Universitätsklinikum Ulm

Klinik für Kinder- und Jugendmedizin

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Klaus-Michael Debatin

Beurteilung der laparoskopischen subtotalen Splenektomie bei Patienten mit hereditärer Sphärozytose hinsichtlich der Behandlung der Grunderkrankung und der Milzfunktion

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

von Alica Leonora Münch, geborene Egeler

aus

Sindelfingen

2022

Amtierender Dekan: Prof. Dr. rer. nat. T. Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Holger Cario

2. Berichterstatter: PD Dr. med. Frank Stegelmann

Tag der Promotion: 11.05.2023

Teile dieser Dissertation sind bereits in folgendem Fachartikel erschienen:

Münch AL, Jacobsen E-M, Schulz A, Loichinger W, Wowra T, Schiefele L, Elsner J, Westhoff M-A, Serra A, Strauss G, Schaarschmidt K, Cario H: Long-term haematological response and maintained immunological function after laparoscopic subtotal splenectomy in patients with hereditary spherocytosis. European Journal of Haematology, 111: 777-786(2023). doi:10.1111/ejh.14077

Lizenziert unter CC BY-NC-ND 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS I

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS III

1 EINLEITUNG 1

1.1 Hereditäre Sphärozytose - Grundlagen, Klinik, Behandlung 1

1.2 Milz - Aufbau und Funktion 2

1.3 Entwicklung der B-Lymphozyten 3

1.4 Methoden zur Erfassung der Milzfunktion 4

1.5 Subtotale und totale Splenektomie bei Sphärozytose 6

1.6 Fragestellung 7

2 MATERIAL UND METHODEN 9

2.1 Beschreibung des Kontrollkollektivs 9

2.2 Beschreibung des Patientenkollektivs 10

2.3 Effektivität bezüglich der Grunderkrankung 13

2.4 Phasenkontrastmikroskopie zur Untersuchung von „Pitted Erythrocytes“ 14

2.5 Lichtmikroskopie zur Untersuchung von argyrophilen Einschlüssen 17

2.6 B-Zell Immunphänotypisierung 17

2.7 Statistische Datenauswertung 21

2.8 Bewertung durch die Ethikkommission 23

3 ERGEBNISSE 24

3.1 Effektivität bzgl. der Grunderkrankung 24

3.2 Bestimmung von „Pitted Erythrocytes“ 38

3.3 B-Zell Immunphänotypisierung 44

3.4 Gegenüberstellung von pitE und B-Zell Immunphänotypisierung 85

3.5 Selektive Milzszintigraphie 91

4 DISKUSSION 92

4.1 Effektivität bzgl. der Grunderkrankung 92

4.2 Retikulohistiozytäre Funktion 104

4.3 Immunologische Funktion 108

4.4 Gegenüberstellung von pitE und B-Zell Immunphänotypisierung 119

4.5 Selektive Milzszintigraphie 119

4.6 Schlussfolgerung 121

5 ZUSAMMENFASSUNG 123

6 DANKSAGUNG 125

7 LEBENSLAUF 126

8 LITERATURVERZEICHNIS 127

Abkürzungsverzeichnis

AB -Antibiotika

AWMF -Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.

AGLT -Acidified Glycerol Lysis Test

AI -Argyrophilic Inclusion(s)

ASS -Acetylsalicylsäure

CCE -Cholecystektomie(n)

CCO -Cholecystotomie(n)

CD -Cluster of Differentiation

d -Tag(e)

EDTA -Ethylendiamintetraacetat

EMA -Eosin-5‘-Maleimid-Bindungs-Assay

ERCP -Endoskopisch-Retrograde-Cholangio-Pankreatikographie

FACS -Flourescence-activated cell sorter

FCS -fötales Kälberserum

FITC -Fluorescein-Isothiocyanat

Hb -Hämoglobin

HJK -Howell-Jolly-Körperchen

HS -Hereditäre Sphärozytose

J -Jahr(e)

Ig -Immunglobulin(e)

LCS -ultrasonic laparoscopic coagulation shears

Max -Maximalwert

Min -Minimalwert

MNC Mononucleäre Zelle(n)

moAk -monoklonaler Antikörper

MW -Mittelwert

MZ -Marginalzone(n)

neg -negativ (fehlende Oberflächenexpression bei der Immunphänotypisierung)

ni -niedrig (niedrige Oberflächenexpression bei der Immunphänotypisierung)

NTS -Near-Total Splenektomie

Op -Operation

OPSI -overwhelming post-splenectomy-infection

PALS - periarterielle Lymphscheide

PB -peripheres Blut

PBS -Phophat-gepufferte-Salzlösung

pitE -“Pitted Erythrocyte(s)”

po -postoperativ

pos -positiv (vorhandene Oberflächenexpression bei der Immunphänotypisierung)

Q -Quantil(e)

rel -relativ

Reti -Retikulozyt(en)

Rpm -Umdrehungen pro Minute

RT -Raumtemperatur

SD -Standardabweichung

SOP -Standard Operating Procedere

SPSS -Statistical Package for the Social Sciences

Tc-99m -Technetium-99m

1 Einleitung

1.1 Hereditäre Sphärozytose - Grundlagen, Klinik, Behandlung

Die Hereditäre Sphärozytose (HS) ist bei Weitem die häufigste angeborene hämolytische Anämie bei Personen mit einem nord- oder mitteleuropäischen Hintergrund, gehört aber zu den seltenen Erkrankungen [8]. Bei der Sphärozytose handelt es sich um eine genetische Erkrankung aufgrund unterschiedlicher Mutationen, die zu Veränderungen des Zytoskeletts der Erythrozyten führt. Das Membranskelett stärkt die Lipiddoppelschicht und verleiht der Membran die Haltbarkeit und Flexibilität, um zu überleben. Die verschiedenen genetischen Mutationen führen zu einem Mangel an Erythrozytenmembranproteinen wie Bande-3-Protein, α-Spektrin, β-Spektrin oder Ankyrin [38]. Die bikonkave Form des Erythrozyten wird aufgrund verminderter Verformbarkeit und Flexibilität aufgelöst und die Zellen nehmen eine Kugelform an. Diese veränderte Form führt zu einem rascheren Abbau der Erythrozyten in der Milz mit daraus resultierender Anämie [38]. Die Diagnosestellung erfolgt mit einer Kombination des Glycerol-Lyse-Tests zur Bestimmung der osmotischen Fragilität und des Eosin-5‘-Maleimid-Bindungs-Assays (EMA), einer durchflusszytometrischen Analyse von mit Eosin-5‘-Maleimid markierten Erythrozyten [7]. Acidified Glycerol Lysis Test (AGLT) und EMA zusammen erreichen eine Sensitivität von 100 % sowie eine hohe Spezifität (EMA 98 %) [7]. Eine Anämie, ein Skleren- bzw. generalisierter Ikterus sowie eine Splenomegalie stellen die Leitbefunde der Erkrankung dar [19]. Die durch vermehrte Hämolyse gebildeten Bilirubinsteine können asymptomatisch bleiben oder zu einem Verschlussikterus führen. „Hämolytische Krisen zeigen sich nach dem ersten Lebensjahr wiederholt vor allem im Rahmen interkurrenter Infektionen [19].“ Die Grunderkrankung kann durch Virusinfektionen (Epstein-Barr-Virus, Parvovirus B19) exazerbieren. „Die Bestimmung der Hämoglobin- und Bilirubinkonzentration sowie der Retikulozytenzahl erlaubt eine Einteilung der HS in vier Schweregrade: leichte, mittelschwere, schwere und sehr schwere Form [19].“ Patienten, die an einer leichten Form leiden, können bis ins Erwachsenenalter asymptomatisch bleiben. Für Patienten, die unter mittelschwerer Sphärozytose mit rezidivierenden hämolytischen Krisen und wiederholtem Transfusionsbedarf leiden und für Patienten mit schwerer und sehr schwerer Sphärozytose wird in den entsprechenden Leitlinien die

subtotale oder totale Splenektomie empfohlen, um eine Verminderung der Hämolyse und der daraus resultierenden Anämie zu erlangen [19].

1.2 Milz - Aufbau und Funktion

Im Milzgewebe unterscheidet man die rote und die weiße Milzpulpa [14, 31]. Die rote Milzpulpa wird aus Blutgefäßen gebildet und nimmt den größten Teil mit etwa 75 % des Milzgewebes ein. Die weiße Milzpulpa ist in die Rote eingebettet und besteht aus Immunzellen. Die weiße Pulpa bildet dabei eine periarterielle Lymphscheide (PALS) und ist stellenweise verdickt, um Lymphfollikel/ Malpighi-Körperchen zu bilden [25] (Abb. 1). Die Marginalzone (MZ) umgibt die Lymphfollikel und trennt die weiße von der roten Pulpa [25]. Die B-Lymphozyten sind in den Lymphfollikeln und in der Marginalzone enthalten, die T-Lymphozyten sind in der PALS lokalisiert. Die Milz ist ein Organ innerhalb des Immunsystems.

Die Milz stellt ein retikulohistiozytäres System als Ort der Reifung und Phagozytose dar [54]. Retikulozyten (Reti) durchlaufen hier ihre letzten Differenzierungsschritte, wie Membranreduktion und Entfernung eisenhaltiger Granula [11, 14]. Die hämatologische Bedeutung der Milz liegt zudem in der Zellmauserung durch Phagozytose erythrozytärer Abbauprodukte, in der Elimination gealterter, anomaler, intrinsisch defekter, durch Antikörper opsonierter oder durch andere externe Einflüsse veränderter Blutzellen (Erythrozyten, Thrombozyten) und in der Entfernung von Zellresten aus zirkulierenden Erythrozyten [21]. Da der Abbau der anomalen Erythrozyten bei der HS ganz überwiegend in der Milz stattfindet, sind durch eine Splenektomie sämtliche unmittelbaren klinischen Folgen der HS behandelbar. Diese kann den raschen Abbau der pathologischen Erythrozyten und die hämolytischen Krisen bei Patienten mit Sphärozytose verhindern. Aus dieser Funktion ergibt sich auch das damit verbundene erhöhte Risiko für arterielle und venöse thromboembolische Komplikationen, die maßgeblich durch die erhöhte Thrombozytenzahl und den reduzierten Abbau geschädigter, prothrombogener Erythrozyten bestimmt werden [38, 49].

Eine zentrale immunologische Funktion besitzt die Milz im allgemeinen Kontext der B-Zellentwicklung, der Antigenpräsentation und der Reifung des Immunsystems, die

insbesondere bei der Abwehr bekapselter Bakterien wichtig ist. Patienten nach Splenektomie zeigen lebenslang ein deutlich erhöhtes Risiko, an einer fulminant verlaufenden Infektion durch bekapselte Bakterien zu erkranken, an welcher 0,1 - 0,4 % aller Kinder nach Splenektomie versterben [18]. Es wird daher empfohlen, Impfungen gegen Pneumokokken, Meningokokken und Haemophilus influenzae Typ B spätestens 2 Wochen vor einer elektiven Operation (Op) zu verabreichen [1, 2, 30, 34]. „Idealerweise sollte die Impfung möglichst vor der Splenektomie durchgeführt werden [30].“

Die folgende Grafik (Abb. 1) verdeutlicht den Aufbau der Milz noch einmal.

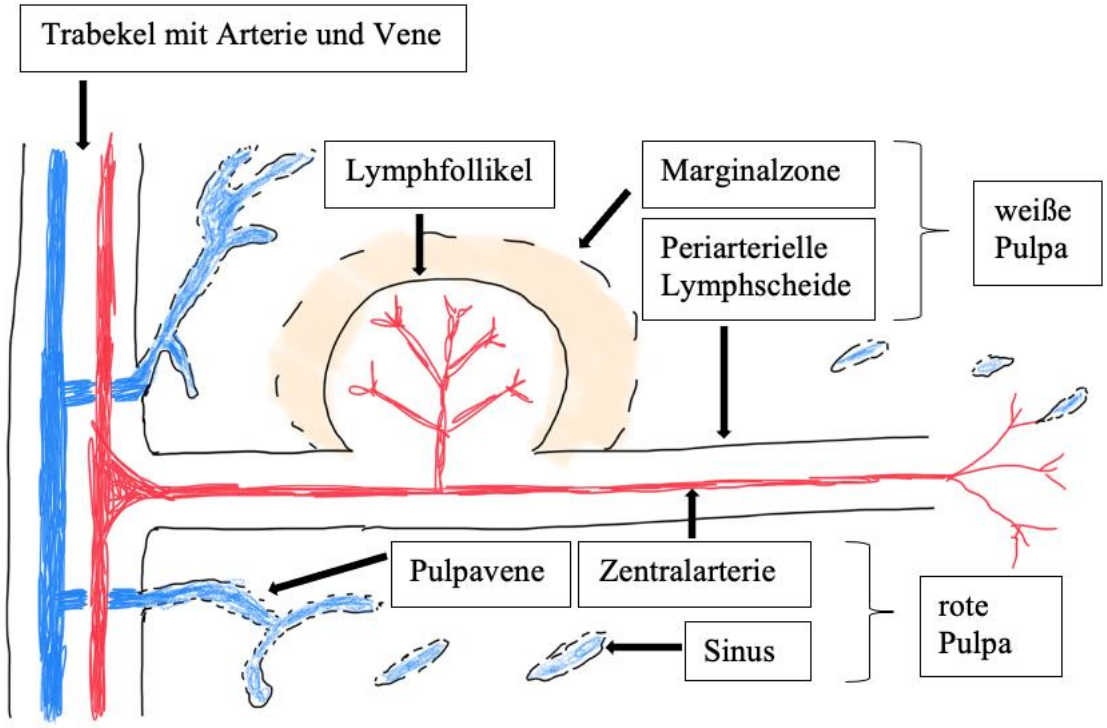

Abb. 1: Milzaufbau mit roter und weißer Pulpa, in Anlehnung an [16]

1.3 Entwicklung der B-Lymphozyten

B-Lymphozyten sind charakterisiert durch die Expression linienspezifischer Antigene sogenannter Cluster of Differentiation (CD) wie CD19 und CD20. Darüber hinaus lassen sich verschiedene Reifungsstufen der B-Lymphozyten anhand ihrer Oberflächenmarker unterscheiden: Bereits ab einer frühen Phase der B-Zell Reifung im Knochenmark wird CD19 und CD20 exprimiert. Es folgt die Rekombination und Expression von

Immunglobulin (Ig) M, welches auf reifen, Naiven B-Zellen gemeinsam mit IgD (IgM+IgD+) vorliegt. Neu emigrierte B-Lymphozyten aus dem Knochenmark werden als Transitionale B-Zellen bezeichnet. Sie wandern in die Milz bzw. Lymphknoten und entwickeln sich dort zu follikulären B-Zellen, die als Naive B-Zellen zwischen den sekundären lymphatischen Organen und dem Blut zirkulieren [3, 48]. In den Marginalzonen der sekundären lymphatischen Organe entwickeln sich aus Transitionalen B-Zellen MZ B-Zellen. Diese werden auch als natürliche Effektor-B-Zellen bezeichnet, da sie unabhängig von T-Zellen aktiviert sind und den Memory-Zell-Marker CD27 exprimieren. In der Peripherie werden sie als MZ-like B-Zellen bezeichnet [16, 33, 61]. Wenige IgM+IgD+ naive B-Zellen, führen einen Klassenswitch zu IgM oder selten auch zu IgD durch und verlieren den jeweils anderen Marker. Sie werden dann als „IgM-only“ bzw. „IgD-only“ B-Zellen bezeichnet [3, 60]. Follikuläre B-Zellen werden in den Keimzentren der sekundären lymphatischen Organe T-Zell abhängig stimuliert, was zu einer weiteren Differenzierung der Zellen in CD27+ Memory B-Zellen führt [3]. Diese Zellen haben einen sogenannten Isotypenswitch durchgeführt, werden als „switched memory cells“ bezeichnet und exprimieren IgA oder IgG [16, 33]. B-Lymphozyten können nach Antigenkontakt und Klassenswitch weiter zu Plasmablasten differenzieren. Diese sind durch eine fehlende CD20 Expression gekennzeichnet, wandern über das Blut ins Knochenmark, wo sie sich zu Immunglobulin produzierenden Plasmazellen entwickeln. Ausreifungsstörungen der B-Lymphozyten äußern sich z.B. in einem erhöhten Anteil Naiver B-Zellen (IgM+, IgD+ CD27-) und/ oder Transitionaler B-Zellen [33]. So gilt der Nachweis von Switched Memory B-Zellen (IgM- CD27+) als eine Voraussetzung für die normale Funktionalität der B-Lymphozyten zur Produktion von Immunglobulinen [33].

1.4 Methoden zur Erfassung der Milzfunktion

Derzeit stehen verschiedene Möglichkeiten zur Untersuchung der Milzfunktion zur Verfügung [35]. Als Goldstandard gilt die Milzszintigraphie [57]. Hierbei werden Technetium-99m (Tc-99m) markierte Erythrozyten eingesetzt, die im Milzgewebe angereichert werden, so dass selektiv im Sinne der Phagozytose aktives Milzgewebe dargestellt werden kann. Sie gilt als zuverlässigste Methode, bedeutet jedoch einen großen technischen Aufwand, sowie eine Strahlenbelastung für den Patienten [57]. Zudem werden immunologische Funktionen der Milz, die über die Phagozytose hinausgehen, nicht erfasst.

Zwei Übersichtsarbeiten von Sabatino et al. und de Porto et al. geben einen guten Überblick über die zur Verfügung stehenden Methoden zur Beurteilung der Milzfunktion [14, 16].

Da die Milz neben pathologisch veränderten auch alte Erythrozyten aus dem Blutkreislauf filtert, lässt die Bestimmung des Anteils der „alten“ Erythrozyten eine Bewertung der phagozytären Funktion des Milzgewebes zu. Sowohl das Auszählen von Erythrozyten mit Silbereinschlusskörperchen („Argyrophilic Inclusions“ (AI)), als auch das von „Pitted Erythrocytes“ (PitE) nutzen diese Filterfunktion zur Evaluierung der Milzfunktion. Bei mit Glutaraldehydpuffer fixierten Erythrozyten können bei älteren Erythrozyten im Differenzial-Interferenz-Kontrastmikroskop mit Nomarski-Optik Vakuolen mit Zelldetritus unter der Zelloberfläche nachgewiesen werden. Erythrozyten mit diesen Veränderungen werden als „Pitted cells“ bezeichnet [36]. Es wurde gezeigt, dass der Anteil PitE bei Patienten nach Splenektomie mit > 18 % im Vergleich zu < 2 % bei Patienten mit normaler Milzfunktion deutlich erhöht ist [50]. Auch bei den „Argyrophilic Inclusions“ geht man davon aus, dass Zelldetritus angefärbt wird. Ein Blutausstrich wird mit einer Silbernitrat-Lösung angefärbt, anschließend werden im Lichtmikroskop die Erythrozyten mit Silbereinschlusskörperchen ausgezählt. Bei einem Anteil von ≤ 3 % AI kann von einer normalen Milzfunktion ausgegangen werden [57]. Die Silbernitratfärbung ist analog zur Färbung der Howell-Jolly-Körperchen (HJK) anzusehen. HJK eignen sich jedoch nicht zur quantitativen Bestimmung der Milzfunktion, da sie nur in sehr geringer Zahl mit ca. 1/ 1000 - 5000 Erythrozyten auftreten [41]. HJK werden im Blutausstrich nach Pappenheim Färbung (Kombination von May-Grünwald-Färbung und Giemsa Färbung) gezählt [50]. Sie bestehen aus Kernresten. Durch die pathologische Fragmentierung des Erythroblastenkerns verbleibt ein kleines Stück des Zellkerns, welches vom Rest separiert wird und nicht ausgestossen wird. Zurück bleibt der Howell-Jolly-Körper. Zu einer vermehrten Entstehung von HJK kommt es z.B. bei megaloblastärer Erythropoese (Vitamin B12- oder Folsäuremangel) und bei schweren hämolytischen Anämien (Anämietypen mit verkürzter Überlebensdauer der Erythrozyten in der Peripherie). Normalerweise werden sie durch das sogenannte „Pitting“ in der Milz aus den peripher zirkulierenden Erythrozyten entfernt [21].

Wie bereits angesprochen, besitzt die Milz auch eine wichtige immunologische Funktion jenseits der Phagozytose. Mit der Frage, inwieweit das Fehlen der Milz einen Einfluss auf die B-Zellfunktion und Subpopulationen besitzt, wurden von Kruetzmann et al. B-Zell-Subpopulationen im peripheren Blut mittels Durchflusszytometrie untersucht [33, 60, 61]. Splenektomierte und asplenische Patienten zeigten eine Reduktion einer B-Zell-Subpopulation im peripheren Blut, nämlich der IgM Memory B-Zellzahl (relative (rel) Memory B-Zellzahl: 7,1 % bei asplenischen oder splenektomierten (2 % IgM -, 6 % Switched Memory B-Zellzahl) versus 45,9 % bei Patienten der Kontrollgruppe) [34]. Die Autoren zeigten, dass ein Fehlen von IgM Memory B-Zellen und Serum-IgM im peripheren Blut mit einer erhöhten Anfälligkeit für Infektionen mit Pneumokokken verbunden sind, da normalerweise Makrophagen die IgM opsonierten Bakterien beseitigen [33].

