

» Säure-Basen-Status gelagerter und gewaschener Erythrozyten

R. Zander¹, R. Sümpelmann²

¹ Institut für Physiologie und Pathophysiologie der Universität Mainz

² Anästhesie III der Medizinischen Hochschule Hannover

Schlüsselwörter: Säure-Basen-Status – Base Excess – Erythrozyten – Cellsaver

Key words: Acid base status – Base excess – Erythrocytes – Cellsaver

Einleitung

Es gibt mehrere Möglichkeiten, den physiologischen Säure-Basen-Status einer frisch entnommenen Blutprobe bezüglich seiner Normwerte zu verändern, d. h. den pH-Wert von 7,40, den CO₂-Partialdruck (pCO₂) von 40 mmHg und den Base Excess (BE) von 0 mmol/l. Die für Blutprodukte typische Änderung, nämlich die nicht-respiratorische Azidose, ist durch eine Abnahme von pH und BE charakterisiert.

Als Ursache kommen prinzipiell drei Möglichkeiten in Frage:

1. Zufuhr von H⁺-Ionen über Säuren bei der Zubereitung (Stabilisator- und Additivlösungen) und ihre Pufferung durch HCO₃⁻ und Hämoglobin,
2. Verdünnung des Blutproduktes mit einer HCO₃⁻-freien Lösung, d. h. Erniedrigung der HCO₃⁻-Konzentration als wichtigem Anteil der Pufferbasen, und
3. Waschen von Erythrozyten mit HCO₃⁻-freier Lösung, d. h. extreme Absenkung der HCO₃⁻-Konzentration und damit der Konzentration aller Pufferbasen.

Dabei macht es keinen Unterschied, ob die wichtige Pufferbase HCO₃⁻ durch H⁺ in CO₂ und H₂O überführt, verdünnt oder ausgewaschen wird, das Ergebnis ist immer eine Senkung der HCO₃⁻-Konzentration und damit Ausbildung eines negativen Base Excess.

Stabilisatorlösungen (ACD, CPD, CPDA-1) weisen bei physiologischem pCO₂ von 40 mmHg saure pH-Werte um 6,0 auf, was auf die relativ hohen Konzentrationen an Zitronensäure bzw. Natrium-Dihydrogen-Phosphat zurückzuführen ist [2, 7].

Noch deutlich darunter liegen die pH-Werte von PAGGS-M (pH 5,7) und SAG-M (pH 4,9), vor allem zurückzuführen auf den Gehalt an Natrium-Dihydrogen-Phosphat. Wie in Abb. 1 darge-

stellt, erhalten die Erythrozyten während der Herstellung eines Konzentrates zweimal größere Mengen an H⁺-Ionen zugefügt.

Schon ein ACD-Vollblutpräparat, der erste Schritt zur Herstellung eines EK, zeigt infolge H⁺-Ionen-Zufuhr und Verdünnung einen BE von – 22 mmol/l [7].

Während der Lagerung von Erythrozyten werden zusätzliche H⁺-Ionen freigesetzt, die aus dem Erythrozyten-Metabolismus stammen, der trotz Kühlung weiterhin Milchsäure freisetzt: Das H⁺-Ion kann als Abnahme des Base Excess und das Anion als Laktat-Konzentration nachgewiesen werden.

Bei einem Vollblut-Präparat macht dies unter Kühlung eine tägliche BE-Abnahme von 0,9 mmol/l aus [7].

Bei der maschinellen Aufbereitung von Erythrozyten, also dem Waschen mit 0,9% NaCl im Rahmen der Autotransfusion, musste die Behauptung, „a washed cell is a happy cell“ später dahingehend korrigiert werden, dass der gewaschene Erythrozyt in Wirklichkeit „stocksauer“ ist [6]. Fast normale (7,30) oder sogar alkalische (7,56) pH-Werte in Präparationen gewaschener Erythrozyten täuschen einen normalen Säure-Basen-Status vor, aber die Einbeziehung des pCO₂ von nur 5–10 mmHg ergibt einen BE von ca. – 20 mmol/l, d. h. das Autotransfusionsgerät liefert ein azidotisches Erythrozytenprodukt [5].

Gegenstand der vorliegenden Untersuchung sollte es daher sein, den Säure-Basen-Status von gelagerten und gewaschenen Erythrozytenkonzentraten (EK) vor allem über die Messung des Base Excess zu beschreiben.

