequenz. Bereits Mitte der sechziger Jahre wurde diese Therapieoption erkannt und es wurden Granulozytentransfusionen durchgeführt (2). Allerdings konnte trotz Stimulation der Leukozytenspender mit Steroiden keine ausreichende Ausschüttung von Granulozyten ins periphere Blut erreicht werden. Für den Einsatz bei erwachsenen Patienten wurden damals durch Granulozytapherese keine ausreichenden Zellzahlen erreicht. Daher wurde die Granulo-

zytentransfusion bis auf wenige Ausnahmen in der Behandlung von Kindern wegen nicht ausreichender Effizienz bei der Gewinnung der Leukozytenpräparate wieder verworfen. (3)

Eine Wende brachte hier die Entwicklung von Zytokinen zur Stimulation der Granulopoese. Der Granulozytenkolonie stimulierende Faktor (G-CSF) war ursprünglich für den therapeutischen Einsatz bei zytopenischen Patienten gedacht. Nun wurde G-CSF (Filgrastim bzw. Lenograstim) auch bei gesunden Blutspendern als Zytokin zur Stimulation der Granulopoese vor Leukozytapherese eingesetzt.

Die Mobilisierung von Granulozyten mit G-CSF und die effiziente Sammlung mittels ausgereifter Apheresetechniken ermöglichen mittlerweile die Gewinnung von Granulozytenkonzentraten, die selbst bei erwachsenen Patienten zu einem Anstieg der Neutrophilen im peripheren Blut der Patienten auf > 500 pro Mikroliter führen. Dieser Wert gilt im Allgemeinen als Grenze, unterhalb derer das Risiko, an einer Infektion zu erkranken bzw. zu versterben, deutlich erhöht ist. Er gilt daher als Ziel-Inkrement bei einer Granulozytentransfusion. Allerdings ist ein Anstieg der Leukozytenzahl im Blut des Patienten

Carla Kreissig

DRK-Blutspendedienst West, gemeinnützige GmbH
Zentralbereich Stammzelle und HLA
Linneper Weg 1, 40885 Ratingen - Breitscheid

Zusammenfassung

Progrediente Infektionen bei Patienten mit schwerer Neutropenie von weniger als 500 neutrophilen Granulozyten / μ l können eine Indikation zur Transfusion von Granulozyten darstellen. Gleiches gilt für Patienten mit normalen Leukozytenzahlen und Granulozytopathien. Granulozytenkonzentrate werden mittels Zellseparation gewonnen. Der Spender erhält zur Stimulation der Granulopoese vor jeder Apherese 5-10 μ g G-CSF s. c. pro kg Körpergewicht. Aufgrund der hohen Belastung des Spenders und des großen organisatorischen Aufwands sollte die Indikation zur Granulozytentransfusion streng aber rechtzeitig gestellt werden. Frühzeitig gegebene Granulozytentransfusionen können in Ergänzung zur antimikrobiellen Therapie entscheidend zum Überleben von Patienten beitragen.

Summary

Progressive infections in patients suffering from severe neutropenia (less than 500 granulocytes per μ l) as well as granulocyte dysfunctions may be an indication for granulocyte transfusions. Granulocyte concentrates are collected by apheresis procedure. Donor's granulopoiesis is stimulated by G-CSF injections. With respect to the exposure of the donor to HAES and G-CSF and the organizational complexity, the indication for granulocyte transfusion should be adjusted strict but at the right time. Early given granulocyte transfusions in addition to antimicrobial therapy can definitely contribute to patient's survival.

nicht immer nachweisbar, da die transfundierten Zellen an den Ort des Geschehens gehen und dort der Kontrolle der Infektion dienen (4).

G-CSF geprimte Granulozyten sind in vivo normal funktionsfähig, können in das Gewebe migrieren und dort im Rahmen der unspezifischen Immunantwort Enzyme aus ihren Granula freisetzen (5). Sie können also ihre Funktion der unspezifischen zellulären Abwehr im Empfängerorganismus vollumfänglich erfüllen.