1.5 Subtotale und totale Splenektomie bei Sphärozytose

Mit dem Ziel, den Patienten weiterhin die immunologische Funktion der Milz zu erhalten und dennoch gleichzeitig eine Reduktion der Hämolyse zu erlangen, wurde in den letzten Jahren (J) zunehmend die teilweise Entfernung der Milz zur Therapie der Sphärozytose eingesetzt. In verschiedenen Studien konnte dabei eine Minderung der Hämolyse mit daraus resultierender Stabilisierung der Hämoglobinkonzentration und dabei ein Erhalt einer Restmilzfunktion gezeigt werden [5, 13, 52, 53, 56]. Nach Teilsplenektomie unter Belassung eines größeren Milzanteils kam es bei einigen Patienten nach initialer Reduktion durch das Nachwachsen von Milzgewebe zu einer erneut ausgeprägten Hämolyse [13, 44, 55]. Dies machte eine Nachresektion bis hin zur totalen Splenektomie notwendig.

Stoehr et al. veröffentlichten z.B. eine Methode zur offenen Near-Total Splenektomie (NTS), bei der das Milzgewebe bis auf einen minimalen Rest (Zylinder mit ca. 10 cm^3 Volumen) entfernt wird [52, 53]. Diese führte bei den operierten Patienten zur Reduktion der Hämolyse und Stabilisierung des Hämoglobins (Hb). Zugleich gaben die Daten Hinweise auf ein besseres Ansprechen auf eine Meningokokken-Impfung bei Patienten nach subtotaler Milzentfernung im Vergleich zur Gruppe der Patienten nach kompletter Milzentfernung. Meningokokken zählen zur Gruppe der bekapselten Bakterien, sodass diese Beobachtung auf eine immunologische Restfunktion der Milz hinweist [51]. Bader-

Meunier et al. und Pincez et al. zeigten, dass der Erhalt einer phagozytischen Funktion bei der subtotalen Splenektomie gelingt [5, 43]. Die NTS wurde als empfohlene Operationstechnik in die Leitlinie der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF) zur Therapie der Sphärozytose übernommen [19].

Neben den offenen Operationsverfahren per Laparatomie sind in der Abdominalchirurgie u.a. auch für die Splenektomie in den letzten Jahren zunehmend laparoskopische Verfahren eingesetzt worden. Diese haben in der Hand des erfahrenen Operateurs in der Regel den Vorteil der schnelleren Rekonvaleszenz des Patienten nach der Op. Für die Totalsplenektomie via Laparoskopie gibt es publizierte Daten, die die gute Machbarkeit, das geringe Komplikationsrisiko und eine rasche postoperative (po) Rekonvaleszenz aufzeigen [23]. Dieser Umstand trifft in noch stärkerem Maße zu, wenn parallel zur Milz-Op eine Gallenblasen-Operation erfolgen soll. Dies ist bei vielen Patienten der Fall, da teilweise erst die therapiebedürftige Cholecystolithiasis zur Indikation auch für die Milz-Op führt. Für die Patienten relevant an der Laparoskopie ist zudem die geringere Beeinträchtigung durch Narben.

Vor dem Hintergrund der genannten potentiellen Vorteile laparoskopischer Verfahren wurden bei 33 Patienten von 2002 bis 2018 laparoskopische subtotale Splenektomien durchgeführt.

1.6 Fragestellung

Ziel dieses Projektes war es, die Effektivität der laparoskopischen subtotalen Splenektomie hinsichtlich der Behandlung der Grunderkrankung (Reduktion der Hämolyse) sowie der Sicherung der Restfunktion der Milz nach zu untersuchen und damit die Wirksamkeit dieses Verfahrens, dessen klinische Effektivität bei individuellen Sphärozytose-Patienten gut erkennbar war, systematisch zu evaluieren. Verglichen wurden Daten von Patienten mit Sphärozytose ohne Splenektomie (Gruppe 1), nach subtotaler Splenektomie (Gruppe 2) und nach totaler Splenektomie (Gruppe 3), sowie Daten einer Gruppe hämatologisch gesunder Kontrollen (Gruppe 4). Die Restmilzfunktion wurde im Rahmen dieser Studie

sowohl anhand der bestehenden phagozytären, als auch anhand der zellulären immunologischen Restfunktion der Milz bestimmt.

Die Evaluation der Effektivität bezüglich der Grunderkrankung erfolgte anhand der postoperativen Blutbilder im postoperativen Langzeitverlauf mittels Hämoglobin-Wert und Hämolyseparametern (Gesamtbilirubin-Konzentration, relative Retikulozytenzahl).

Die im Rahmen dieses Projektes durchgeführten Untersuchungen erlaubten eine Bewertung der Milzfunktion anhand der Untersuchung von Blutproben bzgl. „Pitted Erythrocytes“ sowie IgM Memory B-Zellen.

2 Material und Methoden

Studiendesign:
Bei der Studie handelte es sich um eine klinisch Studie, welche sich aus zwei Studienkollektiven zusammensetzte. Die Datenerhebung im Rahmen der Studie erfolgte prospektiv im Zeitraum von 2014 bis 2018 sowie zu Teilen retrospektiv in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums Ulm.

Aufklärung:
Die Aufklärung erfolgte durch die betreuenden Ärzte. Die Einverständniserklärung wurde von den Patienten bzw. Erziehungsberechtigten unterschrieben.

2.1 Beschreibung des Kontrollkollektivs

Als Kontrollen dienten Gesunde ohne hämatologische Grunderkrankung. Diese werden im Folgenden als Gruppe 4 benannt. Die Rekrutierung der Kontrollen erfolgte aus der Gerinnungsambulanz der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Ulm. Für die Altersgruppe 4 wurden Referenzwerte benutzt, die auf der Basis von Zellen von Blutspendern im Immunologielabor erarbeitet wurden. Bei der Auswahl galt eine Grunderkrankung des hämatologischen oder lymphatischen Systems als Ausschlusskriterium.

Für die PitE Erhebung konnten 29 Messungen im Kontrollkollektiv erfolgreich durchgeführt werden (Tbl. 1). 16 Proben konnten aus oben genannten Gründen nicht ausgewertet werden.

Dabei interessierten uns jeweils der Minimalwert (Min), der Maximalwert (Max) sowie der Mittelwert (MW).

Tbl. 1: Beschreibung des Kontrollkollektivs für „Pitted Erythrocytes“ anhand verschiedener Merkmale; Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Kontrollen	**Geschlecht** w/m	**Alter (J)** MW (Min - Max)
n = 29	12/17	8,1 (2,8 - 17,4)

Für die Immunphänotypisierung (Tbl. 2) erfolgte die Einteilung der Kontrollen nach Alter, da sich die Zusammensetzung der B-Zell Population im peripheren Blut mit dem Lebensalter verändert [33]. Die Zuordnung erfolgte in 4 verschiedene Altersgruppen (Altersgruppe 1: 2 - 5 J, Altersgruppe 2: 5 - 10 J, Altersgruppe 3: 10 - 16 J, Altersgruppe 4: > 16 J). Die Werte der B-Zell Immunphänotypisierung sind geschlechtsunabhängig [42].

Tbl. 2: Beschreibung des Kontrollkollektivs für Immunphänotypisierung anhand verschiedener Merkmale; Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Kontrollen	**Geschlecht** w/m	**Alter (J)** MW (Min - Max)
Altersgruppe 1 (2 - 5 J) (n = 9)	1/8	3,1 (2,8 - 4,9)
Altersgruppe 2 (5 - 10 J) (n = 9)	3/6	5,8 (5,3 - 7,5)
Altersgruppe 3 (10 - 16 J) (n = 9)	6/3	14,6 (10,3 - 15,8)
Altersgruppe 4 (> 16 J) (n = 18)	unbekannt	unbekannt (16,6 - 56,3)

2.2 Beschreibung des Patientenkollektivs

Alle 54 eingeschlossenen Patienten hatten eine gesicherte Sphärozytose (mittels Kombination AGLT und EMA) und waren zum Zeitpunkt der Untersuchung im Alter von 5,2 bis 27,4 Jahren (Tbl. 1). Zusätzlich wurden 6 erkrankte Elternteile der Patienten im Alter von 38,0 bis 55,3 Jahren untersucht. Insgesamt umfasste das Kollektiv damit 60 Patienten. Die Rekrutierung der Patienten mit Sphärozytose erfolgte aus der hämatologischen Ambulanz der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Ulm. Die Patienten wurden anhand der durchgeführten Intervention in 3 Gruppen unterteilt (Tbl. 3). Die Messungen von Gruppe 2 und 3 wurden postoperativ durchgeführt. Bei 11 Patienten (Gruppe 2: n = 9, Gruppe 3: n = 2) wurden keine Spezialuntersuchungen zur Milzfunktion, sondern nur reguläre klinische postoperative Verlaufskontrollen durchgeführt.

Einteilung der Patientengruppen:

Gruppe 1: ohne Op

Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie

Gruppe 3: nach totaler Splenektomie

Tbl. 3: Beschreibung des Patientenkollektivs anhand bestimmter Merkmale; Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2000 bis 2019

Patienten	**Geschlecht** w/m	**Alter (J)** MW (Min - Max)	**Postoperative Jahre (J)** MW (Min - Max)
Gruppe 1 (n = 13)	6/7	12,9 (5,2 - 27,4)	
Gruppe 2 (n = 33)	14/19	14,9 (5,4 - 25,7)	5,5 (0 - 15,3)
Gruppe 3 (n = 14)	11/3	31,0 (12,5 - 55,3)	17,4 (0 - 45,3)

Für die PitE Messungen (Tbl. 4) waren 2 Proben der Gruppe 3 nicht auswertbar. Bei 4 Patienten wurden zusätzlich vor Splenektomie Messungen durchgeführt, die zu der Gruppe 1 gezählt wurden.

Tbl. 4: Beschreibung des Patientenkollektivs für „Pitted Erythrocytes“ anhand bestimmter Merkmale; Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patienten	**Geschlecht** w/m	**Alter (J)** MW (Min - Max)	**Postoperative Jahre (J)** MW (Min - Max)
Gruppe 1 (n = 17)	9/8	12,9 (5,2 - 27,4)	
Gruppe 2 (n = 24)	12/12	14,8 (5,4 - 24,9)	6,0 (0,3 - 15,3)
Gruppe 3 (n = 10)	8/2	33,0 (12,5 - 55,3)	19,1 (1,6 - 45,3)

Für die Immunphänotypisierung (Tbl. 5) waren die Proben von 2 Patienten der Gruppe 1 nicht auswertbar. Bei 6 Patienten wurden zusätzlich vor Splenektomie Messungen durchgeführt, die zu der Gruppe 1 gezählt wurden. Die Zuordnung erfolgte in 4

verschiedene Altersgruppen (Altersgruppe 1: 2 - 5 J, Altersgruppe 2: 5 - 10 J, Altersgruppe 3: 10 - 16 J, Altersgruppe 4: > 16 J).

Tbl. 5: Beschreibung des Patientenkollektivs für Immunphänotypisierung anhand bestimmter Merkmale (alle Altersgruppen); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, J = Jahre, po = postoperativ, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

	Geschlecht w/m	**Alter (J)** MW (Min - Max)	**Po. Jahre (J)** MW (Min - Max)
Gruppe 1			
Altersgruppe 2 (5 - 10J) (n = 8)	4/4	7,3 (5,2 - 9,6)	
Altersgruppe 3 (10 - 16J) (n = 6)	4/2	12,8 (10,2 - 15,6)	
Altersgruppe 4 (> 16 J) (n = 4)	2/2	23,4 (16,7 - 27,4)	
Gruppe 2			
Altersgruppe 2 (n = 4)	2/2	5,8 (5,4 - 6,1)	1,2 (0,3 - 3,6)
Altersgruppe 3 (n = 11)	7/4	12,8 (10,2 - 15,8)	4,0 (0,4 - 10,4)
Altersgruppe 4 (n = 9)	3/6	21,7 (16,9 - 24,9)	10,8 (5,2 - 15,3)
Gruppe 3			
Altersgruppe 3 (n = 3)	1/2	12,1 (10,9 - 12,9)	2,3 (1,6 - 3,3)
Altersgruppe 4 (n = 9)	8/1	40,0 (16,0 - 54,8)	26,3 (1,7 - 45,3)

2.3 Effektivität bezüglich der Grunderkrankung

2.3.1 Blutbild

Die Blutabnahmen erfolgten durch das Personal der Hämatologischen Ambulanz. Die klinische Datenerfassung erfolgte, teils retrospektiv, von Februar 2000 bis November 2019.

2.3.1.1 Material

Peripher venöses Blut

2.3.1.2 Methoden

Venöse Blutentnahme:
2,6 ml Ethylendiamintetraacetat (EDTA) Vollblut
4,9 ml Lithium-Heparin Plasma

Zentrale Einrichtung Klinische Chemie:
Blutbild: Hämoglobin, Thrombozyten, Leukozyten
Differential-Blutbild: Lymphozyten, Retikulozyten

Interpretation:
Die folgenden vereinfachten Hb-Grenzwerte dienten in unserer Studie als Referenz:
Kinder (0,5 bis 6 Jahre): 11 g/ dl
Kinder (6 bis 14 Jahre): 12 g/ dl
Männer: 13 - 18 g/ dl
Frauen: 12 - 16 g/ dl

Als Referenzwerte wurden in unserer Studie die Folgenden angenommen bzw. aufgeteilt:
Gesamtbilirubin-Konzentration: 2 - 21 µmol/ l
Reti. Rel.: 0,43 - 1,36 %

2.3.2 Milzsonographie

Die Messungen wurden von den Ärzten des Bereichs pädiatrische Sonographie gemeinsam mit Alica Münch durchgeführt. Die klinische Datenerfassung erfolgte, teils retrospektiv, von Februar 2000 bis November 2019.

2.3.2.1 Material

Analysengeräte:
Acuson Sequoia 512, Schallkopf 8C4, 5C2 (2007 - 2010)
Philips Affiniti 70G, Schallkopf C5-1 (2017)
Philips IU22, Schallkopf C5-1 (2010 - 2018)
Siemens Acuson S2000, Schallkopf 6C1 (2012 - 2017)

2.3.2.2 Methoden

Ort: Pädiatrische Sonographie, Universitätsklinikum für Kinder und Jugendmedizin, Ulm

Durchführung:
Volumenmessung: L x B x H (in cm) x 0,523
Zeitpunkt: Präoperativ, Perioperativ, Postoperativ

Interpretation:
Prinzipiell ist es ein praktikables und korrektes Vorgehen bei bildmorphologisch kugeligen Restmilzen für alle Ebenen die gleiche Metrik anzunehmen, selbst wenn man nur oder gerade weil man nur eine Messung hat. Die Abweichung für eine nicht ganz perfekte "Kugel" dürfte außerhalb der klinischen Relevanz liegen, wenn man zudem auch noch die interindividuelle Untersuchervariabilität und generelle Messfehlerspanne bedenkt.

2.4 Phasenkontrastmikroskopie zur Untersuchung von „Pitted Erythrocytes“

Die Messungen wurden von Alica Münch durchgeführt.

2.4.1 Material

Analysengerät:
OLYMPUS PROVIS AX70 U-PS (Forschungslabor Kinderklinik Ulm)
Glutaraldehydpuffer 1%:
Reagenzien:
- Glutaraldehyd ($C_5H_8O_2$) Nr. K017.1, EM GRADE, 8 %
Polysciences, Inc., 400Valley Road, Warrington, PA 18976 USA
- Kaliumdyhidrogen-Phosphat (KH_2PO_4) Nr. 3904.2, ≥99% p.a. ACS, M136,09 g/mol – Dichte 2,34, Carl Roth GmbH + Co. KG, Schoemperlenstr. 3-5, D-76185 Karlsruhe
- Kalilauge Nr. 07710-100, (1N) 1 mol/l, Carl Roth GmbH + Co. KG, Schoemperlenstr. 3-5, D-76185 Karlsruhe

2.4.2 Methoden

Für unsere Studie wurde die „Anleitung zur semi-quantitativen Nachweis von pitE“ von Steinhausen verwendet [17, 50].

Puffer:
0,1 mol KH_2PO_4 = 2,7218 g /200 ml H_20 dann mit 1M KOH auf pH 7,2 einstellen
10 ml 8 % Glutaraldehyd + 70 ml 0,1 mol KH_2PO_4 = 1 % Glutaraldehydpuffer
Dies führt zur stabilen Vernetzung der Proteine und somit Fixierung der Zellen in ihrer morphologischen Form.

Venöse Blutentnahme:
100 µl frisch entnommenes Nativblut (Blutentnahme aus Ellenbeuge)
100 µl Nativblut in 500 µl 1 % Glutaraldehydpuffer

Probenaufbewahrung vor/ nach der Analyse:
Bei 2 - 8 °C im Kühlschrank in der 1 % Glutaraldehydlösung für 3 Monate nach Abnahme

Präparatherstellung:
Proben resuspendieren

10 µl auf einen Objektträger tropfen
Nativausstrrich anfertigen, eindeckeln

Mikroskopieren:
Interferenz-Phasen-Kontrastmikroskop mit Ölimmersion
Vergrößerung: 1000-fach
500 Erythrozyten zählen (nur intakte Zellen)
prozentuale Angabe der pitE / 500 Erythrozyten
Die Auswertung mit 500 Zellen dauerte ca. 10 Minuten.

Interpretation:
„Höhen und Tiefen des Bildes entsprechen Phasenverschiebungen im Objekt, die auf Dichteunterschieden (Brechzahl) beruhen [50].“ Vakuolen besitzen eine geringere optische Dichte gegenüber dem umgebenden Zytoplasma. Es entsteht der Eindruck einer Oberflächeneindellung - punktförmig klein bis kraterförmig. Als pitE wurden Erythrozyten mit lichtintensiven Strukturen an der Oberfläche definiert [50]. In unserem Projekt wurden Erythrozyten mit einem bzw. multiplen „pits“ als „pitted erythrocytes“ gewertet. In Zusammenschau der verschiedenen Angaben für pitE-Werte in der Literatur [12, 16, 36] entschieden wir uns für die weiter unten aufgeführten Grenzen. Laut Steinhausen sind die pitE-Werte altersunabhängig [50]. Um dies zu überprüfen, wurde der Einfluss des Alters auf die pitE-Werte in unserer Studie in der Kontrollgruppe untersucht. Nach Corazza et al. sind die pitE-Werte unabhängig von der Anzahl der postoperativen Jahre [12]. In unserer Studie wurde in der Patientengruppe nach subtotaler sowie nach totaler Splenektomie untersucht, ob die Anzahl der postoperativen Jahre einen Einfluss auf die pitE-Werte hatte.

PitE Grenzen:
< 2%: normwertig
2 - 4 %: grenzwertig erhöht
> 4 %: pathologisch erhöht
> 15 %: Aspleniegrenze

2.5 Lichtmikroskopie zur Untersuchung von argyrophilen Einschlüssen

Leider war die Silbernitratfärbung in unserer Arbeit nicht erfolgreich, weshalb nur kurz darauf eingegangen wird.

2.5.1 Material

Analysengerät: Lichtmikroskop
Reagenzien: Silbernitrat

2.5.2 Methoden

Präparatherstellung:
Ein Blutausstrich wird mit einer Silbernitrat-Lösung angefärbt.

Mikroskopieren:
Lichtmikroskop (Forschungslabor Kinderklinik Ulm)
500 Erythrozyten zählen (nur intakte Zellen)
prozentuale Angabe der AI / 500 Erythrozyten

Interpretation:
Bei den „Argyrophilic Inclusions“ geht man davon aus, dass Zelldetritus angefärbt wird. Bei einem Anteil von ≤ 3 % AI kann von einer normalen Milzfunktion ausgegangen werden [57].

2.6 B-Zell Immunphänotypisierung

Die Grundlage für die Berechnung der absoluten Zahlen der Lymphozytensubpopulationen stellen die absoluten und prozentualen Leukozyten- und Lymphozytenwerte aus dem Blutbild dar. Die gesamten Messungen fanden im Zeitraum von Mai 2014 bis August 2018 statt. Die Messungen wurden vom Laborpersonal gemeinsam mit Alica Münch durchgeführt.