Material und Methodik

Gelagerte Erythrozyten

Der Säure-Basen-Status bei 4°C gelagerter EK's in additiver Lösung (CPD + SAG-M) wurde in zwei Untersuchungsreihen bestimmt, nämlich einmal 100 EK's, zum anderen 5 plus 6 EK's, letztere nach Unterbrechung der Kühlkette von wenigen Stunden.

In der ersten Versuchsreihe wurden die Parameter des Säure-Basen- (pH, pCO₂, pO₂) und des Metabolit-Status (cGlukose, cLaktat) mit einem Blutgas-, Oxymetrie- und Elektrolyt-analysator (ABL 625, Radiometer Kopenhagen) gemessen und die HCO₃⁻-Konzentration des Plasmas sowie der Base Excess des Blutes automatisch vom Gerät berechnet. In der zweiten Versuchsreihe wurden Proben der EK's unter physiologischen

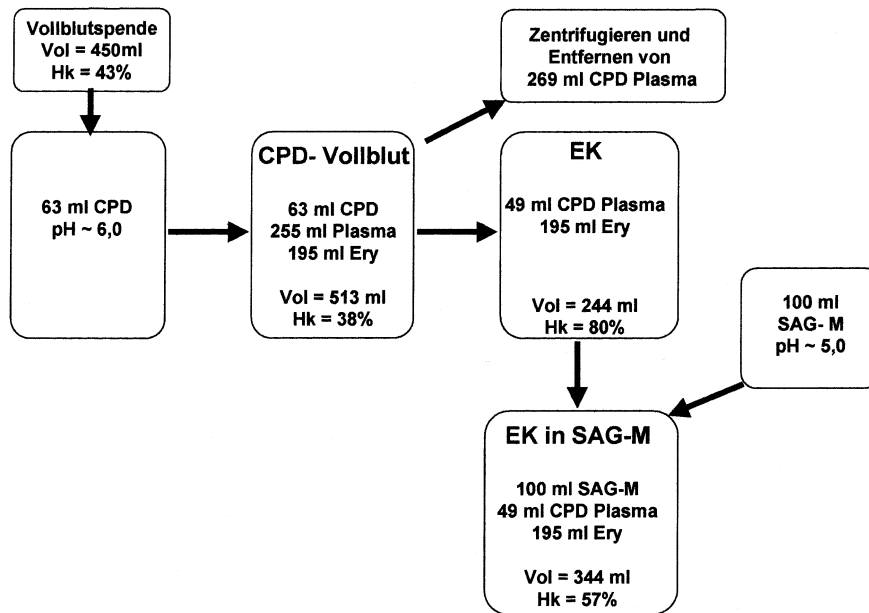


Abb. 1 Herstellungsschritte eines Erythrozytenkonzentrates (EK) mit CPD-Stabilisator (Zitrat, Phosphat, Dextrose) in additiver SAG-M-Lösung (Natrium, Adenin, Glukose, Mannit), modifiziert nach [2]. Die Erythrozyten werden zweimal mit saurer Stabilisator- bzw. Additiv-Lösung versetzt.

Bedingungen (37°C , $p\text{O}_2$ 100 mmHg, $p\text{CO}_2$ 40 mmHg) in einem IL-Tonometer (Instrumentation Laboratory 237) ausgehend vom aktuellen pH-Wert durch quantitative Zugabe von NaHCO_3 (1 mol/l) auf den physiologischen pH von 7,40 zurücktitriert und auf diese (klassische) Weise der Base Excess des Blutes (mmol/l) ermittelt. Wegen der zum Teil erheblichen Volumina zugesetzter Lösung wurde eine Volumenkorrektur vorgenommen, die bei einem BE von -20 mmol/l nur 0,5 mmol/l, bei einem BE von -50 mmol/l aber immerhin 2,5 mmol/l beträgt. Die pH-Messung erfolgte mit einem pH-Meter BMS 2 Mk 2, kalibriert mit Precision Buffer Solution Types S 1500 und S 1510 (Radiometer Kopenhagen).