Seit die Granulozytentransfusion nunmehr auch für den Einsatz bei erwachsenen Patienten als realistische Therapieoption zur Verfügung steht ist ein deutlicher Anstieg der Granulozytentransfusionen zu verzeichnen. Die Granulozytentransfusion erfordert jedoch nicht nur einen hohen

logistischen Aufwand von den Kliniken und den sie versorgenden Blutspendeeinrichtungen, sondern auch einen erheblichen zeitlichen Vorlauf. Dieser Beitrag soll insbesondere praktische Informationen über Indikation und Durchführung von Granulozytentransfusionen geben, um die Zusammenarbeit von Kliniken und Blutspendeeinrichtungen möglichst reibungslos im Interesse des Patienten zu gestalten.

Die Sicht des Patienten und seines behandelnden Arztes – Indikationen zur Granulozytentransfusion:

Eine Granulozytentransfusion ist bei Patienten mit schwerer Neutropenie oder Granulozytenfunktionsstörung in Betracht zu ziehen, wenn trotz optimaler bestehender antibakterieller



Abbildung 1

Granulozytapheresen werden automatisiert mittels eines Zellseparators durchgeführt. Das Verfahren dauert 2-3 Stunden.

oder antimykotischer Therapie über einen längeren Zeitraum kein Erfolg zu verzeichnen ist. Die derzeit gültigen Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaprodukten geben folgende Empfehlungen zu granulozytopenischen Patienten und zu Patienten, die an seltenen angeborenen Granulozytenfunktionsstörungen leiden (6):

Progrediente Infektionen bei Patienten mit schwerer Neutropenie von weniger als 500 neutrophilen Granulozyten/ μ l trotz bestmöglicher antibiotischer und antimykotischer Therapie für mehr als 48 Stunden können

eine Indikation zur Transfusion von Granulozyten darstellen, sofern diese Infektionen aufgrund der Erregerspezifität und der zu erwartenden Neutropenedauer lebensbedrohlich für den Patienten werden können. Gleiches

gilt für Patienten mit Granulozytopenie $< 500/\mu$ l und einem hohen Risiko für das Auftreten einer lebensbedrohlichen Bakterien- oder Pilzinfektion (**Querschnitts-Leitlinien 3.5.1 Indikationen**).

Patienten, die an einer der seltenen angeborenen Granulozytenfunktionsstörungen wie der septischen Granulomatose leiden, könnten bei

progredienten lebensbedrohlichen Infektionen auch bei normaler absoluter Granulozytenzahl im peripheren Blut von einer Granulozytentrans-

fusion profitieren (**Querschnitts-Leitlinien 3.5.2 Spezielle Indikationen**).

Tabelle 1

Für die Indikationsstellung können bei Patienten mit einer erwarteten lang andauernden, schweren Neutropenie auch zusätzliche Risikofaktoren eine Rolle spielen: Kolonisation mit MRSA oder VRE, schwere Muco-sitis, Infektionen an der Kathetereintrittsstelle, Vorbehandlung mit oder Allergie gegenüber Beta-Lactam-Antibiotika (7).

Die Granulozytentransfusion wird in der Regel gut vertragen, auftretende Nebenwirkungen wie Fieber und Schüttelfrost können durch Prämedikation mit Antihistaminika und Corticoiden gut kontrolliert werden. Um anaphylaktische Reaktionen und pulmonale Komplikationen als Folge von Antigen-Antikörper-Reaktionen auszuschließen, sollte bei der Spenderauswahl das Ergebnis der Testung auf HNA- oder HLA-Antikörper berücksichtigt werden.

Die Sicht der Blutspendeeinrichtung und des Spenders - Gewinnung von Granulozytenkonzentrationen:

Die Granulozytenspende wird automatisiert mittels eines Zellseparators durchgeführt (Abbildung 1). Obwohl das Verfahren der häufig durchgeführten Thrombozytenspende sehr ähnlich ist, unterscheidet sich die Granulozytenspende für den Spen-