2.6.1 Material

Nach Standard Operating Procedere (SOP) B-Zell Immunphänotypisierung des Immunologie-Labor [28]:

Humane Mononukleäre Zellen:
Peripher venöses Blut

Reagenzien:
Lösungen und Puffer
-D- Phophat-gepufferte-Salzlösung (PBS) (+$CaCl_2$)
-BSA (Bovine Serum Albumin)
-NaN_3 (Natrium-Azid)
-Optilyse ® C
-Flow-Check Pro Fluorespheres
-IF-Medium-RPMI/10 % fötales Kälberserum (FCS)

Zur vereinfachten Detektion der Ziel-Populationen wurden definierte Antikörpermischungen hergestellt.
Jeweilige Antikörper:

CD19-APC Alexa Fluor 700 (Beckm. Coulter): B-Zell-Marker
CD 45-Krome-Orange (Beckm. Coulter)
CD20 PerCP (Biolegend (Biozol)): B-Zell-Marker bis Memory B-Zellen, nicht auf Plasmablasten exprimiert
IgM APC (Biolegend (Biozol))
CD21 PE (BD Pharmingen)
CD24-Fluorescein-Isothiocyanat (FITC) (BD Pharmingen)
IgG PC7 (BD Pharmingen)
CD27 V450 (BD Horizon): Memory B-Zell-Marker
CD38 PC7 (Becton Dick): hoch exprimiert auf frühen Formen der B-Lymphozyten und Plasmablasten
IgA-PE (Southern Biotech (Biozol))
IgD FITC (Dako)

Analysengerät:
Durchflusszytometer: Beckman Coulter Navios
Immunologie-Labor, Leitung: Dr. rer. physiol. Eva-Maria Jacobsen
Zentrifugen:
Multifuge 3 S-R Heraeus
Multifuge X3R Heraeus Centrifuge Thermo Scientific
Megafuge 1 ORS Heraeus Instruments

2.6.2 Methoden

Venöse Blutentnahme:
5 ml Heparinisiertes Vollblut (Blutentnahme aus der Ellenbeuge)

Probenaufbewahrung vor/ nach der Analyse:
bei Raumtemperatur (RT), Probenverarbeitung innerhalb von 24 h,
Lagerung nach Analytik in den Messröhrchen bei 2 - 8 °C im Kühlschrank für 3 Tage (d)

Zellseparation:
Isolation von Lymphozyten aus peripher-venösem Blut für die Durchflusszytometrie
Konservierung und Wiederverwendung konservierter mononukleärer Zellen
Einfrieren mononukleärer Zellen
Auftauen mononukleärer Zellen
Anfärbung isolierter mononukleärer Zellen für die „Flourescence-activated cell sorter“ (FACS) - Analyse

Testprinzip:
B-Lymphozyten-Populationen, die sich durch die Expression spezifischer Oberflächenmoleküle unterscheiden, werden durch Kombinationen unterschiedlich markierter Antikörper gegen diese Marker proportional erfasst. Mononukleäre Zellen werden über einen Dichtegradienten isoliert und mit Fluoreszenzfarbstoff-konjugierten Antikörpern in definierten Kombinationen markiert, welche spezifisch gegen die zu untersuchenden B-Lymphozyten-Antigene gerichtet sind. Die Differenzierung der markierten Populationen erfolgt durchflusszytometrisch, sowohl durch Streulicht-Analysen (Forward/Side-Scatter, Differenzierung Lymphozyten von anderen Leukozyten-

Populationen), als auch durch Lichtemissions-Analysen der eingesetzten Fluoreszenzfarbstoffe. Darüber hinaus wird die absolute Zahl dieser Populationen durch Verrechnung mit der absoluten Lymphozytenzahl aus dem Differential-Blutbild bestimmt.

IgM Memory B-Zellen:
FACS-Analyse bezüglich den Oberflächenmarkern CD 22 (B-Zell-Marker) und CD 27 (T- und B-Gedächtniszell-Marker)
Kontrollfrequenz:
Die B-Zell Phänotypisierung erfolgt parallel zur Untersuchung einer gesunden Kontrolle. Hierfür werden kryokonservierte Buffy Coat Zellen verwendet.
Probenvorbereitung:
Vor der Analyse werden Mononucleäre Zellen (MNC) über einen Ficoll-Dichtegradienten separiert und in einer Konzentration von 10 Mio/ml/10 % FCS eingestellt [29].
Markierung:
Je 100 µl der Zellsuspension (ca. $1x10^6$ MNC) werden auf den Boden der zwei Zytometerröhrchen pipettiert. Nach Zugabe der definierten Mengen der Antikörpermischungen werden die Proben 15min bei RT im Dunkeln inkubiert.
Erythrozytenlyse:
Zu den Proben wird 500 µl Optilyse ® pipettiert und 15 min bei RT im Dunkeln inkubiert. Nach der Inkubationszeit werden 500 µl IF-Medium dazu pipettiert, und für 5 min bei 1400 Umdrehungen pro Minute (rpm) gewaschen.

Der Überstand wird abgekippt und die Zellen in 500µl IF-Medium aufgenommen.
Analysenvorbereitung:
Das Durchfluss-Zytometer wird vor der Analyse gespült.
Messung:
Die Messung erfolgt am Zytometer im Panel-Programm: „B-Zell Panel“
Auswertung:
Alle gemessenen Lymphozytenpopulationen beziehen sich auf CD45 positive Lymphozyten.

Interpretation:
Leichte Ungenauigkeiten entstehen durch das Auf- bzw. Abrunden der relativen Zellpopulationen (gerundet wurden Zellpopulationen > 10 %).

2.7 Statistische Datenauswertung

Es handelte sich um eine explorative Studie. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mittels Excel sowie Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Version 27 (Lizenz 2020) (Beschreibung der Stichprobe, Explorative Datenanalyse).

2.7.1 Parameter zur Bewertung von Effektivität und Milzfunktion

Betrachtet wurden folgende Variablen:

- PitE-Wert: Prozentsatz der „Pitted Erythrocytes“ pro 500 Erythrozyten
- Leukozyten
- Lymphozyten (absoluter und prozentualer Wert)
- B-Lymphozyten: (absoluter und prozentualer Wert)
    - Phänotyp: CD19+
- Naive B-Zellen: (absoluter und prozentualer Wert)
    - Phänotyp: CD19+, CD27-
- Transitionale B-Zellen: (absoluter und prozentualer Wert)
    - B-Lymphozyt vor der Reifung in der Milz
    - Phänotyp: CD19+, CD38++, IgM++
- Memory B-Zellen gesamt: (absoluter und prozentualer Wert)
    - Phänotyp: CD19+, CD27+ (Memory B-Zellen + Plasmablasten)
- IgM Memory B-Zellen: (absoluter und prozentualer Wert)
    - Phänotyp: CD19+, CD20+, CD27+, IgM+ (MZ-like B-Zellen + IgM only B-Zellen)
- MZ-like B-Zellen: (absoluter und prozentualer Wert)
    - B-Lymphozyten, die in der Marginalzone der Milz aus Transitionalen B-Zellen entstehen
    - Phänotyp: CD19+, CD20+, CD27+, IgM+, IgD+

• Switched Memory B-Zellen: (absoluter und prozentualer Wert)
    - Phänotyp: CD19+, CD20+, CD27+, IgM-

2.7.2 Statistische Verfahren

Dabei interessierten uns die quantitativen Merkmale wie der Median, Minimal-, der Maximal- sowie der Mittelwert mit zugehöriger Standardabweichung (SD). Ebenfalls untersuchten wir bestimmte qualitative Merkmale wie das Geschlecht, das Alter sowie die Altersgruppe.

Es wurden verschiedene Verfahren bzw. nicht parametrische Testungen aus der standardisierten Teststatistik verwendet, mit denen die Verteilung zwischen zwei oder mehr Gruppen auf Tendenzen untersucht werden können. In unserer Studie wurden die jeweiligen Mediane verglichen.

Sollten zwei unabhängige Stichproben geprüft werden, so wurde der Mann-Whitney-U-Test (bzw. U-Test) eingesetzt. Sollten K unabhängige Stichproben verglichen werden, so kam der Kruskal-Wallis-Test (bzw. H-Test) zum Einsatz. Um die Tendenz der Werte zu überprüfen, wurde der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Anschließend wurden Mehrfachvergleiche mittels Paarweisevergleichen zur Klassifizierung der Unterschiede im Mann-Whitney-U-Test angewendet.

Die zu untersuchenden Gruppen stellten das Kontrollkollektiv (Gruppe 4) und das Patientenkollektiv bzw. dessen drei verschiedene Gruppen (Gruppe 1 - 3) dar. Alle Testungen wurden zweiseitig auf dem Signifikanzniveau alpha $p < 0,05$ getestet. SPSS gab in Abhängigkeit von der Stichprobengröße die asymptotische sowie die exakte Tendenz an. War die Stichprobe hinreichend groß ($n1 + n2 > 30$), so wurde die asymptotische Tendenz berichtet. War dies nicht der Fall, so wurde die exakte Tendenz berichtet. Im H-Test wurden 3 bzw. 4 Untergruppen miteinander verglichen. Waren die Untergruppen hinreichend groß ($n > 9$ bzw. $n > 5$) wurde asymptotisch getestet. Bei einer kleineren Anzahl wurde exakt getestet.

Wir führten folgende Paarweisevergleiche bei der B-Zell Immunphänotypisierung zwischen dem Kontrollkollektiv (Gruppe 4) und dem Patientenkollektiv (1 - 3) durch:

Gruppe 4 vs. Gruppe 2, Gruppe 3. Falls weitere Auffälligkeiten zu sehen waren, schlossen wir ggf. weitere Testungen innerhalb des Patientenkollektivs an: Gruppe 1 vs. Gruppe 2, Gruppe 3 sowie Gruppe 2 vs. Gruppe 3.

Voraussetzung für die Verwendung der Werte der Kontrollgruppe als Referenzwerte für unsere Studie, mussten diese auf Normalverteilung überprüft werden. Dafür wurde der Shapiro-Wilk-Test benutzt. Ziel war, die Nullhypothese nicht zu verwerfen. Hierfür war es notwendig, dass der p-Wert > 0,05 lag.

Da unsere Studie eine geringe Datenmenge enthält, die von der theoretischen Normalverteilung (Gauss'sche Glockenkurve) abweicht, ist die Bestimmung des Quantilbereichs, in dem 95 % der Daten liegen, analog zu MW +/- 2 Standardabweichungen, zu ungenau. Daher wurden die empirischen Quantile (Q) aus den konkret vorliegenden Daten berechnet: Bestimmung des Quantilbereichs, in dem 68 % der beobachteten Daten liegen, analog zu MW +/- 1 SD bei Normalverteilung, d.h. 16 % - Quantil bis 84 % - Quantil. In dieser Studie wurden diese für die IgM Memory B-Zellen sowie die MZ-like B-Zellen berechnet.

2.8 Bewertung durch die Ethikkommission

Die Studie wurde am 04.06.2012 unter dem Antrag Nr. 151/12 - „Beurteilung der laparoskopischen subtotalen Splenektomie bei Patienten mit hereditärer Sphärozytose hinsichtlich der Behandlung der Grunderkrankung und der Milzfunktion“ von der Ethikkommission der Universität Ulm mit einer zustimmenden Stellungnahme bewertet.

3 Ergebnisse

3.1 Effektivität bzgl. der Grunderkrankung

Es wurden 54 Sphärozytosepatienten in unsere Studie eingeschlossen. Dieses Kapitel wurde in 3 Unterkapitel, bezogen auf die durchgeführte Intervention, aufgeteilt.

3.1.1 Präoperative Befunde

3.1.1.1 Schweregrade der HS

Die modifizierte Einteilung der Schweregrade von Eber et al. diente als Referenz für unsere Studie [19, 20]:
leicht: Hb 11 - 15 g/ dl, Reti. 1,5 - 6 G/ l, Bili 17,1 - 34,2 µmol/ l
mittelschwer: Hb 8 - 11 g/ dl, Reti. ≥ 6 G/ l, Bili ≥ 34,2 µmol/ l
schwer: Hb 6 - 9 g/ dl, Reti. ≥10 G/ l meist >15 G/ l, Bili 34,2 - 51,3 µmol/ l
sehr schwer: Hb < 6 g/ dl, Reti ≥10 G/ l, Bili ≥ 51,3 µmol/ l

19 der 54 Patienten, entsprach 35,2 %, waren an einer leichten Form der HS erkrankt. 31 der 54 Patienten, somit 57,4 %, waren an einer mittelschweren Form der HS erkrankt [40]. 2 der 54 Patienten, bedeutet 3,7 %, waren an einer schweren Form der HS erkrankt. Ebenfalls 2 der 54 Patienten waren an einer sehr schweren Form der HS mit regelmäßigem Transfusionsbedarf erkrankt [40].

3.1.1.2 Hämoglobin-Normalwert und Anämie

8 der 13 Patienten der Gruppe 1 (ohne Op) zeigten im Verlauf keine Anämie. 1 der 8 Patienten wies eine milde Erythrozytose auf, die sich anhand eines erhöhten Hb-Wertes zeigte. 10 der 32 Patienten der Gruppe 2 (nach subtotaler Splenektomie) zeigten präoperativ keine Anämie. 1 der 6 Patienten der Gruppe 3 (nach totaler Splenektomie) zeigte präoperativ keine Anämie. Die operierten Patienten ohne Anämie hatten meist die Indikationsstellung der Splenektomie wegen einer symptomatischen Cholecystolithiasis sowie Splenomegalie.

5 der 13 Patienten der Gruppe 1 zeigten im Verlauf eine leichte Anämie. Im Mittel differierte der Hb um 0,9 g/dl zur Referenz, minimal um 0,3 g/dl, maximal um 1,9 g/dl. 27

der 37 Patienten zeigten präoperativ eine Anämie. 22 von 32 der Patienten der Gruppe 2 zeigten eine Anämie. 5 von 6 Patienten der Gruppe 3 zeigten eine Anämie.

3.1.1.3 Transfusionsbedarf im Krankheitsverlauf

Die Transfusionen wurden unterschieden zwischen perinatal, jenseits der Neugeborenenzeit sowie infektbedingt. Im Akutfall bestand ein Transfusionsbedarf bei einem Hb-Wert von < 6,5 g/dl und/ oder entsprechender klinischer Symptomatik.

Neugeborenenzeit und perinatale Transfusionen:
11 von 54 Patienten erhielten eine Phototherapie bei Hyperbilirubinämie. 2 von 54 Patienten erhielten postnatale Austauschtransfusionen bei Hyperbilirubinämie. 5 von 54 Patienten erhielten je 1 Transfusion im Alter von 9 Tagen, 2, 3 bzw. 4 Wochen.

Transfusionen jenseits der Neugeborenenzeit:
30 der 54 Patienten erhielten keine Transfusionen. 24 der 54 Patienten erhielten Transfusionen im Krankheitsverlauf. 11 der 24 Patienten benötigten ausschließlich infektbedingt Transfusionen. 18 der 24 Patienten erhielten mind. 1 Erythrozytenkonzentrat. 6 der 24 Patienten erhielten in Summe > 2 Erythrozytenkonzentrate. 2 der 24 Patienten erhielten regelmäßige Transfusionen.

Infektbedingte Transfusionen:
11 von 54 Patienten erlitten eine aplastischer Krise bei nachgewiesener Parvovirus B19 Infektion. 2 von 11 Patienten hatten eine Koinfektion mit dem Humanen Herpesvirus 6. 9 von 11 Patienten zeigten infektionsbedingt einen Transfusionsbedarf. 12 Patienten zeigten im Krankheitsverlauf mindestens eine hämolytische Krise mit Hb-Abfall ohne Transfusionsbedürftigkeit.

Sekundäre Hämochromatose:
Bei einem 6 Jahre alten Patient bestand bereits präoperativ der V.a. eine sekundäre Hämochromatose bei erhöhten Serumferritinwerten von 1718 µg/ l.

3.1.1.4 Betrachtung der Milzgröße und Splenomegalie

13 von 13 Patienten der Gruppe 1 zeigten eine Splenomegalie im Langzeitverlauf. 30 der 32 Patienten der Gruppe 2 zeigten eine Splenomegalie. 7 der 7 Patienten der Gruppe 3 zeigten präoperativ eine Splenomegalie.

3.1.1.5 Cholecystolithiasis

32 der 54 Patienten litten präoperativ an einer Cholecystolithiasis. 21 der 54 Patienten litten unter einer symptomatischen Cholecystolithiasis. Dies zeigte sich in rezidivierenden Koliken sowie Verschlussikterus. 11 der 54 Patienten zeigten eine asymptomatische Cholecystolithiasis. 22 der 54 Patienten zeigten keine Cholecystolithiasis.

3.1.2 Perioperative Befunde

3.1.2.1 Alter der Patienten bei Op

Gruppe 2:
Im Dezember 2002 wurde die erste laparoskopische subtotale Splenektomie durchgeführt. Bis 2018 wurden 33 Patienten laparoskopisch subtotal splenektomiert (Tbl. 6). Die Eingriffe erfolgten in der Kinderchirurgie, Helios Klinikum, Berlin-Buch. 2 Patienten wurden vor dem 6. Lebensjahr subtotal splenektomiert (1,8 J: mittelschwere HS, inadäquater Blutbildung; 3,6 J: schwere HS).

Gruppe 3:
6 Patienten wurden total splenektomiert, 3 offen sowie 3 laparoskopisch total (Tbl. 6). 1 Patient wurde vor dem 6. Lebensjahr operiert. Alle Patienten wurden über die Möglichkeit der laparoskopischen subtotalen Splenektomie aufgeklärt. Die Familien von 3 Patienten entschieden sich für die totale Splenektomie. Bei zwei Patienten war ursprünglich die subtotale Splenektomie geplant [40]. Ein Patient wurde im Alter von 11,9 Jahren laparoskopisch subtotal splenektomiert und im Alter von 16,9 Jahren geplant laparoskopisch total splenektomiert. Bis zum Studienabschluss wurden in der Kinderchirurgie, Helios Klinikum, Berlin-Buch insgesamt 2 unserer Patienten laparoskopisch total splenektomiert. 4 unserer 6 total operierten Patienten wurden in der Sektion Kinderchirurgie der Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie,

Universitätsklinikum Ulm, 1 laparoskopisch und 3 offen vollständig splenektomiert. 1 Patient wurde vor dem 6. Lebensjahr total splenektomiert (4,5 J: schwere HS).

Tbl. 6: Alter der Patienten bei Op; Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2002 bis 2018

Patienten	**Alter bei Op (J)** MW (Min - Max)
Gruppe 2 (n = 33)	10 (1,8 - 16,0)
Gruppe 3 (n = 6)	10,4 (4,5 - 16,9)

3.1.2.2 Indikation zur subtotalen oder totalen Splenektomie

Indikationen zur Splenektomie stellten mehrere stattgehabte hämolytische Krisen, > 2 erforderliche Transfusionen jenseits der Neugeborenenzeit sowie eine ausgeprägte Leistungsminderung infolge der Anämie dar.

13 der 54 Patienten wurden bis zum Studienabschluss nicht operiert. 41 von 54 Patienten erhielten eine Op. Bei allen 6 untersuchten Elternteilen wurde eine totale Splenektomie in der Vorgeschichte durchgeführt.

3.1.2.3 Durchführung der Cholecystektomie und Cholecystotomie

1 Patient war schon präoperativ bei Verschlussikterus notfallmäßig cholecystektomiert worden und erhielt dann eine alleinige Splenektomie.

27 der 38 splenektomierten Patienten wurden kombiniert (Splenektomie mit Cholecystotomie (CCO)/ Cholecystektomie (CCE)) operiert.

14 der 38 operierten Patienten erhielten eine Splenektomie mit kombinierter CCE (13 wegen Cholecystolithiasis; 1 wegen 50 % Sludge). 5 der 6 total operierten Patienten erhielten zusätzlich zur Splenektomie eine CCE. 9 der 33 laparoskopisch subtotal operierten Patienten erhielten zusätzlich zur Splenektomie eine CCE [40]. 1 Patient wurde zuerst subtotal kombiniert mit einer CCO und im Verlauf total kombiniert mit erneuter CCO splenektomiert.

13 der 38 operierten Patienten erhielten eine Splenektomie kombiniert mit einer CCE (13 wegen Cholecystolithiasis). 1 der 6 total operierten Patienten erhielt zusätzlich zur Splenektomie eine CCO. 13 der 33 laparoskopisch subtotal operierten Patienten erhielten zusätzlich zur Splenektomie eine CCO [40]. 3 davon entwickelten postoperativ erneut Konkremente. 1 der 3 Patienten wurde 5 Jahre nach subtotaler Splenektomie auf eigenen Wunsch total splenektomiert kombiniert mit einer erneuten CCO. Seither waren keine Gallensteine entstanden. 1 Patient litt postoperativ an einem Gallenblasenhämatom, weshalb er notfallmäßig eine CCE erhielt.

Es wurden insgesamt 17 CCE durchgeführt (14 kombiniert mit Splenektomie; 1 notfallmäßig postoperativ bei Gallenblasen-Hämatom; 1 postoperativ bei persistierender Symptomatik; 1 präoperativ).

Es wurden insgesamt 14 CCO durchgeführt (14 kombiniert mit Splenektomie).

11 von 38 operierten Patienten erhielten eine alleinige Splenektomie, da keine Cholecystolithiasis vorlag.