Gewaschene Erythrozyten

60 gelagerte Erythrozytenkonzentrate wurden mit einem Gerät zur maschinellen Autotransfusion (Cellsaver CS 5 mit einer 125 ml Latham-Glocke, Haemonetics) bei 24°C mit isotoner Kochsalzlösung (NaCl, Fresenius), Vollelektrolytlösung (VE, Infusionslösung 296 mval Elektrolyte, Baxter) oder physiologischer Erythrozyten-Protektionslösung (PEP, Braun Medical

AG) gewaschen. Die Zusammensetzung der Lösungen ergibt sich aus Tab. 1.

Folgende Schritte wurden dabei durchlaufen: Das EK wurde in das Sammelreservoir gefüllt und mit 500 ml 0,9%iger NaCl resuspendiert, in die Zentrifugenglocke gepumpt und durch Zentrifugation in Erythrozyten und Plasma aufgetrennt, mit 750 ml Waschlösung gewaschen und in den Retransfusionsbeutel gepumpt.

Die Parameter des Säure-Basen- (pH, $p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$) und des Metabolit-Status (cGlukose, cLaktat) wurden mit einem Blutgas-, Oxymetrie- und Elektrolytanalysator (ABL 625, Radiometer Kopenhagen) gemessen und die HCO_3^- -Konzentration des Plasmas sowie der Base Excess des Blutes automatisch vom Gerät berechnet.

Ergebnisse

Die an 100 gelagerten EK's erhobenen Daten sind in den Abb. 2 und 3 dargestellt. Es ist offensichtlich, dass trotz Lagerung bei 4°C mit zunehmender Lagerungsdauer Glukose im intrerythrocytären Kohlenhydratstoffwechsel zu Milchsäure (Laktat) metabolisiert wird. Die H^+ -Ionen der gebildeten Milchsäure führen nicht nur zu einem weiteren pH-Abfall, sondern werden auch vom HCO_3^- abgepuffert, was seinen Ausdruck in der Abnahme der cHCO_3^- findet. Das bei dieser Pufferung im quasi geschlossenen System neben H_2O entstehende CO_2 kann praktisch nicht über die Beutelwand entweichen und führt daher zu einem Anstieg des $p\text{CO}_2$. Damit nimmt der Base Excess von anfänglich -23 mmol/l kontinuierlich weiter ab.

Das Verhalten des Base Excess von weiteren insgesamt 11 gelagerten EK's mit und ohne Unterbrechung der Kühlkette ist in der Abb. 4 dargestellt.

Wieder nimmt der BE mit zunehmender Lagerungsdauer laufend ab, wieder von anfänglich -22 mmol/l ausgehend.

Tab. 1 Zusammensetzung der Waschlösungen (mmol/l) zur Aufbereitung der EK's: Isotone 0,9% NaCl (NaCl), Vollelektrolytlösung (VE) und physiologische Erythrozyten-Protektionslösung (PEP).

	NaCl	VE	PEP
Natrium	154	140	140
Kalium		5	4
Magnesium		1,5	
Chlorid	154	98	72,5
Bikarbonat			24
Phosphat			5
Azetat		27	10,5
Glukonat		23	
Glukose			5
Gelatine (%)			3,2