Spendervoruntersuchung vor Granulozytenspende

Körperliche Untersuchung:	
Alter:	18 bis 65 Jahre
Körpergewicht:	mindestens 50 kg
Blutdruck:	systolisch: 100 - 180 mm Hg, diastolisch: unter 100 mm Hg
Herzfrequenz:	rhythmisch, Frequenz 50 - 110/min
Temperatur:	kein Fieber
Gesamteindruck:	keine erkennbaren Krankheitszeichen
Haut an der Punktionsstelle:	frei von Läsionen
EKG:	ohne pathologischen Befund
Abdomen-Sonographie:	Milzgröße ohne pathologischen Befund (obligat bei G-CSF-Mobilisierung)

Laboruntersuchungen:	
Untersuchung	Normbereich bzw. erforderliche Ergebnisse
β-HCG bei fertilen Frauen	negativ
Gesamteiweiß	> 60 g/l
Hämoglobin	Frauen ≥ 125 g/l Männer ≥ 135 g/l
Leukozytenzahl	> 3 x 10 ⁹ /l < 10 x 10 ⁹ /l
Granulozyten	> 1,5 x 10 ⁹ /l
Lymphozyten	> 1,2 x 10 ⁹ /l
Thrombozytenzahl	> 140 x 10 ⁹ /l
Erythrozyten	Frauen 4,0 – 5,4 x 10 ¹² /l Männer 4,3 – 6,0 x 10 ¹² /l
MCV	82 – 101 fl
Blutgruppenbestimmung	
HCV-PCR	negativ
Anti-HIV 1/2	negativ
HBs-AG	negativ
Anti-HCV	negativ
TPHA	nicht reaktiv
Urinstatus	negativ
Harnsäure	im Normbereich
Natrium	im Normbereich
Kalium	im Normbereich
Calcium	im Normbereich
Kreatinin	im Normbereich
PT (Quick)	im Normbereich
APTT	im Normbereich
Fibrinogen	im Normbereich
PTZ	im Normbereich
GPT	im Normbereich

der deutlich von der üblichen Blutspende, da hier eine medikamentöse Vorbereitung zur Mobilisierung der Granulozyten erforderlich ist. Entsprechend aufwändiger und umfangreicher sind die Voruntersuchungen und die Vorbereitung.

Zur Granulozytenspende herangezogen werden in erster Linie gesunde Fremdblutspender im Alter zwischen 18 und 65 Jahren entsprechend den Vorgaben des Transfusionsgesetzes und der Richtlinien zur Herstellung und Anwendung von Blut und Blutprodukten (Hämotherapie) der Bundesärztekammer in der jeweils gültigen Fassung (8). Sie unterziehen sich nach ausführlicher ärztlicher Aufklärung über Risiken und Nebenwirkungen von Mobilisierung und Leukozytapherese einer umfangreichen Anamnese und Untersuchung, um ihre Eignung zur Spende am Zellseparator und zur G-CSF-Mobilisierung festzustellen. Dabei werden auch infektionsserologische, klinisch-chemische, gerinnungsphysiologische und hämatologische Testungen durchgeführt (Tabelle1).

Zur Stimulation der Granulopoese erhält der Spender 12-16 Stunden vor jeder Apherese 5-10µg G-CSF pro kg Körpergewicht subkutan injiziert. Dabei sind nach unserer Erfahrung spätestens bei der vierten Injek-



Abbildung 2

Für die Separation wird hochmolekulares HAES als Sedimentationsbeschleuniger eingesetzt, das mit Citrat als Antikoagulans versetzt wird.

tion die typischen G-CSF-Nebenwirkungen wie Kopf- und Gliederschmerzen, subfebrile Temperaturen, Abgeschlagenheit und Müdigkeit zu erwarten. Diese Nebenwirkungen können mit Paracetamol meist gut kontrolliert werden.

Es werden bei der Leukozytapherese im dual needle Verfahren fünf bis zehn Liter Vollblut prozessiert. Die Granulozytenkonzentrate enthalten mindestens 1×10^{10} Granulozyten (eigene Erfahrungen $4-8 \times 10^{10}$) in 150-400 ml Volumen.

Zur Vermeidung einer Graft versus Host Erkrankung müssen die Präparate unbedingt mit mindestens 25 Gray bestrahlt werden.

Granulozytenkonzentrate sind maximal 24 Stunden haltbar, allerdings ist die Verträglichkeit der Transfusion besser, wenn die Präparate möglichst frisch transfundiert werden.