1 Patient entwickelte im postoperativen Verlauf nach alleiniger Splenektomie eine symptomlose Cholecystolithiasis. Diese bedurften keiner Intervention.

3.1.2.4 Perioperative Blutung und Transfusionsbedarf

13 der 38 operierten Patienten erhielten perioperativ Blutkonserven. Es handelte sich um Erythrozyten-, Thrombozytenkonzentrate sowie gefrorenes Frischplasma.

2 von 6 Patienten nach totaler Splenektomie benötigten je 1 Erythrozytenkonzentrat.
11 von 33 Patienten nach laparoskopische subtotaler Splenektomie waren transfusionsbedürftig. 7 Patienten erhielten je 1 Erythrozytenkonzentrat. 1 Patient erhielt 2 Erythrozytenkonzentrate. 1 Patient erhielt 2 Erythrozytenkonzentrate und 1 Thrombozytenkonzentrat. 2 Patienten erhielten 2 Erythrozytenkonzentrate und 1 Frischplasmakonzentrat. Bei 1 Patient mit einem postoperativen Hb von 6,2 g/ dl erfolgte zusätzlich zur Transfusion eine laparoskopische Revision mit Blutstillung mittels Laserkoagulation.

3.1.2.5 Auftreten von Pleuraerguss/ Pneumonie/ Pneumothorax

3 der 33 laparoskopisch subtotal splenektomierten Patienten erlitten direkt postoperativ einen punktionsbedürftigen Pleuraerguss. 1 der 33 Patienten erkrankte direkt postoperativ an einer Pleuropneumonie, die mit Tazobactam und Metronidazol behandelt wurde. 1 der 6 total laparoskopisch splenektomierten Patienten entwickelte direkt postoperativ einen Spontanpneumothorax mit punktionsbedürftigem Pleuraerguss.

3.1.3 Postoperative Befunde

3.1.3.1 Rekonvaleszenz nach Op

Die 38 analysierten operierten Patienten verbrachten zwischen 6 und 21 Tagen, im Mittel 9,8 Tage, postoperativ im Krankenhaus. Die 33 laparoskopisch subtotal splenektomierten Patienten verbrachten zwischen 7 und 21 Tagen, im Durchschnitt 10,2 Tage postoperativ im Krankenhaus. Die 6 total splenektomierten Patienten verbrachten zwischen 6 und 9 Tagen, im Durchschnitt 7,5 Tage, Median 7,0 Tage postoperativ im Krankenhaus. Die laparoskopisch total splenektomierten Patienten verbrachten 9 Tage, die total offen operierten Patienten 6,8 Tage, postoperativ im Krankenhaus.

3.1.3.2 Hämoglobin-Normalwert und Anämie

Es wurden 33 Patienten der Gruppe 2 betrachtet (Abb. 2). Unmittelbar nach subtotaler Splenektomie zeigten alle Patienten altersgerechte Hb-Werte [40]. Alle Patienten zeigten im Zeitraum von 12 Monaten nach Splenektomie weiterhin altersgerechte Hb-Werte. 29 Patienten zeigten im postoperativen Langzeitverlauf > 12 Monate, im Mittel nach 5,9 Jahren, altersgerechte Hb-Werte. 4 Patienten wiesen Hb-Werte im Verlauf > 12 Monate, im Mittel nach 6,9 Jahren postoperativ auf, die 0,5 - 0,9 g/dl, im Mittel um 0,7 g/dl, niedriger lagen als der Altersreferenzwert [40]. 1 Patient wies postoperativ eine milde Erythrozytose auf. Der Patient Nr. 7 (Abb. 2) entwickelte im Verlauf eine Splenomegalie, zwischen den zwei postoperativen Messungen lagen > 7 Jahre.

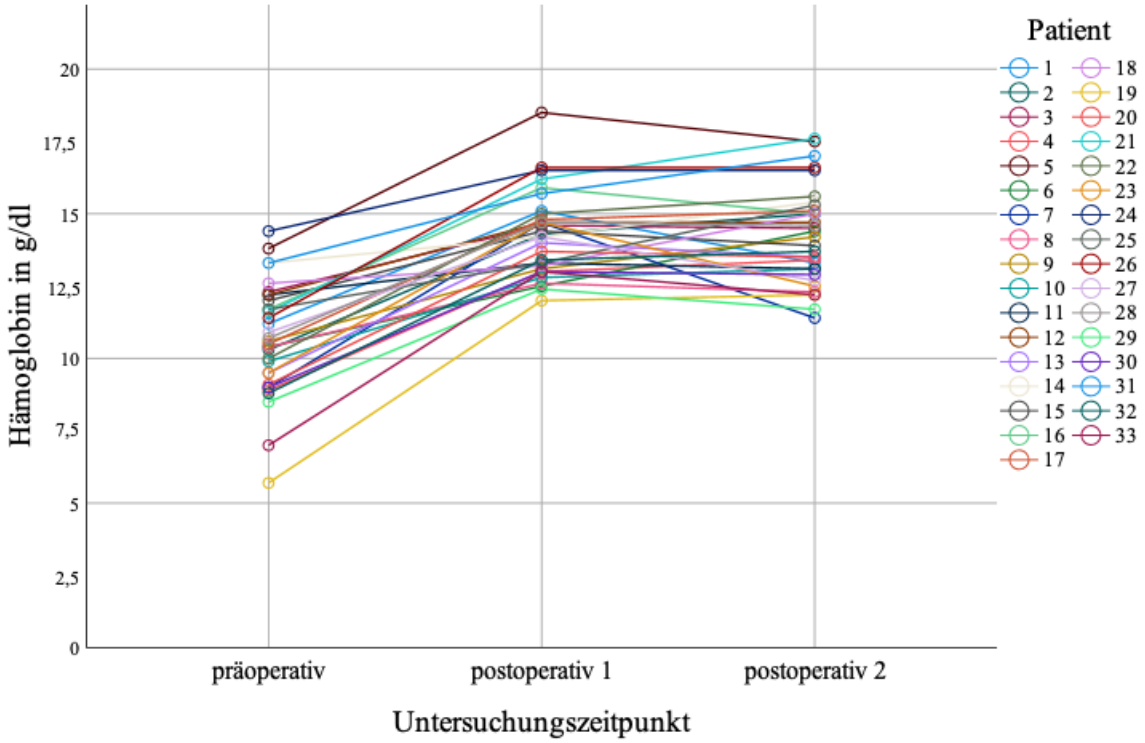

Abb. 2: Hämoglobinwerte in g/dl der einzelnen Patienten nach subtotaler Splenektomie zu unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (präoperativ, postoperativ 1: < 12 Monate, postoperativ 2: > 12 Monate), Universitätsklinikum Ulm, 2000 bis 2019, modifiziert nach [40] CC BY-NC-ND 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0, Rechte bei den Autoren

Es wurden 6 Patienten der Gruppe 3 betrachtet (Abb. 3). Unmittelbar nach Splenektomie zeigten alle Patienten einen normwertigen Hb-Wert. 6 Patienten zeigten 12 Monate nach Splenektomie weiterhin altersgerechte Hb-Werte. 6 Patienten zeigten im postoperativen Langzeitverlauf > 12 Monate, im Mittel nach 4,5 Jahren, altersgerechte Hb-Werte. 2 Patienten wiesen eine milde Erythrozytose auf. Keiner der total operierten Patienten litt an erneuter Anämie. Bei dem Patient Nr. 2 (Abb. 3) wurde die 1. postoperative Messung direkt nach Op durchgeführt und zwischen den zwei postoperativen Messungen lag ein Zeitraum von 5 Jahren.

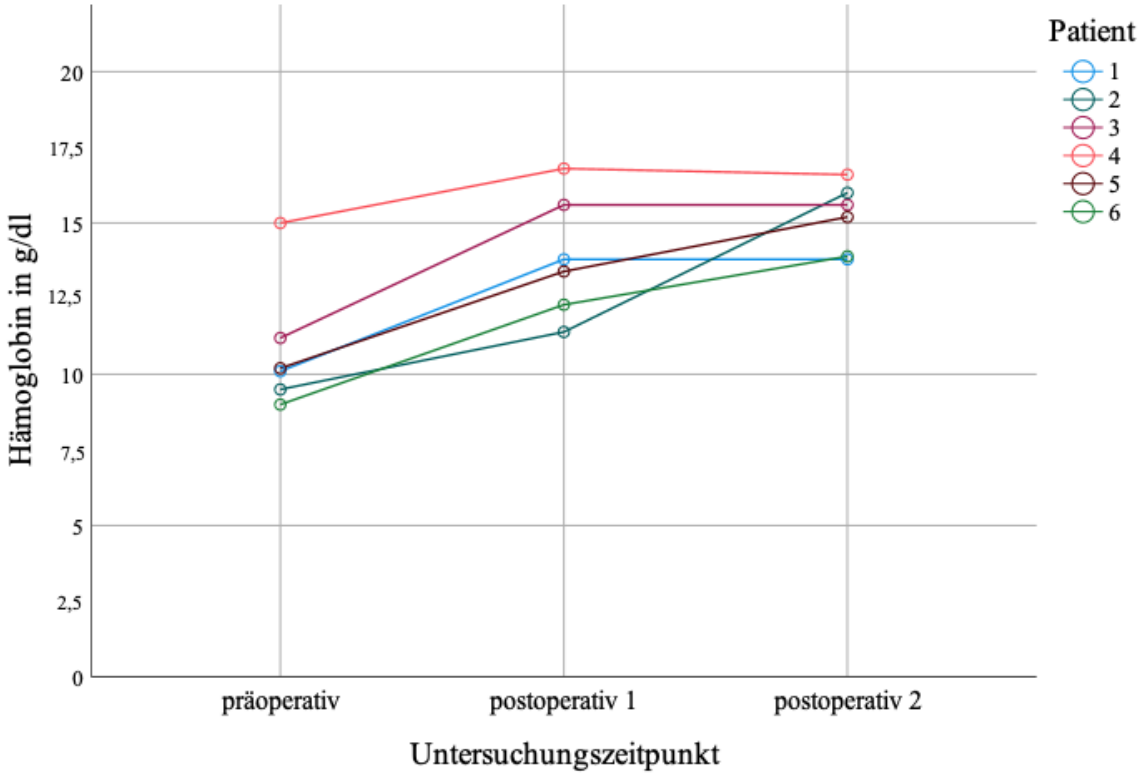

Abb. 3: Hämoglobinwerte in g/dl der einzelnen Patienten nach totaler Splenektomie zu unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten (präoperativ, postoperativ 1: < 12 Monate, postoperativ 2: > 12 Monate), Universitätsklinikum Ulm, 2000 bis 2019

3.1.3.3 Transfusionsbedarf

Ein subtotal splenektomierter Patient mit einer schweren Sphärozytose erlitt im Alter von 5,6 Jahren, 2 Jahre nach Operation, eine aplastische Krise bei Parvovirus B19 Infektion bei Gastroenteritis mit 2-maligem Transfusionsbedarf bei einem initialen Hb von 4,1.

Bei einem Patient mit schwerer HS und regelmäßigem präoperativen Transfusionsbedarf und daraus resultierender Hämochromatose kam es postoperativ zu einer Normalisierung von Serumferritin und Eisensättigung.

3.1.3.4 Gesamtbilirubin-Konzentration, Relative Retikulozytenzahl

Als Referenzwerte wurden in unserer Studie die Folgenden angenommen bzw. aufgeteilt:
Reti. Rel.: 0,43 - 1,36 %

gering: < 4,5 %
mäßig: 4,5 % - 9 %
hoch: > 9 %

Im Zeitraum < 12 Monaten, im Mittel nach 3,2 Monaten, ergaben sich folgende Mittelwerte. Die relative Retikulozytenzahl von 23 Patienten der Gruppe 2 zeigte sich im Mittel bei 2,4 % gering erhöht (6/23 normal, 15/23 gering, 2/23 mäßig, 0/23 hoch) [40]. Die Gesamtbilirubin-Konzentration bei 11 von 16 Patienten wurde im Durchschnitt bei 23,5 µmol/ l gemessen [40]. 5 von 16 Patienten litten an Morbus Gilbert Meulengracht und wurden nicht in der Gesamtbilirubin-Konzentration der Gruppe 2 berücksichtigt [40].

Im Zeitraum > 12 Monaten, im Mittel nach 5,9 Jahren, ergaben sich folgende Mittelwerte. Die relative Retikulozytenzahl von 32 Patienten der Gruppe 2 zeigte sich im Mittel bei 4,5 % erhöht (2/32 normal, 17/32 gering, 10/32 mäßig, 3/32 hoch) [40]. 5 der 32 Patienten litten erneut an einer Splenomegalie. Die Gesamtbilirubin-Konzentration bei 13 von 18 Patienten betrug im Mittel 49,4 µmol/ l [40]. 5 von 18 Patienten litten an Morbus Gilbert Meulengracht, und wurden nicht in der Gesamtbilirubin-Konzentration der Gruppe 2 berücksichtigt [40].

4 der 31 Patienten der Gruppe 2 entwickelten postoperativ erneut eine Anämie [40]. Die relative Retikulozytenzahl war im Mittel 7,7 % hoch und damit erhöht (1/4 gering, 2/4 mäßig, 1/1 hoch). 2 der 4 Patienten litten erneut an einer Splenomegalie. Die Gesamtbilirubin-Konzentration betrug durchschnittlich 52,3 µmol/ l und war damit eindeutig erhöht.
1 Patient litt an Morbus Gilbert Meulengracht und wurde nicht in der Gesamtbilirubin-Konzentration der Gruppe 2 berücksichtigt.

3.1.3.5 Thrombozytenzahl und Thrombozytose

25 der 38 operierten Patienten entwickelten direkt postoperativ eine Thrombozytose > 1 Mio/ µl. Dies betraf ca. zwei Drittel der Patienten. Die Patienten wurden vorübergehend mit Acetylsalicylsäure (ASS) gewichtsabhängig therapiert. 22 von 33 Patienten der Gruppe 2 sowie 4 von 6 Patienten der Gruppe 3 waren davon betroffen. Postoperativ stellte sich ein Großteil der Patienten in der Hämatologieambulanz mit deutlich gesunkenen Thrombozytenzahlen vor, woraufhin bei allen Patienten die ASS-Gabe eingestellt werden konnte.

12 der 32 Patienten der Gruppe 2 wiesen im postoperativen Langzeitverlauf > 1 Jahr, im Mittel nach 4,3 Jahren, weiterhin eine Thrombozytose auf, in der Regel um bis zu ein Drittel erhöht. Bei 2 der 12 Patienten betrug die Thrombozytenzahl 614.000/ µl, sowie 695.000/ µl. 9 der 12 Patienten erhielten im postoperativen Verlauf ASS. 2 der 12 Patienten erlitten eine Pfortaderthrombose. 20 der 32 Patienten wiesen im postoperativen Langzeitverlauf keine Thrombozytose auf.

4 der 5 Patienten der Gruppe 3 wiesen im postoperativen Langzeitverlauf > 1 Jahr , im Mittel nach 4,5 Jahren, eine Thrombozytose, in der Regel um bis zu ein Drittel erhöht, auf. Bei 1 von 4 Patienten betrug die Thrombozytenzahl 635.000/ µl. 1 von 5 Patienten wies im postoperativen Langzeitverlauf keine Thrombozytose auf. Bei 2 der 6 untersuchten Elternteile zeigte sich nach 36,9 Jahren eine postoperativ weiterbestehende Thrombozytose, um bis zu ein Drittel erhöht. 4 der 6 Elternteile zeigten keine Thrombozytose. Im Gesamten zeigten 6 von 11 Patienten eine Thrombozytose im Follow-up.

3.1.3.6 Auftreten von Pfortaderthrombosen

Während den ersten 6 postoperativen Monaten erlitten 2 unserer laparoskopisch subtotal splenektomierten Patienten (1 weiblich, 1 männlich) im Alter von 15,5 und 10,1 Jahren eine Pfortaderthrombose [40]. Beide erhielten postoperativ ambulant eine Therapie mit ASS aufgrund einer Thrombozytose > 1 Mio/ µl. Beide erhielten nach Diagnosestellung für 6 Monate niedermolekulares Heparin. Es bedurfte keinem erneuten Krankenhausaufenthalt.

Der 1. Patient erlitt im 1. postoperativen Monat eine Thrombose des linken Pfortaderhauptastes. Zur Antikoagulation wurde Enoxaparin 1x6000 IE/ d s.c. verwendet. Das ASS konnte im Verlauf bei niedrigen Thrombozytenzahlen abgesetzt werden. Als zusätzlicher thrombophiler Risikofaktor wurde eine heterozygote Prothrombin Mutation (Faktor II) identifiziert [40]. Die präoperative Milzgröße maß 170 mm (Referenzwert 127 mm) in der längsten Ausdehnung.

Der 2. Patient erlitt im 2. postoperativen Monat einen wandständigen Thrombus im Pfortaderstamm, sowie eine Teilthrombosierung des linken Pfortaderhauptastes. Zur Antikoagulation wurde Dalteparin 1x1800 IE/ d s.c. verabreicht. ASS wurde für 6 Monate verabreicht. Als zusätzlicher thrombophiler Risikofaktor wurde eine heterozygote Faktor V Leiden Mutation identifiziert [40]. Die präoperative Milzgröße maß 113 mm (Referenzwert 104 mm) in der längsten Ausdehnung.

3.1.3.7 Vorkommen von akutem Abdomen

1 Patient nach subtotaler Splenektomie mit CCO erlitt einige Tage nach Entlassung am 15. postoperativen Tag ein akutes Abdomen aufgrund eines Wandhämatoms der Gallenblase, woraufhin er notfallmäßig stationär cholecystektomiert wurde.

1 Patient nach subtotaler Splenektomie erlitt 5,5 Jahre postoperativ einen Dünndarmvolvulus bei Bridenileus, welcher notfallmäßig stationär gelöst wurde.

3.1.4 Messung der Restmilzgröße

Die unmittelbar postoperativ gemessene Restmilzgröße von 32 untersuchten Patienten betrug zwischen 2 und 91 ml, im Durchschnitt 31,7 ml, Median 30,5 ml (Abb. 4) [40]. Bei 15 Patienten betrug die Restmilzgröße < 30 ml (Tbl. 7).

Tbl. 7: Restmilzgröße (< 30 ml) der Patienten nach subtotaler Splenektomie, Universitätsklinikum Ulm, 2000 bis 2019

Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Restmilz (ml)	2	2	2,5	4	6,5	9	13	14	15	19	21	22	22	28	29

Wir konnten bei 30 Patienten der Gruppe 2 postoperativ im Langzeitverlauf einen aktiven Milzrest entsprechend Wiedererwachsen und dopplersonographisch normaler Milzdurchblutung nachweisen.

Im Zeitraum von > 12 Monaten, im Durchschnitt nach 5,9 Jahren, betrug die Restmilzgröße zwischen 1 und 666 ml, durchschnittlich 175 ml. Die mittlere Differenz zur direkt postoperativ gemessenen Restmilz betrug + 154 ml bzw. ein Anstieg um den Faktor 5,9. Bei 3 Patienten nach subtotaler Splenektomie wurde die Nebenmilz in situ belassen.

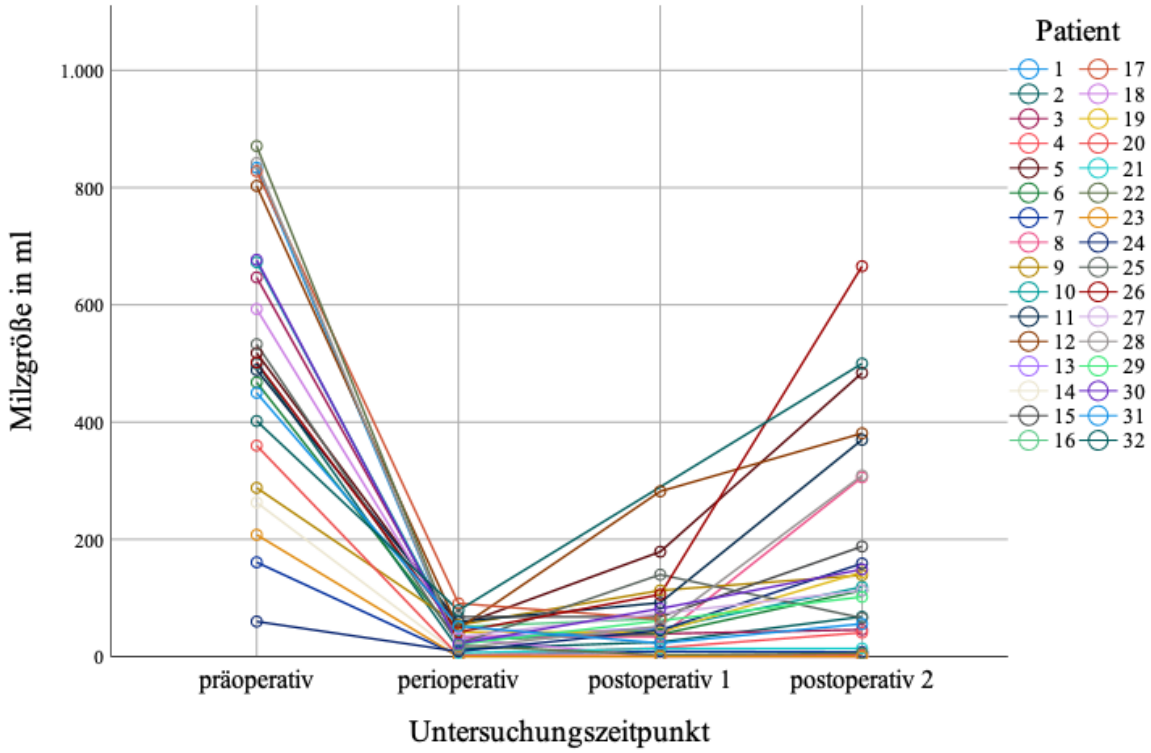

Abb. 4: Milzgrößen in ml der einzelnen Patienten nach subtotaler Splenektomie zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten (präoperativ, perioperativ, postoperativ 1: < 12 Monate, 2: > 12 Monate), Universitätsklinikum Ulm, 2000 bis 2019, modifiziert nach [40] CC BY-NC-ND 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0, Rechte bei den Autoren

Nebenmilz:
1 Patient der Gruppe 3 zeigte postoperativ 2 Nebenmilzen.