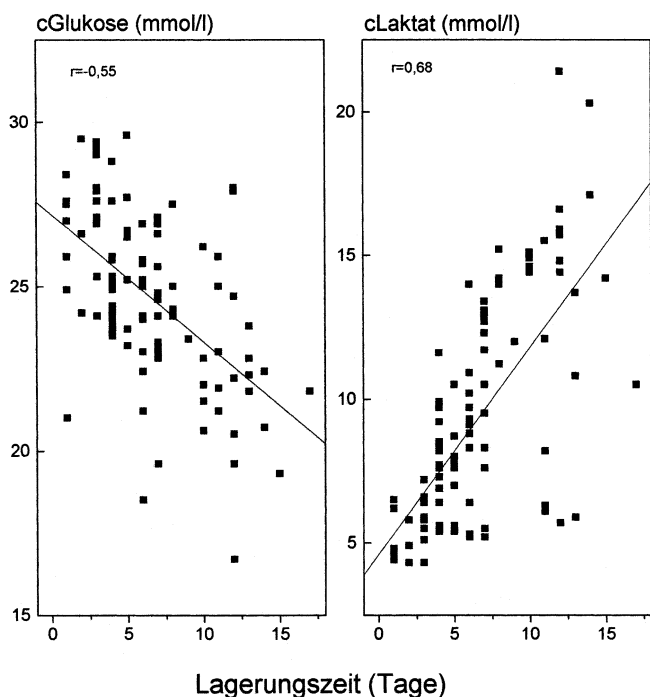


Abb. 2 Metabolit-Status von 100 EK's während Lagerung bei 4 °C, dargestellt als Glukose- und Laktat-Konzentration des Plasmas (mmol/l) als Funktion der Lagerungszeit (Tage): Mit zunehmender Lagerungsdauer wird Glukose im intraerythrozytären Kohlenhydratstoffwechsel zu Milchsäure (Laktat) metabolisiert (r = Korrelationskoeffizient).

Eine unbeabsichtigte Unterbrechung der Kühlkette zu Beginn der Untersuchung führt in einem zweiten Kollektiv dazu, dass der Ausgangs-BE bereits auf -27 mmol/l abgefallen ist, zurückzuführen auf die verstärkte Milchsäurebildung der Erythrozyten bei Raumtemperatur.

Die in einem Cellsaver gewaschenen je 20 EK's zeigen die in Abb. 5 angegebenen Daten des Säure-Basen-Status. Die Lagerungsdauer dieser EK's betrug zum Zeitpunkt der Untersuchung $8,2 \pm 6,2$ Tage (NaCl), $9,0 \pm 7,2$ Tage (VE) und $9,3 \pm 5,6$ Tage (PEP), wodurch der Ausgangs-BE bereits auf -30 bis -33 mmol/l abgefallen ist.

Wird ein EK mit einer Lösung ohne HCO_3^- (NaCl, VE) gewaschen, dann kann der saure pH nicht wesentlich verändert werden, aber die HCO_3^- -Konzentration und der pCO_2 werden auf praktisch 0 mmol/l bzw. mmHg gesenkt, was den BE nur noch weiter absinken lässt. Wird hingegen eine Waschlösung mit physiologischem Säure-Basen-Status eingesetzt, nämlich mit pH 7,40, pCO_2 40 mmHg und 24 mmol/l HCO_3^- , dann kann die HCO_3^- -Konzentration und der BE des EK's verbessert aber nicht normalisiert werden. Dazu wären nämlich größere Volumina an Waschlösung notwendig (vgl. dazu Zander in diesem Supplement).

Diskussion

Die untersuchten Erythrozytenkonzentrate weisen direkt nach ihrer Herstellung einen Base Excess von ca. -20 mmol/l auf, zurückzuführen auf die zweimalige Zugabe von sauren Lösungen, nämlich primär CPD (pH $\sim 6,0$) und sekundär SAG-M (pH

$\sim 5,0$). Die zugeführten H^+ -Ionen werden, vor allem im Plasma, vom HCO_3^- abgepuffert, dabei entsteht infolge der CO_2 -Freisetzung ein sehr hoher pCO_2 . Ein Großteil des noch vorhandenen HCO_3^- geht mit der Abtrennung des Plasmas verloren, so dass die Plasma- HCO_3^- -Konzentration im fertigen EK von physiologisch 24 auf etwa 13 mmol/l abgenommen hat (Abb. 3). Da der Erythrozyt mit physiologisch ca. 15 mmol/l eine deutlich niedrigere HCO_3^- -Konzentration aufweist als das Plasma, welches zudem entfernt wird, enthält das fertige EK nur noch etwa die Hälfte der ursprünglich ca. 20 mmol/l Pufferbase HCO_3^- im Blut. Damit entfällt etwa jeweils die Hälfte des BE auf das HCO_3^- des EK und das Hämoglobin der Erythrozyten.

Die unterschiedlichen Methoden der BE-Ermittlung, Blutgasanalysator vs. Titration, haben offensichtlich keinen Einfluss auf das Ergebnis (vergl. BE -23 mmol/l in Abb. 2 mit BE -22 mmol/l in Abb. 4).

Während der Lagerung eines EK nimmt der BE laufend weiter ab: Nach 2 Wochen ist er auf -35 mmol/l und nach 6 Wochen auf -50 mmol/l abgefallen (Abb. 3 und 4). Ursache hierfür ist die Milchsäure-Bildung der Erythrozyten, deren H^+ -Ionen über den Messwert Base Excess im Blut und deren Anion Laktat über die Laktatkonzentration im Plasma erfasst werden kann.