Um die Granulozyten während der Separation möglichst gut von den Erythrozyten zu trennen wird als Sedimentationsbeschleuniger hochmolekulares HAES verwendet, das zwecks Antikoagulation mit Citrat versetzt wird (Abbildung 2). Dem Spender wird also mit dem retransfundierten Blut nicht nur Citrat sondern auch hochmolekulares HAES verabreicht. Granulozytapheresen dürfen bei einem Spender auch an aufeinander folgenden Tagen durchgeführt werden, insgesamt sind jedoch aufgrund der Belastung mit dem Sedimentationsbeschleuniger HAES innerhalb von 12 Monaten höchstens vier Granulozytapheresen pro Spender zulässig. Damit wird möglichsten, aber seltenen Nebenwirkungen der HAES-Infusion wie Pruritus und Hypervolämiesymptomen beim Spender Rechnung getragen.

Aufgrund des Erythrozytengehaltes der Granulozytenkonzentrate, die einen Hämatokrit von ca. 8 % aufwei-

sen (**Abbildung 3**), muss Blutgruppenkompatibilität im AB0- und Rhesus-System zwischen dem Spender und dem Empfänger bestehen, außerdem sollte ein kompatibler CMV-Status vorliegen, d. h. es werden CMV-seronegative Präparate auf einen CMV-seronegativen Empfänger übertragen. CMV-seropositive Patienten können Präparate eines CMV-seropositiven Spenders erhalten.

Der Empfänger der Präparate sollte auf HLA- und HNA-Antikörper untersucht werden. Falls derartige anti-Leukozytäre Antikörper beim Empfänger nachweisbar sind, müssen sie bei der Auswahl der Spender unbedingt beachtet werden! Das erfordert einen ausreichenden zeitlichen Vorlauf, um die Testung beim Spender und Empfänger durchzuführen und zusätzlich einen größeren bereits prospektiv ausgetesteten Spenderpool bei der versorgenden Einrichtung.

Die wissenschaftliche Sicht – die Granite-Studie:

Wenngleich eigene klinische Erfahrungen mitunter beeindruckende Erfolge der Granulozytentransfusion zeigen, finden sich in der bislang publizierten Literatur bei einem sehr heterogenen Patientenkollektiv und bezüglich Granulozytengehalt nicht de-

finierten Präparaten unterschiedliche klinische Ergebnisse. Während in einigen Studien ein zumindest teilweiser Therapieerfolg nachweisbar war, (**9**) konnte in zwei anderen Studien kein klinischer Nutzen der Granulozytengabe gezeigt werden (**10**). Es besteht also ein dringender Bedarf an kontrollierten, randomisierten Studien mit klarem Design, wie sie die Granite-Studie darstellt, die 2009 von PD Dr. K. Hübel (Hämatologie Universitätsklinikum Köln), PD Dr. Ulrich Sachs (Transfusionsmedizin Universitätsklinikum Giessen) und Dr. Lorenz Grigull (Pädiatrie, Medizinische Hochschule Hannover) initiiert wurde. Im Rahmen einer multizentrischen, randomisierten Phase III Studie soll dabei die Effektivität der Granulozytentransfusion, gemessen an der Reduktion der Fiebertage, geprüft werden.



Abbildung 3

Granulozytenkonzentrat. Deutlich sind der Erythrozytenanteil und darüber die sich absetzende Schicht der weißen Blutkörperchen zu erkennen.

Die Patienten werden randomisiert in Arm A Standardtherapie plus Granulozytentransfusion bzw. Arm B Standardtherapie ohne Granulozytentransfusion.