Splenomegalie:
6 Patienten zeigten eine postoperative Splenomegalie im Langzeitverlauf. Kein Patient benötigte eine Nachresektion [40]. Die Patienten waren zum Op-Zeitpunkt durchschnittlich 8,9 Jahre alt. Das Follow-up betrug im Mittel 10,6 Jahre. Zum Zeitpunkt der letzten Restmilzmessung waren die Patienten im Mittel 19,4 Jahre alt. Die postoperative Restmilzgröße der 6 Patienten betrug zwischen 30 ml und 79 ml, durchschnittlich 49,7 ml, im Median 47,5 ml. Die Restmilz war im Mittel um den Faktor 9,3 angestiegen. Die Restmilzgröße betrug maximal 666 ml, im Durchschnitt 405 ml. Die Differenz betrug maximal 624 ml, im Durchschnitt 412 ml (Abb. 4).

Sekundäre Asplenie:
2 Patienten der Gruppe 2 zeigten eine sekundäre Asplenie [40].
Ein Patient erlitt ein Bauchtrauma, wodurch sich ein infarziertes Milzhämatom bildete [40]. Der Patient wurde asplen. Der Patient war zu dem Zeitpunkt > 17 Jahre alt, die Operation fand im Alter von 10 Jahren statt.
Ein Patient erlitt eine Infarzierung der Restmilz [40]. Die direkt postoperative Sonographie zeigte eine pathologisch veränderte Milzstruktur ohne Durchblutung. Eine Sonographie 2 Monate nach Op zeigte eine relativ große kugelige Restmilz mit auffälliger Parenchymstruktur ohne Perfusion sowie V.a. Infarkte im cranialen Bereich. Bei einem Patient kam es zu einem Untergang der nicht durchbluteten Restmilz, wobei die verbliebene Nebenmilz weiterhin persistierte.

Antibiotika (AB) -Prophylaxe:
Keiner unserer operierten Patienten erlitt eine „overwhelming post-splenectomy-infection“ (OPSI). Für 4 Patienten der Gruppe 2 haben wir im Jahr 2005 eine Szintigraphie zur Sicherung der Phagozytosefunktion der Restmilz durchgeführt. Diese waren in allen Fällen physiologisch. Daraufhin setzten wir bei allen Patienten die Antibiotikaprophylaxe ab. Für die Patienten der Gruppe 2 sprachen wir die Empfehlung für eine AB-Prophylaxe für 1 Jahr postoperativ bei gut durchbluteter Restmilz und vollständigem Impfstatus aus. Diese führten wir mit Penicillin V durch. Für Patienten, die zum Zeitpunkt der Operation jünger

als 6 Jahre alt waren, empfahlen wir eine AB-Prophylaxe bis mind. einschließlich des 6. Lebensjahres.

3.2 Bestimmung von „Pitted Erythrocytes“

Die Grenzwerte wurden wie folgt gesetzt:
< 2 %: normwertig
2 - 4 %: grenzwertig erhöht
> 4 %: pathologisch erhöht
> 15 %: Aspleniegrenze

3.2.1 PitE Ergebnisse des Kontrollkollektivs

Zwischen den drei Altersgruppen zeigte sich im H-Test mit p = 0,125 kein Unterschied der pitE-Werte. 3 Kontrollen zeigten grenzwertig erhöhte Werte von 2 - 4 % im Graubereich (Tbl. 8).

Tbl. 8: Auffällige relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei Kontrollen; J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Kontrolle	Geschlecht	Alter (J)	**pitE (%)**
1	m	4,9	2,2
2	m	4,8	2,6
3	m	3,0	2,8

3.2.2 PitE Ergebnisse des Patientenkollektivs

Gruppe 1:
3 Patienten zeigten grenzwertig erhöhte pitE-Werte von 2 - 4 %, 1 Patient zeigte einen eindeutig erhöhten pitE-Wert > 4 % (Tbl. 9).

Tbl. 9: Auffällige relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei Patienten ohne Op; J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	Geschlecht	Alter (J)	**pitE (%)**	Patient	Geschlecht	Alter (J)	**pitE (%)**
1	m	8,1	2,6	3	w	10,7	3,2
2	w	14,8	2,6	4	w	9,6	5,0

Gruppe 2:

Im exakten U-Test zeigte sich kein Unterschied zwischen den pitE-Werten und der Anzahl der postoperativen Jahre (< 1 J po vs. > 1 J po) mit p = 0,693. Bei 6 von 24 Patienten waren die pitE-Werte mit 2 - 4 % grenzwertig erhöht. Bei 13 von 24 Patienten lagen die pitE-Werte > 4 % (Tbl. 10) und waren somit eindeutig erhöht. Bei 5 von 24 Patienten lagen die pitE-Werte < 2 %. Alle pitE-Werte der Gruppe 2 lagen < 15 % und somit unter der Aspleniegrenze.

Tbl. 10: Auffällige relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (PitE) bei Patienten nach subtotaler Splenektomie; J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	Geschlecht	Alter (J)	**pitE (%)**	Patient	Geschlecht	Alter (J)	**pitE (%)**
1	w	6,1	2,2	11	w	15,0	5,6
2	m	21,7	2,2	12	w	22,7	6,0
3	m	11,0	2,4	13	w	16,0	6,8
4	m	10,6	3,5	14	w	11,4	8,5
5	m	16,9	3,5	15	m	20,5	8,8
6	m	23,2	3,9	16	m	5,4	11,0
7	w	15,8	4,2	17	w	15,6	11,2
8	w	20,7	4,3	18	m	19,9	12,0
9	m	5,7	5,3	19	w	5,8	13,8
10	w	24,9	5,3				

Gruppe 3:

In unseren Erhebungen bei 10 Patienten der Gruppe 3 fand sich keine Korrelation zwischen den pitE-Werten und der Anzahl der postoperativen Jahre (< 7 Jahre vgl. > 7 Jahre) nach totaler Splenektomie im exakten U-Test mit p = 0,690. 10 der 10 Werte lagen > 4 % (Tbl. 11). 6 von 10 pitE-Werten waren > 15 % und lagen somit über der Aspleniegrenze.

Tbl. 11: Auffällige relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei Patienten nach totaler Splenektomie; J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	Geschlecht	Alter (J)	**pitE (%)**	Patient	Geschlecht	Alter (J)	**pitE (%)**
1	m	12,9	5,8	6	w	55,3	17,0
2	w	18,6	8,1	7	w	41,8	20,2
3	w	50,0	12,4	8	w	12,5	24,4
4	w	54,8	14,2	9	m	10,9	25,2
5	w	23,0	16,0	10	w	52,1	27,1

3.2.3 Gegenüberstellung der Ergebnisse in den Kollektiven

Die Verteilung der pitE-Werte des Kontrollkollektivs sowie des Patientenkollektivs zeigte sich unterschiedlich (Abb. 5 - 7). Die pitE-Werte wurden anhand der gesetzten Grenzwerte unterteilt: < 2 %, 2 - 4 %, > 4 %. Die Gruppe 2 und 3 besaß einen größeren Anteil an pitE-Werten > 4 % als die Kontrollgruppe und Gruppe 1, Gruppe 3 setzte sich nur aus pitE-Werten > 4 %, zu 60 % aus > 15 %, zusammen.

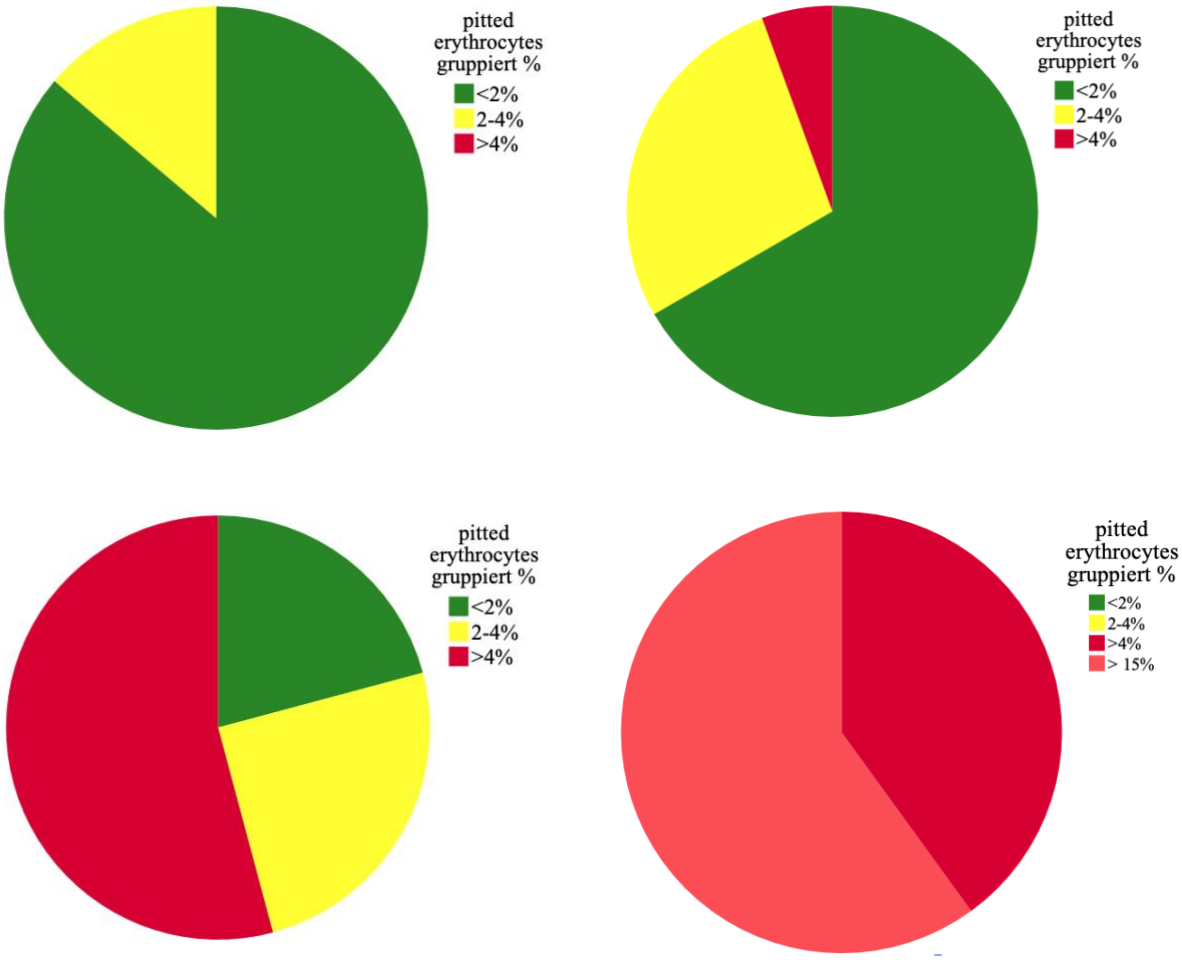

Abb. 5: Relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ gruppiert (< 2 %: grün, 2 - 4 %: gelb, > 4 %: rot, > 15 %: koralle) bei Kontrollen (links oben, n = 29) und Patienten (ohne Op: rechts oben, n = 18; nach subtotaler Splenektomie: links unten, n = 24; nach totaler Splenektomie: rechts unten, n = 10), Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

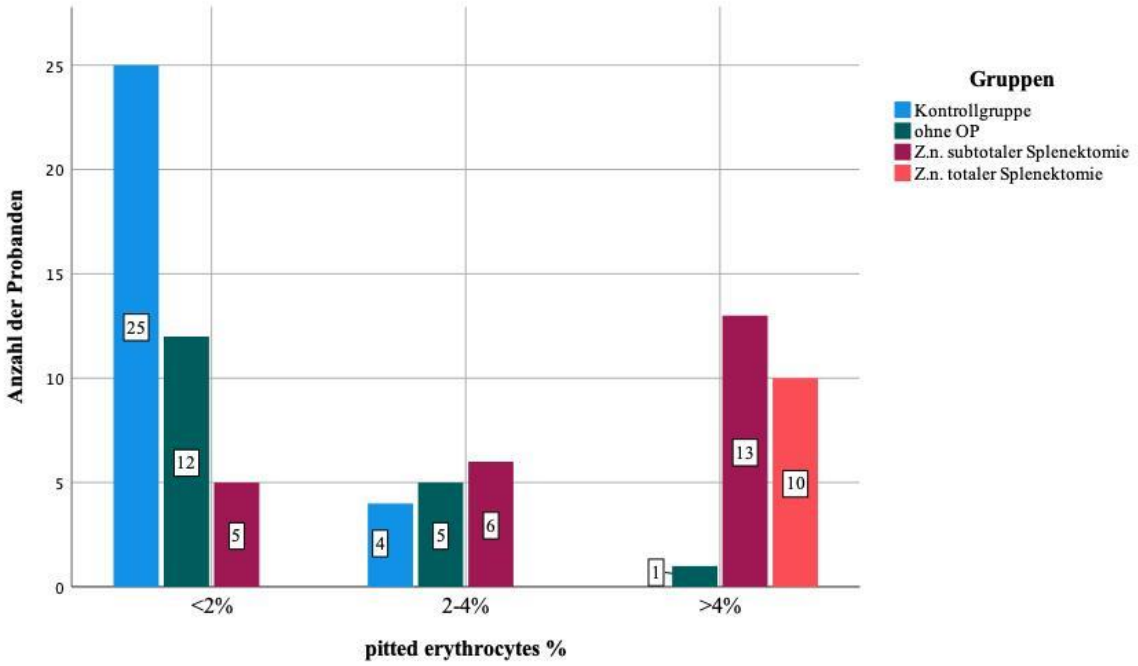

Abb. 6: Relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ gruppiert (< 2 %, 2 - 4 %, > 4 %) bei Kontrollen (n = 29) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 10), Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018, modifiziert nach [40] CC BY-NC-ND 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0, Rechte bei den Autoren

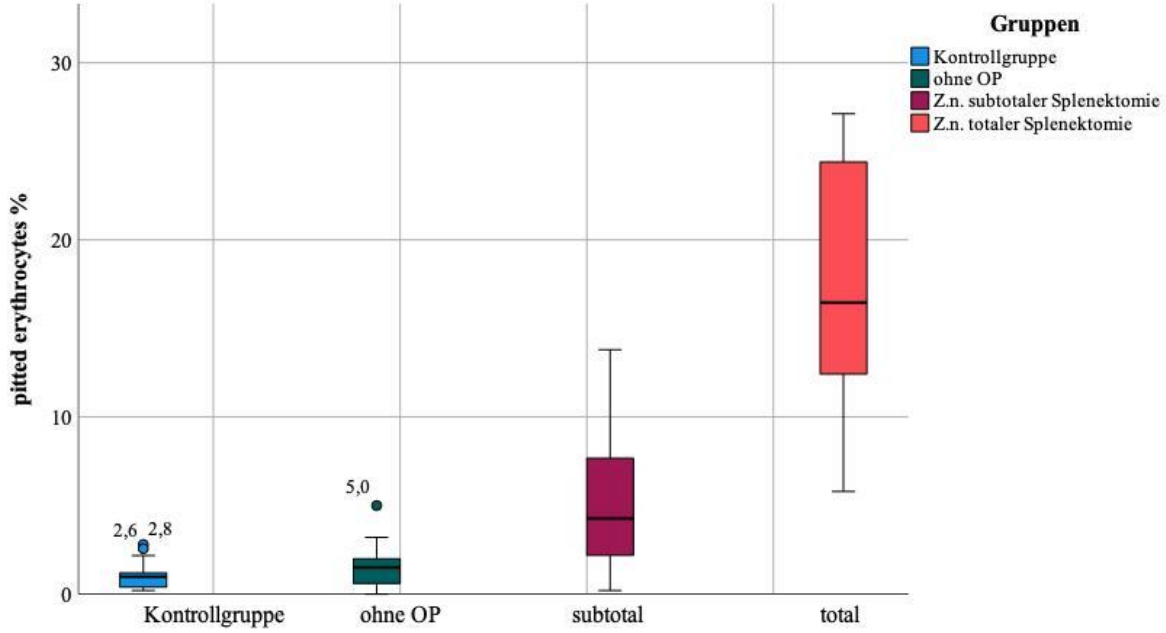

Abb. 7: Relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ bei Kontrollen (n = 29) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 10), Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018, modifiziert nach [40] CC BY-NC-ND 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0, Rechte bei den Autoren

Die weitere statistische Auswertung ergab erwartungsgemäß höhere pitE-Werte für Gruppe 2 und 3 im Vergleich zu Gruppe 1 und 4, ebenso für Gruppe 3 im Vergleich zu Gruppe 2 (Tbl. 12 - 13) [40].

Tbl. 12: Relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei Kontrollen und Patienten; Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

	pitE (%)	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 29)	1,0 (0,2 - 2,8)	1,1 +/- 0,7
Gruppe 1 (n = 18)	1,5 (0,0 - 5,0)	1,6 +/- 1,3
Gruppe 2 (n = 24)	4,1 (0,2 - 13,8)	5,2 +/- 4,0
Gruppe 3 (n = 10)	16,5 (5,8 - 27,1)	17,0 +/- 7,2

Tbl. 13: Paarvergleiche der relativen Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (PitE); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

pitE (%)	**U-Test**
Kontrollgruppe vs. Gruppe 2	$p < 0,001$
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	$p < 0,001$
Kontrollgruppe vs. Gruppe 3	$p < 0,001$
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	$p < 0,001$
Gruppe 2 vs. Gruppe 3	$p < 0,001$

3.2.4 Direkter Vergleich prä- und postoperativer Werte

Bei 4 Patienten wurden vor und nach subtotaler Splenektomie pitE-Messungen durchgeführt (Tbl. 14). Bei 1 Patienten lag der postoperative pitE-Wert bei 2 - 4 %. Bei 2 Patienten lagen die pitE-Werte > 4 %. Bei 3 Patienten kam es postoperativ zu einem Anstieg der pitE-Werte.

Tbl. 14: Relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (PitE) vor und nach subtotaler Splenektomie;
J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	Geschlecht	Alter (J) präoperativ	**pitE (%) präoperativ**	Alter (J) postoperativ	**pitE (%) postoperativ**
1	w	11,0	2,0	11,4	0,8
2	w	5,2	0,6	6,1	2,2
3	m	5,3	1,4	5,7	5,3
4	w	10,7	3,2	11,4	8,5

Bei einem Patient der Gruppe 3 wurden 2 postoperative Messungen durchgeführt (Tbl. 15). Beide pitE-Werte lagen > 4 %. Der 2. pitE-Wert betrug > 15 % und lag somit über der Aspleniegrenze.

Tbl. 15: Relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei einem Patienten nach totaler Splenektomie;
J = Jahre, d = Tag, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Zeitpunkt	Geschlecht	Alter (J)	Postoperativer Zeitraum	**pitE (%)**
1	m	7,6	1 d	4,2
2	m	10,9	3,3 J	25,2

3.3 B-Zell Immunphänotypisierung

Die Restmilzfunktion wurde im Rahmen dieser Studie bezüglich der bestehenden zellulären immunologischen Restfunktion anhand der Untersuchung von Blutproben auf IgM-Memory B-Zellen durchgeführt.

Der prozentuale Anteil der Lymphozyten bezog sich auf die Leukozyten. Die Verteilung der B-Zell Subpopulationen im Kontroll- und Patientenkollektiv wurde im Folgenden analysiert. Der prozentuale Anteil der B-Zellsubpopulationen bezieht sich auf die Gesamtzahl der B-Lymphozyten. Zusätzlich sind jeweils die absoluten Werte der jeweiligen B-Zell Subpopulationen eingefügt.