Inwieweit dieses Säurepotential eines Erythrozytenkonzentrates den Patienten belasten kann, soll mit folgender Abschätzung demonstriert werden.

Wenn im Rahmen einer Notfall- oder Massivtransfusion 9 alte EK's (6 Wochen Lagerung), also 3 Liter, transfundiert werden, eine eher vorsichtige Annahme [1], dann erhält der Patient insgesamt 150 mmol H^+ -Ionen, die bei einem angenommenen Extrazellulärraum von 15 l (20% von 75 kg KG) einen BE von -10 mmol/l verursachen.

Von diesen 150 mmol entfallen 60 mmol (3×20 mmol Ausgangs-BE) auf die zugeführten H^+ -Ionen (Zitronensäure, Dihydrogen-Phosphat) und 90 mmol (3×30 mmol BE-Änderung während Lagerung) auf Milchsäure.

Bei intakter Leberfunktion, im Schock während Notfall- oder Massivtransfusion eher unwahrscheinlich, könnte die Leber diese Beträge leicht in etwa 1 Stunde metabolisieren, intakte Nieren würden dazu etwa 1 Tag benötigen [8]. Damit wäre dann der negative BE wieder normalisiert. Unterläge der Arzt der „Versuchung“, diese Transfusionsazidose vollständig zu therapieren, z. B. durch Gabe von Natrium-Bikarbonat, wäre Stunden später nach Wiederherstellung der Leberfunktion mit einer Post-Transfusionsalkalose gleichen Ausmaßes zu rechnen (sogenannte Rebound-Alkalose).

Bei dieser Betrachtung wird unterstellt, dass der Großteil des Zitrates mit dem Entfernen des Plasmas (s. Abb. 1) aus dem EK eliminiert wurde. Diese Anmerkung ist deshalb wichtig, weil der Metabolismus des Zitrates in der Leber pro mol Zitrats 3 mol H^+ verbraucht, was häufig ebenfalls zu einer sogenannten Post-Transfusionsalkalose führen kann.

Gefrierplasma hat aus diesem Grunde eine erhebliche alkalisierende Wirkung beim Patienten [3].