Einschlusskriterien

- Fieber > 38°C über 96 Std.
- Therapieinduzierte Neutropenie (< 500/mL), erwartete Dauer ≥ 5d
- Alter 1-75 Jahre
- Vorliegen folgender Erkrankungen: AML, ALL, CML, CLL, MDS, MPS, NHL/MM, M. Hodgkin
- Karnofsky-Index > 20 %
- unterschriebene Einverständniserklärung

Abbruchkriterien

- Fieberfreiheit über 72 Std.
- Ende der Neutropenie
- 15 Tage nach Beginn der Transfusionsserie

Ziele der Prüfung

Hauptzielkriterium: Effektivität, gemessen an der Reduktion der Fiebertage

Sekundäre Zielkriterien:

- Dauer der antiinfektiösen Therapie
- Dauer der stationären Therapie
- Tage auf Intensivstation
- Reduktion der Letalität
- Zeit bis zur Fieberfreiheit
- Toxizitäten Patient/Spende
- Effektivität gemäß Mikrobiologie

Merkblatt Granulozytenkonzentrate

Ansprechpartner in der Klinik:	<ul style="list-style-type: none"> • Name • Telefon • Außerhalb der Dienstzeiten • Fax
Wir benötigen folgende Angaben vom Patienten:	
Überweisende Klinik:	<ul style="list-style-type: none"> • Adresse • Station • Ansprechpartner • Tel/Fax-Nr.
Patient:	<ul style="list-style-type: none"> • Name • Vorname • Geburtsdatum • Indikation • Größe • Gewicht • Blutgruppe • CMV-Status • HLA-Typisierung Klasse 1
Daten der geplanten Transfusionen	
Erforderliche Blutproben vom Patienten: (bitte vorher Rücksprache halten!)	
für Crossmatch und Granulozyten- und HLA-Antikörpertests:	<ul style="list-style-type: none"> • 10 ml EDTA-Blut • 10 ml Serum
für Erythrozytenkreuzprobe:	<ul style="list-style-type: none"> • 3 ml EDTA-Blut
BITTE BEACHTEN:	Vorlaufzeit mindestens 48, eher 72 Stunden!
Prämedikation:	(nach Entscheidung der Klinik) ggf. mit Antihistaminika und Corticoiden

Tipps zur Organisation

Wenn Patienten Granulozytentransfusionen benötigen, dann sind sie schwer erkrankt und müssen kurzfristig mit kompatiblen Präparaten versorgt werden. Da Granulozytenkonzentrate nicht auf Vorrat hergestellt und gelagert werden können, bedeutet die Bereitstellung von Granulozytenkonzentraten für die versorgende Einrichtung (Blutspendedienst) einen großen logistischen Aufwand: Es muss in möglichst kurzer Zeit ein kompatibler Spender gefunden, voruntersucht und stimuliert werden.

Die Abläufe lassen sich beschleunigen und vereinfachen, wenn seitens der behandelnden Kliniker bei Risikopatienten (erwartete Aplasiedauer > 10 Tage) die HNA- und HLA-Antikörpersuche frühzeitig erfolgt ist und seitens des Blutspendedienstes potentielle Spender bezüglich der HNA- und HLA-Merkmale bereits typisiert sind.

Sobald eine Granulozytentransfusion als therapeutische Option in Betracht gezogen wird, sollte dann so früh wie möglich mit dem versorgenden Blutspendedienst Kontakt aufgenommen werden, um die Organisation zu planen. Die hierfür erforderlichen

Tabelle 2

Angaben und Untersuchungen sind in **Tabelle 2** aufgelistet. Für die weitere Organisation ist dann eine enge Zusammenarbeit zwischen Blutspendedienst und Klinik erforderlich, denn die Granulozytenkonzentrate haben nur eine begrenzte Haltbarkeitsdauer und sollten so schnell wie möglich transfundiert werden.

Schlussfolgerungen

Mit dem Einsatz von G-CSF steht die Granulozytentransfusion nun auch für erwachsene Patienten als Therapieoption zur Verfügung. Wird relativ frühzeitig mit der Granulozytentransfusion begonnen, kann sie in Ergänzung zur antimikrobiellen Therapie entscheidend zum Überleben von Patienten mit Neutropenie bzw. Granulozytenfunktionsstörungen beitragen. **(11)** Aufgrund der hohen Belastung der Spender durch die G-CSF-Injektion mit den für dieses Zytokin typischen Nebenwirkungen, der Infusion von Hydroxyethylstärke als Sedimentationsbeschleuniger und der Apheresedauer von 120 bis 180 Minuten sollte die Indikation streng gestellt werden.

Die Literaturhinweise finden Sie im Internet zum Download unter: www.drk-haemotherapie.de