Bei 6 Patienten wurden vor und nach subtotaler Splenektomie Messungen durchgeführt. Auf die Patienten wird im Kapitel „Direkter Vergleich prä- und postoperativer Werte" genauer eingegangen.

3.3.1 Altersspezifische absolute Leukozytenzahl

Um den prozentualen Anteil der Lymphozyten an den Leukozyten im Kontext besser einschätzen zu können, sind in den Tabellen die absoluten Leukozytenwerte angegeben. Die absoluten Leukozytenzahlen in Altersgruppe 2 (Tbl. 16) zeigten keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Die absolute Leukozytenzahl in Gruppe 1 - 3 in Altersgruppe 3 (Tbl. 17) war höher als in der Kontrollgruppe (Tbl. 19). Die absolute Leukozytenzahl in Gruppe 2 und 3 in Altersgruppe 4 (Tbl. 18) zeigte sich höher als in der Kontrollgruppe (Tbl. 19).

Tbl. 16: Absolute Leukozytenzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 2); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J)	**Leukozyten (G/l)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	7,5 (4,3 - 10,3)	7,3 +/- 2,3
Gruppe 1 (n = 8)	6,6 (0,6 - 10,9)	6,7 +/- 3,1
Gruppe 2 (n = 4)	9,3 (7,1 - 10,7)	9,1 +/- 1,7

Tbl. 17: Absolute Leukozytenzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 3); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J)	**Leukozyten (G/l)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	6,3 (4,3 - 8,0)	6,5 +/- 1,2
Gruppe 1 (n = 6)	10,0 (6,4 - 13,1)	9,5 +/- 2,5
Gruppe 2 (n = 11)	8,8 (7,1 - 10,6)	8,9 +/- 1,1
Gruppe 3 (n = 3)	9,3 (8,4 - 19,3)	12,3 +/- 6,1

Tbl. 18: Absolute Leukozytenzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 4); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 4 (> 16 J)	**Leukozyten (G/l)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 18)	5,3 (4,3 - 6,3)	5,3 +/- 1,4
Gruppe 1 (n = 4)	7,8 (6,6 - 10,9)	8,3 +/- 1,9
Gruppe 2 (n = 9)	10,4 (9,4 - 12,8)	10,7 +/- 1,1
Gruppe 3 (n = 9)	9,3 (6,9 - 12,2)	9,4 +/- 1,6

Tbl. 19: Paarvergleiche der absoluten Leukozytenzahl, Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Leukozyten (G/l)	**U-Test**
Kontrollgruppe vs. Gruppe 1	Altersgruppe 3: p = 0,019
Kontrollgruppe vs. Gruppe 2	Altersgruppe 3: p < 0,001 Altersgruppe 4 p = 0,036
Kontrollgruppe vs. Gruppe 3	Altersgruppe 3 (10 - 16 J): p = 0,009 Altersgruppe 4 (> 16 J): p = 0,018

3.3.2 Altersspezifische absolute und relative Lymphozytenzahl

Die absolute Lymphozytenzahl der Gruppe 2 und 3 unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe (Tbl. 23). Die relative Lymphozytenzahl in Gruppe 1 der Altersgruppe 2 (Tbl. 20) war niedriger als in der Kontrollgruppe (Tbl. 23). Die relative Lymphozytenzahl der Gruppe 1 der Altersgruppe 3 (Tbl. 21) zeigte sich niedriger als in der Kontrollgruppe (Tbl. 23). Die relative Lymphoztyenzahl der Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 4 (Tbl. 22) unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe (Tbl. 23).

Tbl. 20: Absolute und relative Lymphozytenzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 2); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J)	**Lymphozyten (G/l)**		**Lymphozyten (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	3,0 (1,5 - 5,1)	3,2 +/- 1,1	44,5 (29 - 60,2)	44,1 +/- 9,7
Gruppe 1 (n = 8)	3,2 (1,7 - 3,2)	2,4 +/- 0,6	40 (28 - 40)	32,9 +/- 4,7
Gruppe 2 (n = 4)	3,7 (3,3 - 5,5)	4,0 +/- 1,0	43 (40 - 51)	44,3 +/- 5,3

Tbl. 21: Absolute und relative Lymphozytenzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 3); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J)	**Lymphozyten (G/l)**		**Lymphozyten (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	2,3 (1,3 - 5,6)	2,7 +/- 1,2	51 (21,3 - 38)	37 +/- 8,5
Gruppe 1 (n = 6)	2,3 (1,6 - 2,8)	2,2 +/- 0,4	23 (18 - 40)	24,6 +/- 8
Gruppe 2 (n = 11)	2,5 (1,7 - 3,5)	2,5 +/- 0,5	27 (17 - 43)	28,3 +/- 7,6
Gruppe 3 (n = 3)	2,3 (2,1 - 4,1)	2,9 +/- 1,1	23 (12 - 49)	28 +/- 19

Tbl. 22: Absolute und relative Lymphozytenzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 4), Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 4 (> 16 J)	**Lymphozyten (G/l)**		**Lymphozyten (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 5)	1,8 (1,5 - 3,2)	2,1 +/- 0,7	31,4 (28,7 - 34,0)	31,4 +/- 3,7
Gruppe 1 (n = 4)	1,8 (0,8 - 2,7)	1,8 +/- 0,8	23 (9 - 38)	23,3 +/- 13,5
Gruppe 2 (n = 9)	1,9 (1,0 - 6,0)	2,8 +/- 1,6	20 (9 - 47)	25,3 +/- 12,9
Gruppe 3 (n = 9)	3,3 (1,5 - 5,3)	3,3 +/- 1,2	35 (16 - 56)	36 +/- 13

Tbl. 23: Paarvergleiche der relativen Lymphozytenzahl; Gruppe 1: ohne Op, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Lymphozyten (%)	**U-Test**
Kontrollgruppe vs. Gruppe 1	Altersgruppe 2 (5 - 10 J): p = 0,014 Altersgruppe 3 (10 - 16 J): p = 0,036

3.3.3 Altersspezifische absolute und relative B-Lymphozytenzahl

Die absolute B-Lymphozytenzahl der Gruppe 3 der Altersgruppe 4 (Tbl. 26) zeigte sich höher als in der Kontrollgruppe bzw. in der Gruppe 1 (Tbl. 27). Die relative B-Lymphozytenzahl der Gruppe 2 und 3 unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe (Tbl. 27).

Tbl. 24: Absolute und relative B-Lymphozytenzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 2); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J)	**B-Lymphozyten/ µl**		**B-Lymphozyten (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	595 (160 - 1020)	601,3 +/- 280,3	19,5 (10,9 - 26,5)	18,4 +/- 5
Gruppe 1 (n = 8)	345 (264 - 608)	404,6 +/- 151,5	17,2 (12,3 - 19,7)	16,5 +/- 2,9
Gruppe 2 (n = 4)	829 (681 - 1255)	898,5 +/- 261,1	22,6 (20,5 - 23)	22,2 +/- 1,1

Tbl. 25: Absolute und relative B-Lymphozytenzahl bei Patienten und Kontrollen (Altersgruppe 3); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J)	**B-Lymphozyten/ µl**		**B-Lymphozyten (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	350 (179 - 676)	430,9 +/- 175,7	19,2 (9,7 - 25,2)	17,9 +/- 5
Gruppe 1 (n = 6)	320 (112 - 638)	359,3 +/- 179	14,7 (7 - 28,3)	15,7 +/- 7,1
Gruppe 2 (n = 11)	513 (209 - 668)	443,5 +/- 148	16,8 (12,4 - 28,2)	17,8 +/- 5,2
Gruppe 3 (n = 3)	473 (292 - 1247)	670,7 +/- 507,2	22,1 (12,6 - 30,3)	21,7 +/- 8,9

Tbl. 26: Absolute und relative B-Lymphozytenzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 4); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 4 (> 16 J)	**B-Lymphozyten/ µl**		**B-Lymphozyten (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 18)	192 (94 - 686)	280,2 +/- 232,8	11,3 (5,2 - 23,1)	13,2 +/- 5,5
Gruppe 1 (n = 4)	192,5 (38 - 276)	174,8 +/- 99,3	9,4 (5 - 13,5)	9,3 +/- 3,9
Gruppe 2 (n = 9)	292 (180 - 860)	415,3 +/- 246,6	15,6 (10,2 - 17,4)	15,1 +/- 2,3
Gruppe 3 (n = 9)	669 (330 - 951)	616,3 +/- 221,8	18,1 (12,9 - 26,7)	19 +/- 4,9

Tbl. 27: Paarvergleiche der absoluten B-Lymphozytenzahl; Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

B-Lymphozyten/ µl	**U-Test**
Kontrollgruppe vs. Gruppe 3	Altersgruppe 4 (> 16 J): p = 0,019
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	Altersgruppe 4: p = 0,003

3.3.4 Altersspezifische absolute und relative Naive B-Zellzahl

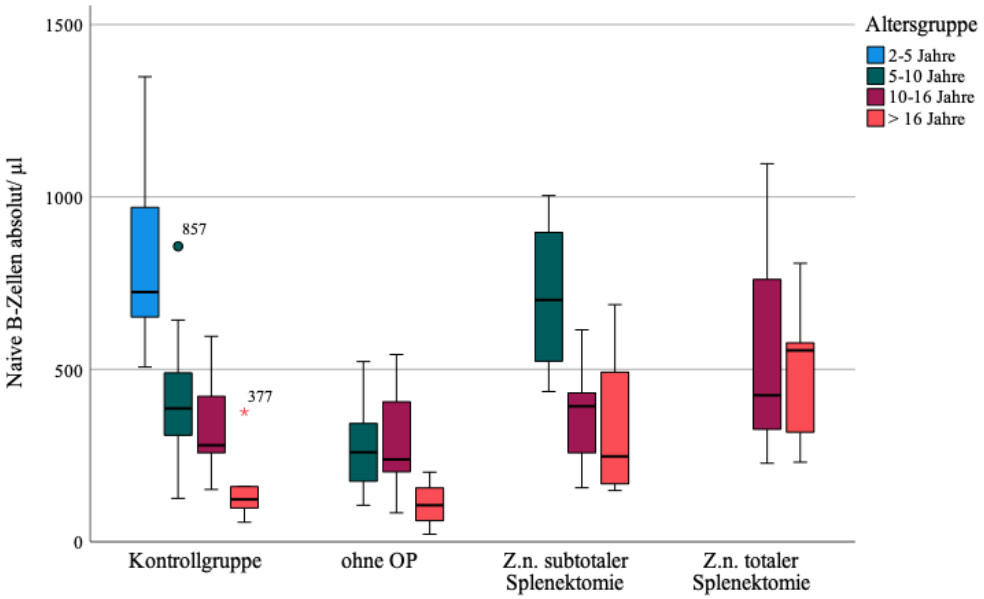

Abb. 8: Absolute Naive B-Zellzahl bei Kontrollen (n = 45) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 12), Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

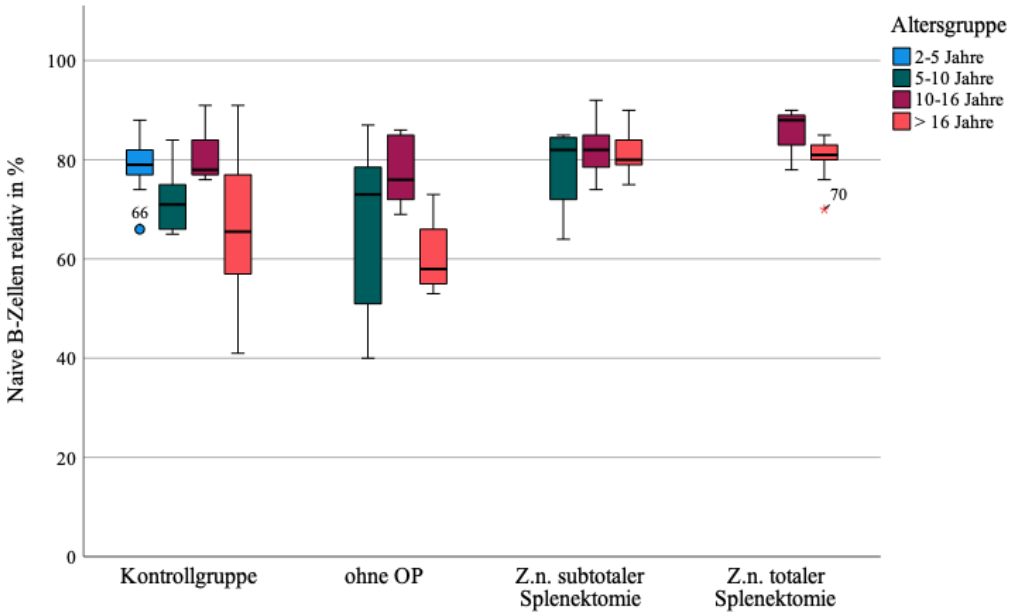

Abb. 9: Relative Naive B-Zellzahl bei Kontrollen (n = 45) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 12), Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Die Verteilung der absoluten sowie relativen Naiven B-Zellzahl des Kontrollkollektivs sowie des Patientenkollektivs zeigte sich unterschiedlich (Abb. 8 - 9).

Die absolute Naive B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe (Tbl. 31). Die relative Naive B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 2 (Tbl. 28) und 3 (Tbl. 29) unterschied sich nicht von der der Kontrollgruppe. Die absolute sowie relative Naive B-Zellzahl zeigte sich in Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 4 (Tbl. 30) höher als in der Kontrollgruppe bzw. in Gruppe 1 (Tbl. 31).

Tbl. 28: Absolute und relative Naive B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 2); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J)	**Naive B-Zellen/ µl**		**Naive B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	387 (126 - 857)	432,3 +/- 219	71 (65 - 84)	71,8 +/- 6,6
Gruppe 1 (n = 8)	259 (106 - 523)	273,3 +/- 133,4	73 (40 - 87)	66,5 +/- 17
Gruppe 2 (n = 4)	701,5 (436 - 1004)	710,8 +/- 242,4	82 (64 - 85)	78,3 +/- 9,7

Tbl. 29: Absolute und relative Naive B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 3); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J)	**Naive B-Zellen/ µl**		**Naive B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	280 (152 - 596)	346,3 +/- 147,9	78 (76 - 91)	80,3 +/- 5,2
Gruppe 1 (n = 6)	239 (84 - 543)	285,7 +/- 163,7	76 (69 - 86)	77,3 +/- 6,9
Gruppe 2 (n = 11)	393 (157 - 615)	367,7 +/- 137,4	82 (74 - 92)	82,1 +/- 5,7
Gruppe 3 (n = 3)	425 (228 - 1097)	583,3 +/- 455,6	88 (78 - 90)	85,3 +/- 6,4

Tbl. 30: Absolute und relative Naive B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 4); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 4 (> 16 J)	**Naive B-Zellen/ µl**		**Naive B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 18)	123 (57 - 377)	163 +/- 125,4	65,5 (41 - 91)	66,6 +/- 13,2
Gruppe 1 (n = 4)	106 (22 - 202)	109 +/- 73,7	58 (53 - 73)	60,5 +/- 8,7
Gruppe 2 (n = 9)	248 (149 - 688)	336,6 +/- 197,2	80 (75 - 90)	81,3 +/- 4,7
Gruppe 3 (n = 9)	555 (231 - 808)	499 +/- 192,8	81 (70 - 85)	80,2 +/- 4,6

Tbl. 31: Paarvergleiche der absoluten und relativen Naiven B-Zellzahl; Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Naive B-Zellen/ µl	**U-Test**
Kontrollgruppe vs. Gruppe 2	Altersgruppe 4 (> 16 J): p = 0,007
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	Altersgruppe 4: p = 0,034
Kontrollgruppe vs. Gruppe 3	Altersgruppe 4: p = 0,042
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	Altersgruppe 4: p = 0,003
Naive B-Zellen (%)	
Kontrollgruppe vs. Gruppe 2	Altersgruppe 4: p = 0,005
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	Altersgruppe 4: p = 0,003
Kontrollgruppe vs. Gruppe 3	Altersgruppe 4: p = 0,004
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	Altersgruppe 4: p = 0,004

3.3.5 Altersspezifische absolute und relative Transitionale B-Zellzahl

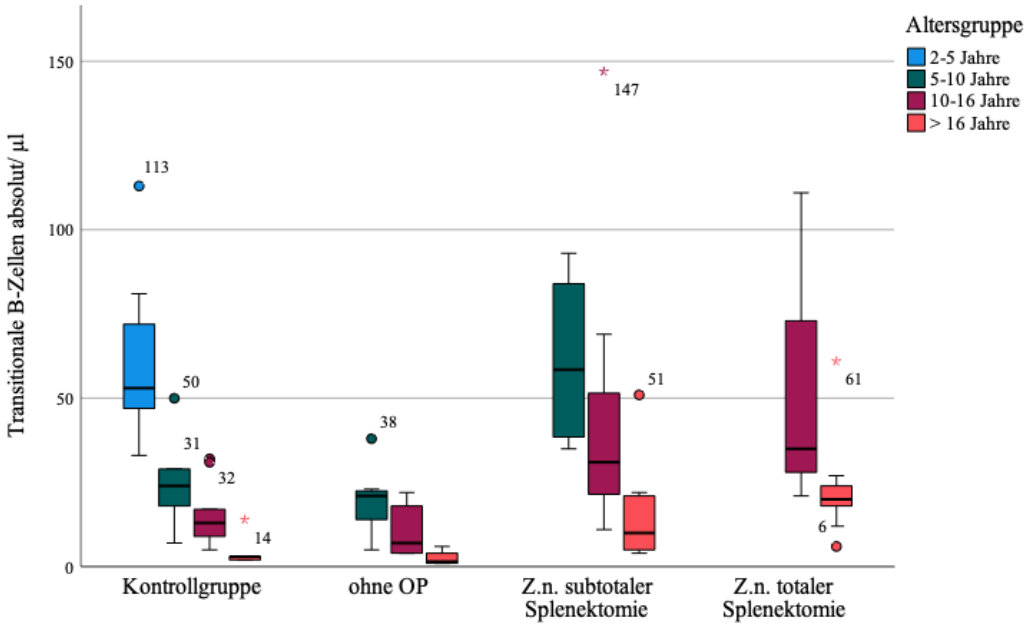

Abb. 10: Absolute Transitionale B-Zellzahl bei Kontrollen (n = 45) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 12), Universitätsklinikum Ulm, 2014 - 2018

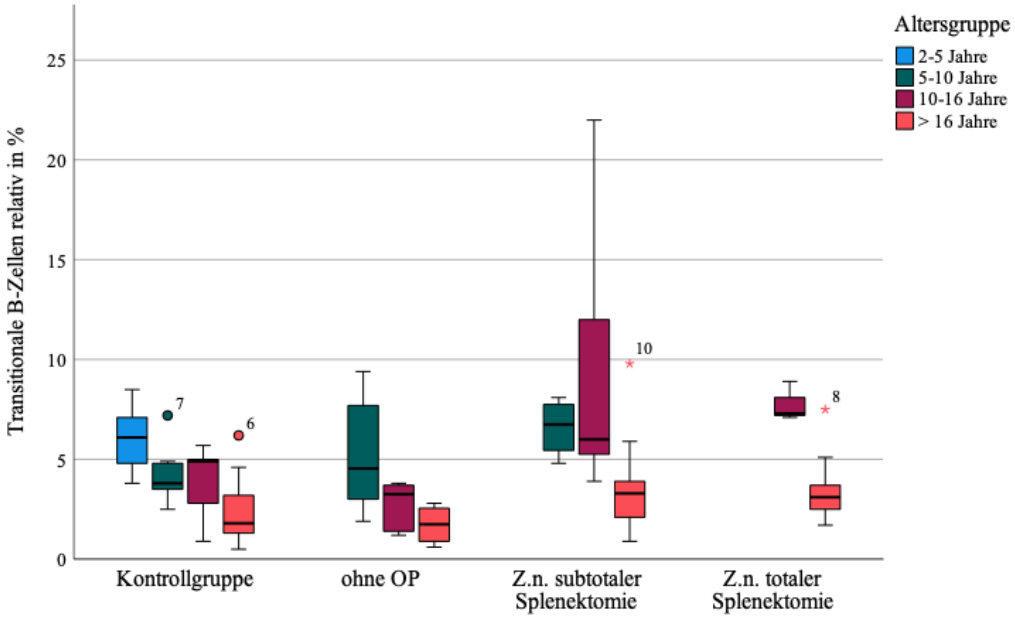

Abb. 11: Relative Transitionale B-Zellzahl bei Kontrollen (n = 45) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 12), Universitätsklinikum Ulm, 2014 - 2018

Die Verteilung der absoluten sowie relativen Transitionalen B-Zellzahl des Kontrollkollektivs sowie des Patientenkollektivs zeigte sich unterschiedlich (Abb. 10 - 11).