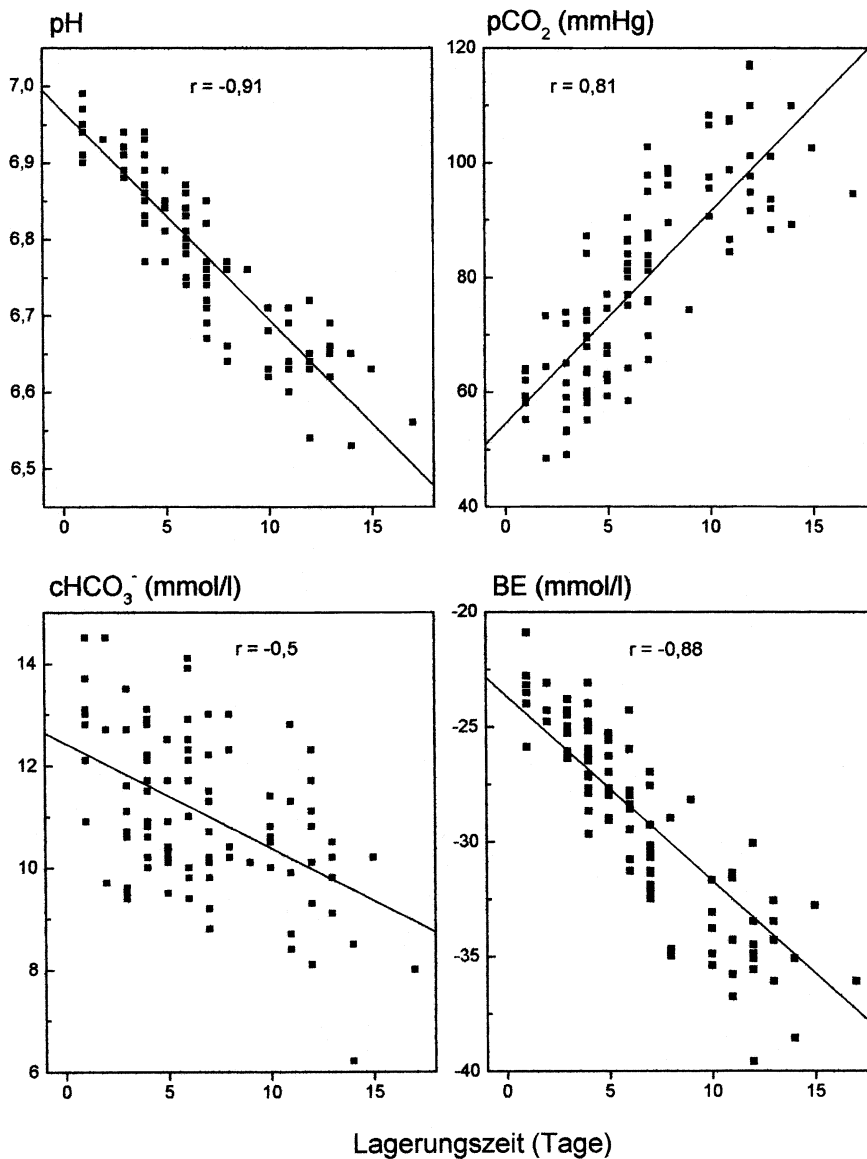


Abb. 3 Säure-Basen-Status von 100 EK's während Lagerung bei 4°C, dargestellt als pH-Wert, CO_2 -Partialdruck (pCO_2 , mmHg), berechneter HCO_3^- -Konzentration des Plasmas (mmol/l) und berechnetem Base Excess des Blutes (BE, mmol/l) als Funktion der Lagerungsdauer (Tage): Mit zunehmender Lagerungsdauer werden die H^+ -Ionen der gebildeten Milchsäure (pH-Abfall) vom HCO_3^- abgepuffert (Abnahme $cHCO_3^-$), was zu einem Anstieg des pCO_2 führt, da das aus HCO_3^- entstehende CO_2 kaum aus dem Beutel entweichen kann. Der BE nimmt von anfänglich -23 mmol/l kontinuierlich weiter ab (r = Korrelationskoeffizient).

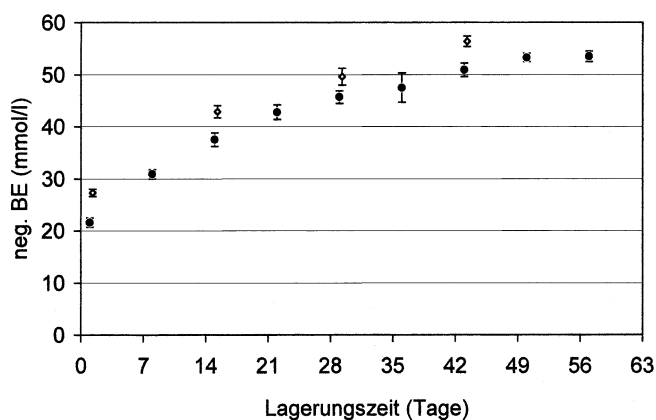


Abb. 4 Negativer Base Excess (BE, mmol/l) von EK's während Lagerung bei 4°C als Funktion der Lagerungszeit (Tage): Der jeweilige Mittelwert des BE von 5 EK's (●) bzw. 6 EK's (○) mit zugehöriger Standardabweichung nimmt mit der Lagerungsdauer laufend ab, von anfänglich -22 mmol/l (●) ohne Unterbrechung bzw. -27 mmol/l (○) mit kurzfristiger Unterbrechung der Kühlkette zu Beginn der Untersuchung, zurückzuführen auf die Milchsäurebildung der Erythrozyten.