Die absolute Transitionale B-Zellzahl zeigte sich in Gruppe 2 der Altersgruppe 2 (Tbl. 32) höher als in der Kontrollgruppe bzw. Gruppe 1 (Tbl. 35). Die absolute sowie relative Transitionale B-Zellzahl war in Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 3 (Tbl. 33) höher als in der Kontrollgruppe bzw. Gruppe 1 (Tbl. 35). Die absolute Transitionale B-Zellzahl zeigte sich in Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 4 (Tbl. 34) höher als in der Kontrollgruppe bzw. in Gruppe 1 (Tbl. 35).

Tbl. 32: Absolute und relative Transitionale B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 2); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J)	**Transitionale B-Zellen/ µl**		**Transitionale B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	24 (7 - 50)	24,1 +/- 12	3,8 (2,5 - 7,2)	4,2 +/- 1,4
Gruppe 1 (n = 8)	21 (5 - 38)	19,8 +/- 9,6	4,6 (1,9 - 9,4)	5,2 +/- 2,8
Gruppe 2 (n = 4)	58,5 (35 - 93)	61,3 +/- 27,4	6,8 (4,8 - 8,1)	6,6 +/- 1,5

Tbl. 33: Absolute und relative Transitionale B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 3); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J)	**Transitionale B-Zellen/ µl**		**Transitionale B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	13 (5 - 32)	15,7 +/- 9,9	4,9 (0,9 -5,7)	3,9 +/- 1,9
Gruppe 1 (n = 6)	7 (4 - 22)	10,3 +/- 7,8	3,3 (1,2 -3,8)	2,8 +/- 1,2
Gruppe 2 (n = 11)	31 (11 - 147)	43,6 +/- 38,9	6 (3,9 - 22)	9 +/- 5,4
Gruppe 3 (n = 3)	35 (21 - 111)	55,7 +/- 48,4	7,3 (7,1 - 8,9)	7,8 +/- 1

Tbl. 34: Absolute und relative Transitionale B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 4); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 4 (> 16 J)	**Transitionale B-Zellen/ µl**		**Transitionale B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 18)	3 (2 - 14)	4,8 +/- 5,167	1,8 (0,5 - 6,2)	2,3 +/- 1,5
Gruppe 1 (n = 4)	1,5 (1 - 6)	2,5 +/- 2,4	1,8 (0,6 - 2,8)	1,7 +/- 1
Gruppe 2 (n = 9)	10 (4 - 51)	15,3 +/- 14,9	3,3 (0,9 -9,8)	3,7 +/- 2,7
Gruppe 3 (n = 9)	3,1 (1,7 - 7,5)	22,9 +/- 15,6	20 (6 - 61)	3,6 +/- 1,7

Tbl. 35: Paarvergleiche der absoluten und relativen Transitionalen B-Zellzahl; Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Transitionale B-Zellen/ µl	**U-Test**
Kontrollgruppe vs. Gruppe 2	Altersgruppe 2 (5 - 10 J): p = 0,008 Altersgruppe 3 (10 - 16 J): p = 0,016 Altersgruppe 4 (> 16 J): p = 0,026
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	Altersgruppe 2: p = 0,008 Altersgruppe 3: p = 0,002 Altersgruppe 4: p = 0,018
Kontrollgruppe vs. Gruppe 3	Altersgruppe 3: p = 0,004 Altersgruppe 4: p = 0,004
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	Altersgruppe 3: p < 0,001 Altersgruppe 4: p = 0,006
Transitionale B-Zellen (%)	
Kontrollgruppe vs. Gruppe 2	Altersgruppe 3: p = 0,036
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	Altersgruppe 3: p = 0,048
Kontrollgruppe vs. Gruppe 3	Altersgruppe 3: p = 0,010
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	Altersgruppe 3: p = 0,024

3.3.6 Altersspezifische absolute und relative Memory B-Zellzahl

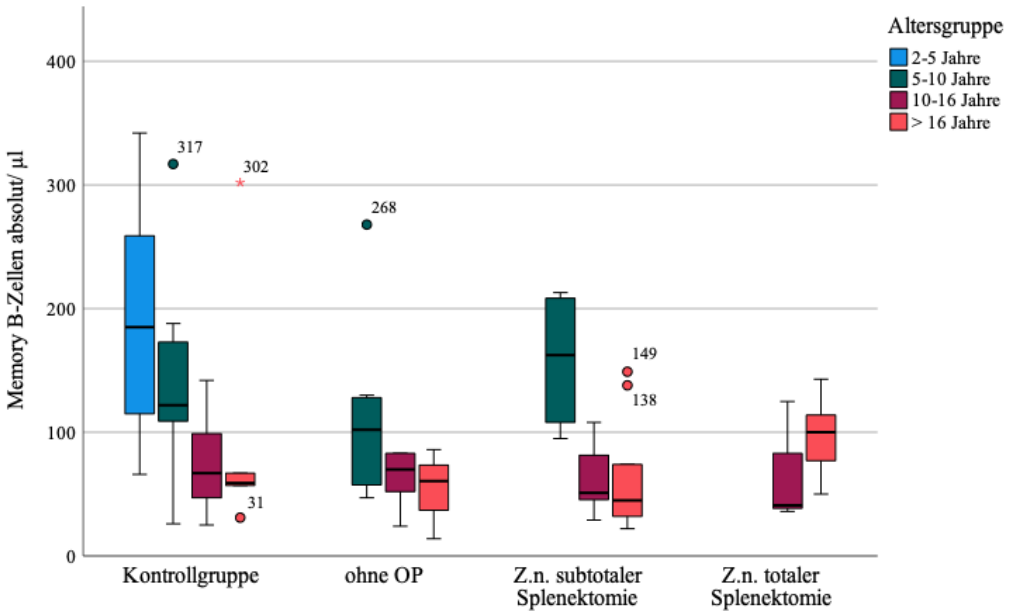

Abb. 12: Absolute Memory B-Zellzahl bei Kontrollen (n = 45) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 12), Universitätsklinikum Ulm, 2014 - 2018

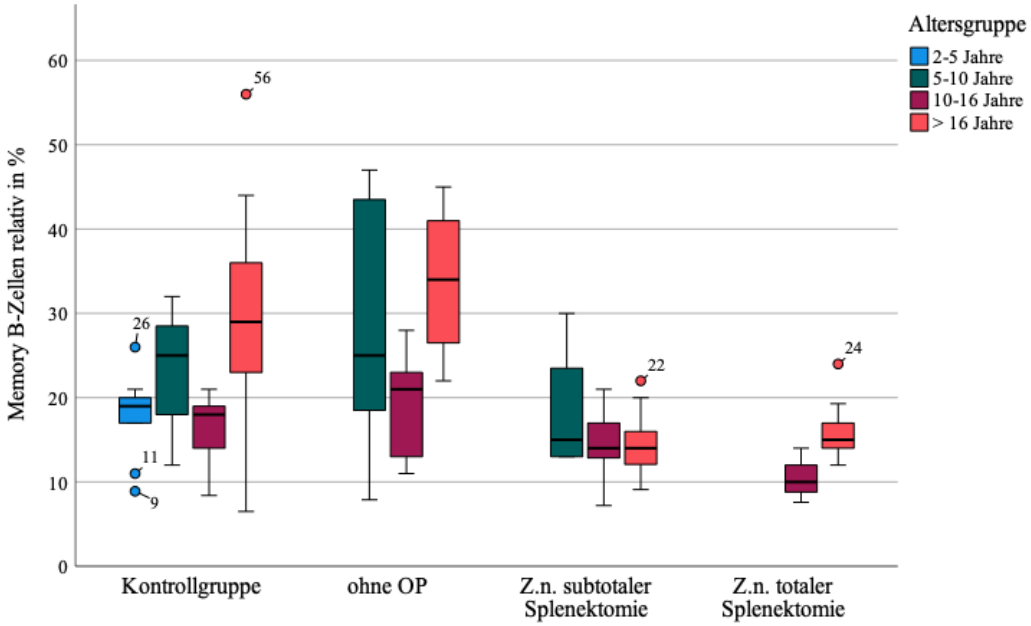

Abb. 13: Relative Memory B-Zellzahl bei Kontrollen (n = 45) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 12), Universitätsklinikum Ulm, 2014 - 2018

Die Verteilung der absoluten sowie relativen Memory B-Zellzahl des Kontrollkollektivs sowie des Patientenkollektivs zeigte sich unterschiedlich (Abb. 12 - 13). Die absolute Memory B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe (Tbl. 39). Die relative Memory B-Zellzahl der Gruppe 2 der Altersgruppe 2 (Tbl. 36) unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe. Die relative Memory B-Zellzahl zeigte sich in Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 3 (Tbl. 37) und 4 (Tbl. 38) niedriger als in der Kontrollgruppe bzw. Gruppe 1 (Tbl. 39).

Tbl. 36: Absolute und relative Memory B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten Altersgruppe 2); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J)	**Memory B-Zellen / µl**		**Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	122 (26 - 317)	141,9 +/- 80	25 (12 - 32)	23,5 +/- 6,7
Gruppe 1 (n = 8)	102 (47 - 268)	111,3 +/- 72	25 (7,9 - 47)	28,6 +/- 14,4
Gruppe 2 (n = 4)	162,5 (95 - 213)	159,3 +/- 59,1	15 (13 - 30)	18,3 +/- 8,1

Tbl. 37: Absolute und relative Memory B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 3); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J)	**Memory B-Zellen / µl**		**Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	67 (25 - 142)	72,1 +/- 35,8	18 (8,4 - 21)	16,7 +/- 4
Gruppe 1 (n = 6)	70 (24 - 83)	63,7 +/- 22,6	21 (11 - 28)	19,5 +/- 6,4
Gruppe 2 (n = 11)	51 (29 - 108)	62,7 +/- 27,3	14 (7,2 - 21)	14,5 +/- 4,4
Gruppe 3 (n = 3)	41 (36 - 125)	67,3 +/- 50	10 (7,6 - 14)	10,5 +/- 3,2

Tbl. 38: Absolute und relative Memory B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 4); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 4 (> 16 J)	**Memory B-Zellen / µl**		**Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 18)	59 (31 - 302)	103,2 +/- 112	29 (6,5 - 56)	29 +/- 12,2
Gruppe 1 (n = 4)	60,5 (14 - 86)	55,3 +/- 30	34 (22 - 45)	33,8 +/- 9,7
Gruppe 2 (n = 9)	45 (22 - 149)	63,2 +/- 48,1	14 (9,1 - 22)	14,6 +/- 4,1
Gruppe 3 (n = 9)	100 (50 - 143)	95 +/- 31,7	15 (12 - 24)	15,9 +/- 3,7

Tbl. 39: Paarvergleiche der relativen Memory B-Zellzahl; Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Memory B-Zellen (%)	**U-Test**
Kontrollgruppe vs. Gruppe 2	Altersgruppe 3 (10 -16 J): p = 0,032 Altersgruppe 4 (> 16 J): p = 0,002
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	Altersgruppe 4: p = 0,006
Kontrollgruppe vs. Gruppe 3	Altersgruppe 3: p = 0,036 Altersgruppe 4: p = 0,004
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	Altersgruppe 3: p = 0,018 Altersgruppe 4: p = 0,006

3.3.7 Altersspezifische absolute und relative IgM Memory B-Zellzahl

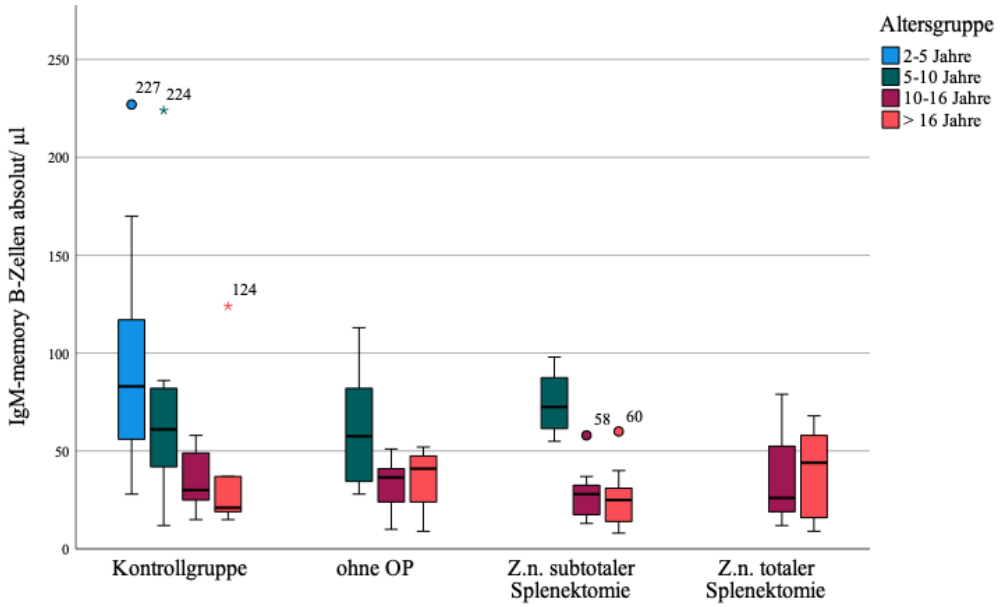

Abb. 14: Absolute IgM Memory B-Zellzahl bei Kontrollen (n = 45) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 12), Universitätsklinikum Ulm, 2014 - 2018, modifiziert nach [40] CC BY-NC-ND 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0, Rechte bei den Autoren

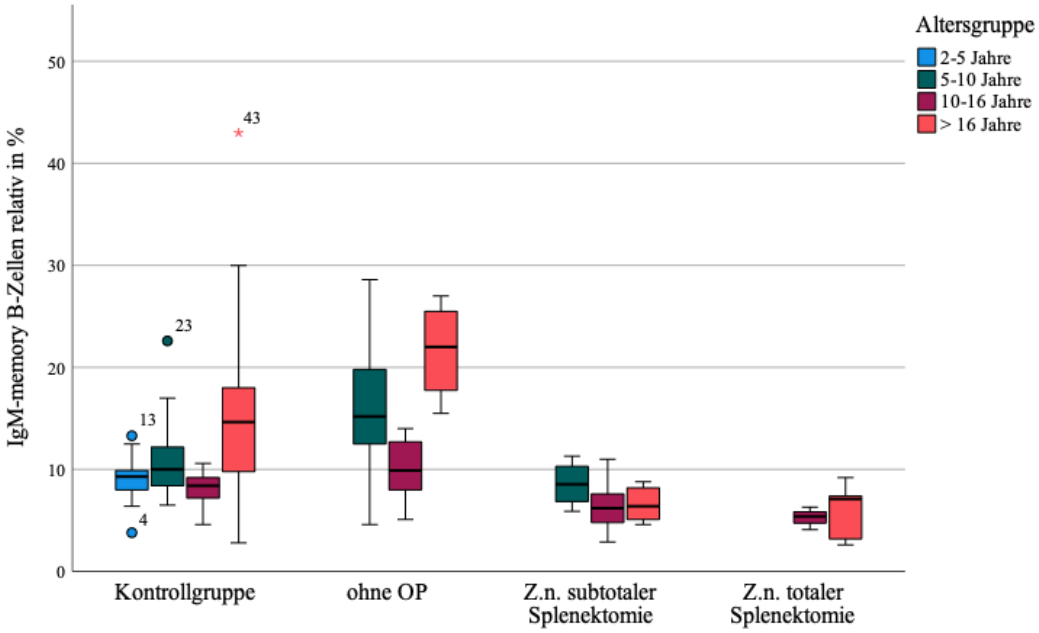

Abb. 15: Relative IgM Memory B-Zellzahl bei Kontrollen (n = 45) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24,: nach totaler Splenektomie: n = 12), Universitätsklinikum Ulm, 2014 - 2018, modifiziert nach [40] CC BY-NC-ND 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0, Rechte bei den Autoren

Die Verteilung der absoluten sowie relativen IgM Memory B-Zellzahl des Kontrollkollektivs sowie des Patientenkollektivs zeigte sich unterschiedlich (Abb. 14 - 15).

Die absolute IgM Memory B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe (Tbl. 45) [40].

Um Referenzwerte für unsere Studie festzulegen, untersuchten wir die relative IgM Memory B-Zellzahlen der Kontrollgruppe im Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung (Gruppe 1: $p = 0{,}766$, Gruppe 2: $p = 0{,}116$, Gruppe 3: $p = 0{,}533$, Gruppe 4: $p = 0{,}025$). Die Altersgruppe 4 zeigte sich nicht normalverteilt. Daher setzten wir die Referenzwerte für die relativen IgM Memory B-Zellzahlen auf den Bereich zwischen 16 % und 84 % Quantil.

Gegenüber der Kontrollgruppe zeigte die Gruppe 2 der Altersgruppe 2 (Tbl. 40) eine gute Immunfunktion, da es keinen Unterschied zwischen den 2 Gruppen bzgl. der relativen IgM Memory B-Zellzahl gab. Eine Kontrolle zeigte eine erniedrigte IgM Memory B-Zellzahl mit 6,5 %. Ein Patient aus Gruppe 1 wies eine erniedrigte relative Zahl mit 4,6 % auf. Ein Patient aus Gruppe 2 besaß eine erniedrigte relative Zahl mit 5,9 %.

Die relative IgM Memory B-Zellzahl der Gruppe 3 der Altersgruppe 3 (Tbl. 41) zeigte sich gegenüber der Kontrollgruppe niedriger (Tbl. 45) [40]. Die Gruppe 2 der Altersgruppe 3 zeigte im Vergleich mit der Kontrollgruppe keinen Unterschied. Eine Kontrolle zeigte eine erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl mit 4,6 %. Ein Patient aus Gruppe 1 besaß eine erniedrigte relative Zahl mit 5,1 %. Die relativen Zahlen von 5 Patienten aus Gruppe 2 und von 2 Patienten aus Gruppe 3 waren erniedrigt (Tbl. 42).

Die relative IgM Memory B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 4 (Tbl. 43) zeigte sich gegenüber der Kontrollgruppe und Gruppe 1 erniedrigt (Tbl. 45) [40]. Zwei Kontrollen zeigten eine erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl mit 2,8 % sowie 6,6 %. Alle Patienten der Gruppe 1 zeigten eine normwertige relative Zahl. 7 Patienten der Gruppe 2 und 9 Patienten der Gruppe 3 zeigten erniedrigte relative Zahlen (Tbl. 44).