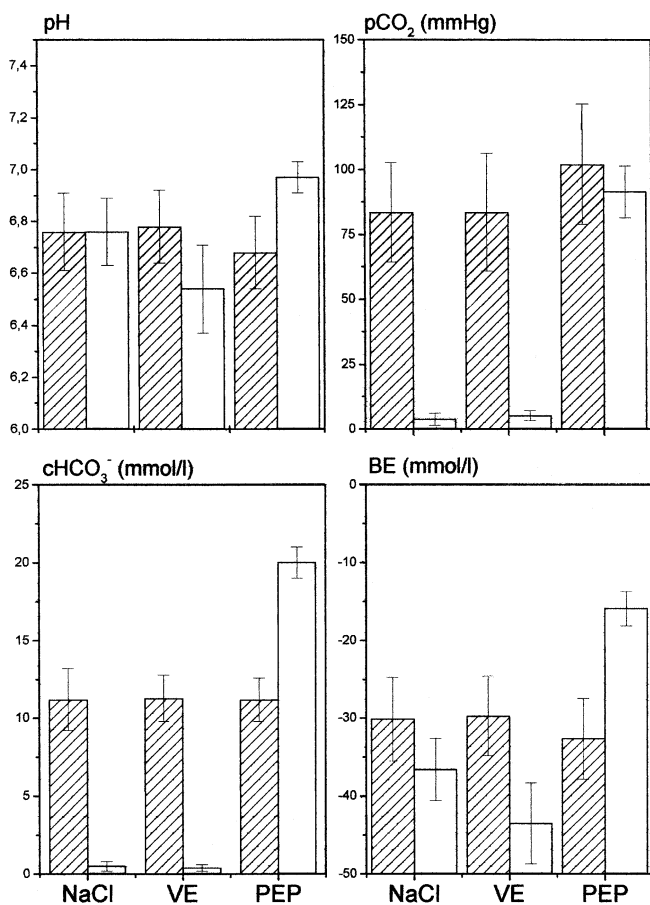


Abb. 5 Säure-Basen-Status von je 20 EK's vor (gestrichelt) und nach Waschen in einem Cellsaver mit isotoner Kochsalzlösung (NaCl), Vollelektrolytlösung (VE) oder physiologischer Erythrozyten-Protektionslösung (PEP), dargestellt als pH-Wert, CO₂-Partialdruck (pCO₂, mmHg), berechneter HCO₃⁻-Konzentration des Plasmas (mmol/l) und berechnetem Base Excess des Blutes (BE, mmol/l): Ein Waschvorgang ohne HCO₃⁻ (NaCl, VE) kann den sauren pH nicht wesentlich ändern, die HCO₃⁻-Konzentration und den pCO₂ auf praktisch 0 mmol/l bzw. mmHg senken und damit den negativen BE nur weiter absenken; eine Waschlösung mit physiologischem Säure-Basen-Status kann die HCO₃⁻-Konzentration und den BE verbessern aber nicht normalisieren.

Realistischer ist die Annahme, dass während Notfall- oder Massivtransfusion das zugeführte Volumen an EK's in der Größenordnung des Blutvolumens des Patienten liegt [1] und die Leberfunktion im Schock, unter Hypothermie oder in der anhepatischen Phase weitgehend ausgefallen ist [4]. In diesem Falle sollten nur möglichst frische EK's zum Einsatz kommen, um die Säurebelastung des Patienten von 250 mmol (5 l = 15 EK's mit einem BE von -50 mmol/l) mit einer drohenden Transfusionsazidose mit einem BE von -17 mmol/l (250 mmol in 15 l Extrazellularraum) zu vermeiden.

Das gleiche Volumen frischer EK's würde beim gleichen Patienten nur einen BE von -7 mmol/l verursachen.

Für die Pädiatrie wird empfohlen, EK's für Massivtransfusionen bei Neugeborenen und Säuglingen vor ihrem Einsatz durch Waschen aufzubereiten [2]. Aus diesem Grunde wurde in einer weiteren Versuchsreihe geprüft, welche Waschlösungen geeignet sein könnten, nicht nur Glukose, Laktat und Kalium zu

eliminieren, sondern auch den Säure-Basen-Status zu normalisieren.

Bei 8–9 Tage alten EK's gelingt dies offensichtlich nur zum Teil (Abb. 5):

Nur mit einer Waschlösung mit physiologischem Säure-Basen-Status, insbesondere normaler HCO₃⁻-Konzentration von 24 mmol/l (PEP, Tab. 1), gelingt es, den negativen BE von -32 auf -16 mmol/l zu halbieren. Dazu wurde ein gegenüber den Erythrozyten 10-fach größeres Volumen an Waschlösung benötigt. Für eine vollständige Normalisierung wären größere Volumina an Waschlösung notwendig. Orientierende Versuche (nicht dargestellt) haben gezeigt, dass ein 20-faches Volumen erforderlich ist, den BE bis auf 10% des Ausgangswertes zu bringen, also für das obige Beispiel von -32 auf -3 mmol/l.

Der Zusatz sogenannter metabolisierbarer Anionen zu einer Vollelektrolytlösung, hier Azetat und Glukonat (Tab. 1), kann beim Waschen von Erythrozyten in vitro nur eine Normalisierung der Chlorid-Konzentration von 154 mmol/l (0,9% NaCl) auf 100 mmol/l bewirken. Der funktionelle Ersatz des fehlenden HCO₃⁻ kann natürlich nur in vivo erfolgen, wenn die Leber diese Substanzen nach Zufuhr unter äquimolarem Verbrauch von H⁺-Ionen und damit Freisetzung von HCO₃⁻ metabolisieren kann.

Gewaschene Erythrozyten, wie sie intraoperativ unter Einsatz von Autotransfusionsgeräten gewonnen werden, haben als Ausgangsmaterial Normalblut ohne Stabilisatoren.

Allerdings erleiden auch diese Erythrozyten durch das Waschen mit physiologischer NaCl zwangsläufig einen HCO₃⁻-Verlust. Da die normale HCO₃⁻-Konzentration des Blutes bei normaler cHb von 15 g/dl, pCO₂ 40 mmHg und pH 7,40 etwa 20 mmol/l beträgt, kann der BE-Wert derartiger Präparationen im ungünstigsten Falle -20 mmol/l ausmachen. Dabei kann ein normaler pH-Wert einen normalen Säure-Basen-Status vortäuschen, tatsächlich aber liegt, wie eingangs beschrieben, ein BE von ca. -20 mmol/l vor [5].

Schlussfolgerungen

Erythrozytenkonzentrate weisen direkt nach Herstellung einen Base Excess von ca. -20 mmol/l auf, zurückzuführen auf die zweimalige Zugabe von sauren Lösungen, nämlich primär CPD und sekundär SAG-M. Während der Lagerung nimmt der BE dann infolge Milchsäurebildung der Erythrozyten laufend weiter ab, nach 2 Wochen ist er auf -35 mmol/l und nach 6 Wochen auf -50 mmol/l abgefallen. Wenn während Notfall- oder Massivtransfusion die Leberfunktion weitgehend ausgefallen ist, sollten nur möglichst frische EK's zum Einsatz kommen, um die Säurebelastung des Patienten im Sinne einer drohenden Transfusionsazidose zu vermeiden. Bei intakter Leberfunktion könnte die Leber die zugeführten H⁺-Ionen in wenigen Stunden metabolisieren, intakte Nieren würden dazu etwa einen Tag benötigen. Für die Pädiatrie wird empfohlen, EK's für Massivtransfusionen vor ihrem Einsatz durch Waschen aufzubereiten, auch um den Säure-Basen-Status zu normalisieren. Dies gelingt nur mit einer Waschlösung mit physiologischer HCO₃⁻-Konzentration, allerdings werden dazu größeren Volumina an Waschlösung benötigt.

Literatur

- ¹ Jones J, Engelfriet CP. Massive blood replacement. *Vox Sang* 1999; 77: 239–250
- ² Luban NLC, Strauss RG, Hume HA. Commentary on the safety of red cells preserved in extended-storage media for neonatal transfusions. *Transfusion* 1991; 31: 229–235
- ³ Schmitt HJ. Störungen des Säure-Basen-Haushaltes durch Blutprodukte. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1995; 30 (Suppl. 1): 62–64
- ⁴ Schmitt HJ, Lackes S. Massive transfusion and its influence on oxygen transport and electrolyte balance. *Infus Ther Transfus Med* 2000; 27: 68–78
- ⁵ Singbartl C, Bauermann E, Munkel H, Linde I. Acid-base parameters in mechanically-processed salvaged wound blood. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1998; 33: S 401
- ⁶ Zander R. Diskussionsbeitrag. *Klin Wochenschr* 1988; 66 (Suppl. XV): 53
- ⁷ Zander R. Physiologie und Klinik des extrazellulären Bikarbonat-Pools: Plädoyer für einen bewußten Umgang mit HCO_3^- . *Infusionsther Transfusionsmed* 1993; 20: 217–235
- ⁸ Zander R. Lebermetabolismus und Säure-Basen-Haushalt. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1995; 30 (Suppl. 1): 48–51

Prof. Dr. med. R. Zander

Institut für Physiologie und Pathophysiologie
Universität Mainz
Saarstraße 21
55099 Mainz