Tbl. 40: Absolute und relative IgM Memory B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 2), Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Q = Quantil, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018, modifiziert nach [40] CC BY-NC-ND 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0, Rechte bei den Autoren

Alters-gruppe 2 (5 - 10 J)	**IgM Memory B-Zellen/ µl**		**IgM Memory B-Zellen (%)**			
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD	16 % Q	84 % Q
Kontrolle (n = 9)	61 (12 - 224)	74,3 +/- 60,5	10 (6,5 - 22,6)	11,7 +/- 5,2	7,040	19,240
Gruppe 1 (n = 8)	57,5 (28 - 113)	61,1 +/- 29,8	15,2 (4,6 -28,6)	16 +/- 7,1		
Gruppe 2 (n = 4)	72,5 (55 - 98)	74,5 +/- 18,1	8,6 (5,9 - 11,3)	8,6 +/- 2,3		

Tbl. 41: Absolute und relative IgM Memory B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 3); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Q = Quantil, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018, modifiziert nach [40] CC BY-NC-ND 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0, Rechte bei den Autoren

Alters-gruppe 3 (10 - 16 J)	**IgM Memory B-Zellen/ µl**		**IgM Memory B-Zellen (%)**			
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD	16 % Q	84 % Q
Kontrolle (n = 9)	30 (15 - 58)	34,7 +/- 14,4	8,4 (4,6 - 10,6)	8,3 +/- 1,8	6,160	10,540
Gruppe 1 (n = 6)	36,5 (10 - 51)	33,2 +/- 14,3	9,9 (5,1 - 14)	9,9 +/- 3,2		
Gruppe 2 (n = 11)	28 (13 - 58)	27,6 +/- 13	6,2 (2,9 - 11)	6,4 +/- 2,4		
Gruppe 3 (n = 3)	26 (12 - 79)	39 +/- 35,3	5,4 (4,1 - 6,3)	5,3 +/- 1,1		

Tbl. 42: Auffällige relative IgM Memory B-Zellzahl (Altersgruppe 3); Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Q = Quantil, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient Altersgruppe 3 (10 - 16 Jahre)	Geschlecht	Gruppe	**IgM Memory B-Zellen (%)** < 16 Q (6,160)
1	m	2	2,9
2	m	3	4,1
3	m	2	4,3
4	m	2	4,7
5	w	2	5,1
6	w	2	5,3
7	m	3	5,6

Tbl. 43: Absolute und relative IgM Memory B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 4); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Q = Quantil, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018, modifiziert nach [40]CC BY-NC-ND 4.0, https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0, Rechte bei den Autoren

Alters-gruppe 4 (> 16 J)	**IgM Memory B-Zellen/ µl**		**IgM Memory B-Zellen (%)**			
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD	16 % Q	84 % Q
Kontrolle (n = 18)	21 (15 -124)	43,2 +/- 45,9	14,7 (2,8 - 43)	15,9 +/- 9,3	8,836	23,840
Gruppe 1 (n = 4)	41 (9 - 52)	35,8 +/- 18,6	22 (15,5 - 27)	21,6 +/- 5		
Gruppe 2 (n = 9)	25 (8 - 60)	26,4 +/- 16	6,4 (4,6 - 8,8)	6,6 +/- 1,7		
Gruppe 3 (n = 9)	44 (9 - 68)	38 +/- 22,3	7,1 (2,6 - 9,2)	5,9 +/- 2,5		

Tbl. 44: Auffällige relative IgM Memory B-Zellzahl (Altersgruppe 4); Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Q = Quantil, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient Altersgruppe 4 (> 16 Jahre)	Geschlecht	Gruppe	**IgM Memory B-Zellen (%)** < 16 Q (8,836)
1	w	3	2,6
2	w	3	3,1
3	w	3	3,7
4	w	2	4,6
5	w	2	5,0
6	w	3	5,0
7	m	2	5,2
8	w	3	5,3
9	m	2	5,8
10	m	2	7,1
11	m	3	7,1
12	w	3	7,4
13	w	3	7,4
14	m	2	7,4
15	w	3	8,1
16	w	2	8,6

Tbl. 45: Paarvergleiche der relativen IgM Memory B-Zellzahl; Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

IgM Memory B-Zellen (%)	U-Test
Kontrollgruppe vs. Gruppe 2	Altersgruppe 4: p < 0,001
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	Altersgruppe 4: p = 0,002
Kontrollgruppe vs. Gruppe 3	Altersgruppe 3 (10 - 16 J): p = 0,028 Altersgruppe 4 (> 16 J): p < 0,001
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	Altersgruppe 4: p = 0,002

3.3.8 Altersspezifische absolute und relative MZ-like B-Zellzahl

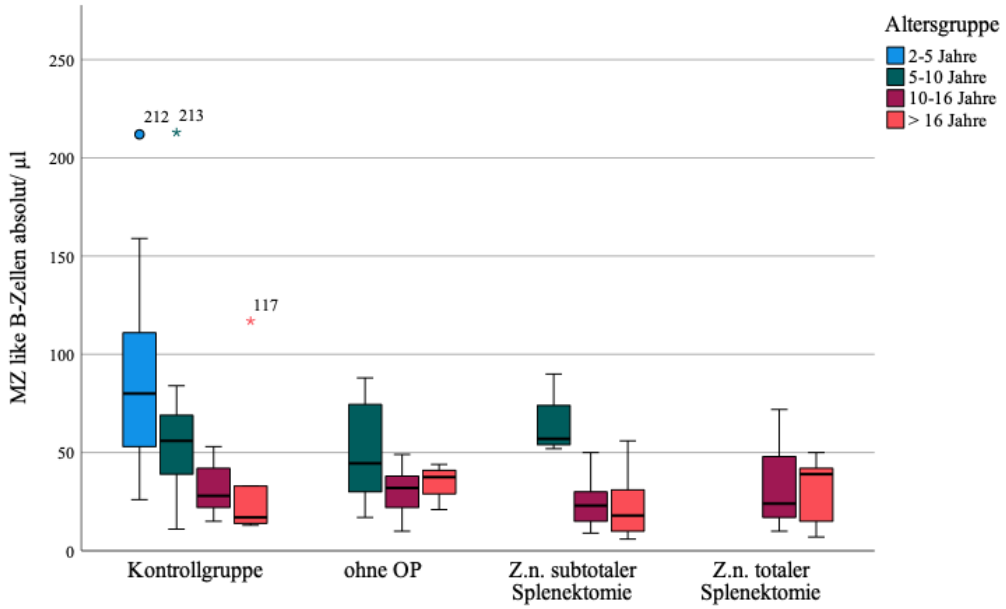

Abb. 16: Absolute Marginalzonen (MZ) like B-Zellzahl bei Kontrollen (n = 45) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 12), Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

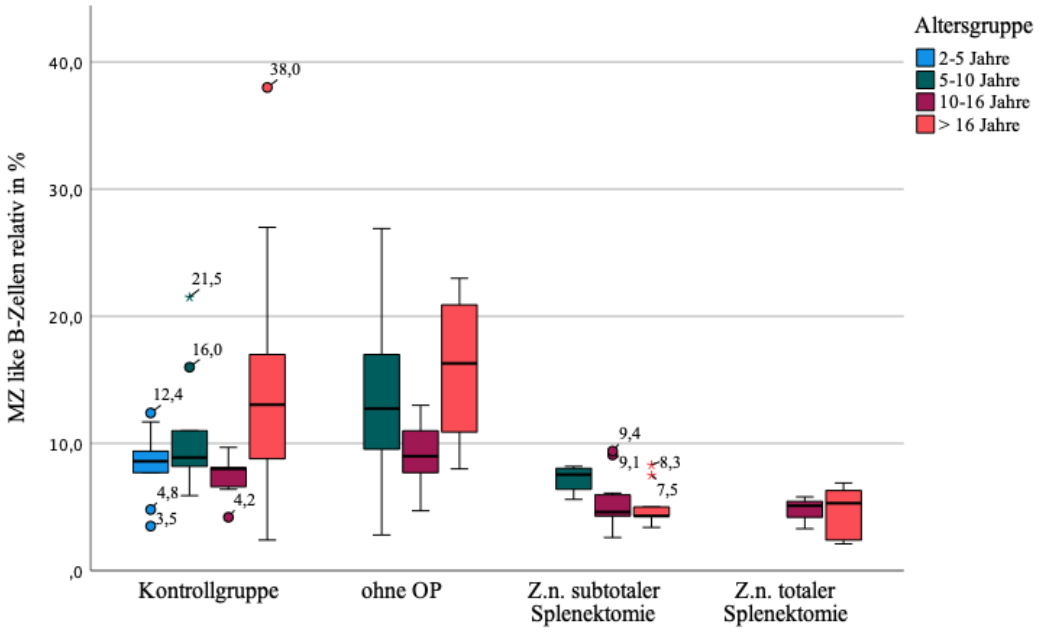

Abb. 17: Relative Marginalzonen (MZ) like B-Zellzahl bei Kontrollen (n = 45) und Patienten (ohne Op: n = 18, nach subtotaler Splenektomie: n = 24, nach totaler Splenektomie: n = 12), Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Die Verteilung der absoluten sowie relativen MZ-like B-Zellzahl des Kontrollkollektivs sowie des Patientenkollektivs zeigte sich unterschiedlich (Abb. 16 - 17).

Die absolute MZ-like B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe (Tbl. 51).

Gegenüber der Kontrollgruppe zeigte die Gruppe 2 in Altersgruppe 2 (Tbl. 46) eine gute Immunfunktion, da es keinen Unterschied zwischen den zwei Gruppen bzgl. der relativen MZ-like B-Zellzahl gab. Je 1 Patient aus der Gruppe 4 (5,9 %), der Gruppe 1 (2,8 %) und der Gruppe 2 (5,6 %) besaß eine erniedrigte relative MZ-like B-Zellzahl.

Die relative MZ-like B-Zellzahl zeigte sich in Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 3 (Tbl. 47) niedriger als in der Kontrollgruppe und Gruppe 1 (Tbl. 51). Eine Kontrolle zeigte eine erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl mit 4,2 %. Ein Patient aus Gruppe 1 besaß eine erniedrigte relative Zahl mit 4,7 %. Die relativen Zahlen von 6 Patienten aus Gruppe 2 und von 2 Patienten aus Gruppe 3 waren erniedrigt (Tbl. 48).

Die relative MZ-like B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 4 (Tbl. 49) zeigte sich gegenüber der Kontrollgruppe und Gruppe 1 erniedrigt (Tbl. 51). Zwei Kontrollen zeigten erniedrigte relative MZ-like B-Zellzahlen mit 2,4 % sowie 6,2 %. Alle Patienten der Gruppe 1 zeigten eine normwertige relative Zahl. 7 Patienten der Gruppe 2 und 8 Patienten der Gruppe 3 zeigten erniedrigte relative Zahlen (Tbl. 50).

Tbl. 46: Absolute und relative Marginalzonen (MZ) like B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 2); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Q = Quantil, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Alters-gruppe 2 (5 - 10 J)	**MZ-like B-Zellen/ µl**		**MZ-like B-Zellen (%)**			
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD	16 % Q	84 % Q
Kontrolle (n = 9)	56 (11 - 213)	68,7 +/- 58	8,9 (5,9 - 21,5)	10,7 +/- 5	6,380	18,200
Gruppe 1 (n = 8)	44,5 (17 - 88)	50,4 +/- 26,3	12,8 (2,8 - 26,9)	13,5 +/- 7,3		
Gruppe 2 (n = 4)	57 (52 - 90)	64 +/- 17,5	7,6 (5,6 - 8,2)	7,2 +/- 1,2		

Tbl. 47: Absolute und relative Marginalzonen (MZ) like B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 3); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Q = Quantil, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Alters-gruppe 3 (10 - 16 J)	**MZ-like B-Zellen/ µl**		**MZ-like B-Zellen (%)**			
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD	16 % Q	84 % Q
Kontrolle (n = 9)	28 (15 - 53)	31,6 +/- 12,7	8 (4,2 - 9,7)	7,5 +/- 1,7	5,520	9,460
Gruppe 1 (n = 6)	32 (10 - 49)	30,5 +/- 13,4	9 (4,7 - 13)	9,1 +/- 2,8		
Gruppe 2 (n = 11)	23 (9 - 50)	23,6 +/- 11,6	4,6 (2,6 - 9,4)	5,5 +/- 2,1		
Gruppe 3 (n = 3)	24 (10 - 72)	35,3 +/- 32,5	5,1 (3,3 - 5,8)	4,7 +/- 1,3		

Tbl. 48: Auffällige relative Marginalzonen (MZ) like B-Zellzahl (Altersgruppe 3); Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Q = Quantil, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient Altersgruppe 3 (10 - 16 Jahre)	Geschlecht	Gruppe	**MZ-like B-Zellen (%)** < 16 Q (5,520)
1	m	2	2,6
2	m	3	3,3
3	m	2	3,7
4	m	2	4,2
5	w	2	4,4
6	w	2	4,4
7	w	2	4,6
8	m	3	5,1

Tbl. 49: Absolute und relative Marginalzonen (MZ) like B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 4); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Q = Quantil, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Alters-gruppe 4 (> 16 J)	**MZ-like B-Zellen/ µl**		**MZ-like B-Zellen (%)**			
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD	16 % Q	84 % Q
Kontrolle (n = 18)	17 (13 - 117)	38,8 +/- 44,5	13,1 (2,4 - 38)	14 +/- 8,4	6,768	19,880
Gruppe 1 (n = 4)	37,5 (21 - 44)	35 +/- 9,8	16,3 (8 - 23)	15,9 +/- 6,5		
Gruppe 2 (n = 9)	18 (6 - 56)	22,4 +/- 16,1	4,3 (3,4 - 8,3)	4,3 +/- 1,7		
Gruppe 3 (n = 9)	39 (7 - 50)	30 +/- 17,1	7,1 (2,6 - 9,2)	4,7 +/- 2		

Tbl. 50: Auffällige relative Marginalzonen (MZ) like B-Zellzahl (Altersgruppe 4); Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Q = Quantil, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient Altersgruppe 4 (> 16 Jahre)	Geschlecht	Gruppe	**MZ-like B-Zellen (%)** < 16 % Q (6,768)
1	w	3	2,1
2	w	3	2,2
3	w	3	2,4
4	w	2	3,4
5	w	2	4,1
6	m	2	4,3
7	m	2	4,3
8	m	2	4,3
9	w	3	4,5
10	m	2	4,6
11	w	2	5,0
12	w	3	5,3
13	w	3	6,1
14	m	3	6,3
15	w	3	6,5

Tbl. 51: Paarvergleiche der relativen Marginalzonen (MZ) like B-Zellzahl; Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

MZ-like B-Zellen (%)	**U-Test**
Kontrollgruppe vs. Gruppe 2	Altersgruppe 3 (10 - 16 J): p = 0,032 Altersgruppe 4 (> 16 J): p < 0,001
Gruppe 1 vs. Gruppe 2	Altersgruppe 3: p = 0,018 Altersgruppe 4: p = 0,006
Kontrollgruppe vs. Gruppe 3	Altersgruppe 3: p = 0,036 Altersgruppe 4: p < 0,001
Gruppe 1 vs. Gruppe 3	Altersgruppe 4: p = 0,002

3.3.9 Altersspezifische absolute und relative Switched Memory B-Zellzahl

Die absolute Switched Memory B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe (Tbl. 55).

Gegenüber der Kontrollgruppe zeigte die Gruppe 2 der Altersgruppe 2 (Tbl. 52) eine gute erworbene Immunfunktion, da es keinen Unterschied zwischen den zwei Gruppen bzgl. der Switched Memory B-Zellzahl gab. Gegenüber der Kontrollgruppe zeigte die Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 3 (Tbl. 53) eine gute erworbene Immunfunktion, da es keinen Unterschied zwischen den Gruppen gab.

Die relative Switched Memory B-Zellzahl war in Gruppe 2 der Altersgruppe 4 (Tbl. 54) niedriger als in der Kontrollgruppe (Tbl. 55). Gegenüber der Kontrollgruppe zeigte die Gruppe 3 der Altersgruppe 4 eine gute erworbene Immunfunktion, da es keinen Unterschied zwischen den zwei Gruppen gab.

Tbl. 52: Absolute und relative Switched Memory B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 2); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Alters-gruppe 2 (5 - 10 J)	**Switched Memory B-Zellen/ µl**		**Switched Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	63 (11 - 105)	64,4 +/- 34,7	10,5 (4,1 - 17,6)	10,9 +/- 4,2
Gruppe 1 (n = 8)	30,5 (10 - 99)	37,8 +/- 27,6	8,5 (3,1 - 17,2)	9,7 +/- 5,9
Gruppe 2 (n = 4)	66,5 (25 - 92)	62,5 +/- 31,2	6,3 (3,5 - 12,4)	7,1 +/- 3,8

Tbl. 53: Absolute und relative Switched Memory B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 3); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Alters-gruppe 3 (10 - 16 J)	**Switched Memory B-Zellen/ µl**		**Switched Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 9)	25 (8 - 77)	32,1 +/- 22,8	7,4 (3,2 - 11,4)	7,4 +/- 2,9
Gruppe 1 (n = 6)	27 (11 - 33)	25,7 +/- 7,6	8,9 (4,3 - 11,3)	8,2 +/- 2,7
Gruppe 2 (n = 11)	23 (8 - 53)	26,5 +/- 14,9	6,1 (1,2 - 10,4)	6,1 +/- 2,5
Gruppe 3 (n = 3)	18 (9 - 42)	23 +/- 17,1	3,4 (2 - 6,1)	3,8 +/- 2,1

Tbl. 54: Absolute und relative Switched Memory B-Zellzahl bei Kontrollen und Patienten (Altersgruppe 4); Gruppe 1: ohne Op, Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, Gruppe 3: nach totaler Splenektomie, Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Alters-gruppe 4 (> 16 J)	**Switched Memory B-Zellen/ µl**		**Switched Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Kontrolle (n = 18)	62,4 (16 - 165)	54,8 +/- 62,4	5,7 (3,3 - 24)	11,9 +/- 5,7
Gruppe 1 (n = 4)	23,5 (4 - 35)	21,5 +/- 14,2	11,5 (5,8 - 16)	11,2 +/- 4,4
Gruppe 2 (n = 9)	14 (6 - 86)	31,4 +/- 30,4	6,5 (2 -12,7)	7 +/- 3,7
Gruppe 3 (n = 9)	53 (36 - 79)	52,2 +/- 13,6	8,3 (6,3 - 16)	9,2 +/- 3

Tbl. 55: Paarvergleich der relativen Switched Memory B-Zellzahl; Gruppe 2: nach subtotaler Splenektomie, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Switched Memory B-Zellen (%)	**U-Test**
Kontrollgruppe vs. Gruppe 2	Altersgruppe 4 (> 16 J): p = 0,024

3.3.10 Direkter Vergleich prä- und postoperativer Werte

Für den direkten Vergleich prä- und postoperative Werte wurden alleinig die relativen Zellzahlen betrachet, da dort ein Unterschied bestand. Die relative Transitionale B-Zellzahl nahm nach Intervention in beiden Altersgruppen zu (Tbl. 56 - 57). Die relative Memory B-Zellzahl nahm nach Intervention in beiden Altersgruppen ab (Tbl. 58 - 59). Einerseits nahm die relative IgM Memory B-Zellzahl sowie die relative MZ-like B-Zellzahl nach Intervention in beiden Altersgruppen ab (Tbl. 60 - 64). Andererseits nahm die relative

Switched Memory B-Zellzahl nach Intervention in beiden Altersgruppen ab (Tbl. 64 - 65).

Tbl. 56: Relative Transitionale B-Zellzahl vor und nach subtotaler Splenektomie (Altersgruppe 2); Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J) (n = 3)	**Transitionale B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Präoperativ	3,6 (2,4 ↓ - 4,4)	3,5 +/- 0,8
Postoperativ	6,1 ↑ (4,8 - 8,1 ↑)	6,3 +/- 1,4
Differenz	+ 3,7 (+0,4 - +4,5)	+2,9 +/- 1,8

Tbl. 57: Relative Transitionale B-Zellzahl vor und nach subtotaler Splenektomie (Altersgruppe 3); Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J) (n = 3)	**Transitionale B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Präoperativ	3,7 (3,1 - 3,8)	3,5 +/- 0,3
Postoperativ	6,0 ↑ (3,9 - 8,3 ↑)	6,1 +/- 1,8
Differenz	+4,3 (+0,8 - +4,5)	+3,2 +/- 1,7

Tbl. 58: Relative Memory B-Zellzahl vor und nach subtotaler Splenektomie (Altersgruppe 2); Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J) (n = 3)	**Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Präoperativ	25 (7,9 ↓ - 44)	25,6 +/- 14,7
Postoperativ	13 ↓ (13 ↓ - 30)	18,7 +/- 8,0
Differenz	-12,0 (+5,1 - -14,0)	-7,0 +/- 8,6

Tbl. 59: Relative Memory B-Zellzahl vor und nach subtotaler Splenektomie (Altersgruppe 3); Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J) (n = 3)	**Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Präoperativ	21 ↑ (11 ↓ - 23 ↑)	18,3 +/- 5,3
Postoperativ	14 (7,2 ↓ - 17)	12,7 +/- 4,1
Differenz	-6,0 (-3,8 - -7,0)	-5,6 +/- 1,3

Tbl. 60: Relative IgM Memory B-Zellzahl vor und nach subtotaler Splenektomie (Altersgruppe 2); Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J) (n = 3)	**IgM Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Präoperativ	16,8 (4,6 ↓ - 18,6)	13,3 +/- 6,2
Postoperativ	9,3 (5,9 ↓ - 11,3)	8,8 +/- 2,2
Differenz	-7,5 (+1,3 - -7,3)	-4,5 +/- 4,1

Tbl. 61: Relative IgM Memory B-Zellzahl vor und nach subtotaler Splenektomie (Altersgruppe 3); Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J) (n = 3)	**IgM Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Präoperativ	9,3 (5,1 ↓ - 12,7 ↑)	9,0 +/- 3,1
Postoperativ	5,0 ↓ (2,9 ↓ - 8,2)	5,4 +/- 2,2
Differenz	-4,3 (-2,2 - -4,5)	-3,7 +/- 1,0

Tbl. 62: Relative Marginalzonen (MZ) like B-Zellzahl vor und nach subtotaler Splenektomie (Altersgruppe 2); Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J) (n = 3)	**MZ-like B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Präoperativ	14,5 (2,8 - 14,7)	10,7 +/- 6,8
Postoperativ	7,9 (5,6 - 8,2)	7,2 +/- 1,4
Differenz	-4,8 (+2,8 - -6,3)	-2,8 +/- 4,9

Tbl. 63: Relative Marginalzonen (MZ) like B-Zellzahl vor und nach subtotaler Splenektomie (Altersgruppe 3); Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J) (n = 3)	**MZ-like B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Präoperativ	8,8 (4,7 - 11,0)	8,4 +/- 3,5
Postoperativ	4,6 (2,6 - 6,1)	4,4 +/- 1,8
Differenz	-4,2 (-2,1 - -4,9)	3,7 +/- 1,5

Tbl. 64: Relative Switched Memory B-Zellzahl vor und nach subtotaler Splenektomie (Altersgruppe 2); Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 2 (5 - 10 J) (n = 3)	**Switched Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Präoperativ	6,2 (3,1 - 16,2)	8,5 +/- 5,6
Postoperativ	5,3 (3,5 - 12,4)	7,1 +/- 3,8
Differenz	-2,7 (+2,2 - -3,8)	-1,4 +/- 2,6

Tbl. 65: Relative Switched Memory B-Zellzahl vor und nach subtotaler Splenektomie (Altersgruppe 3); Min = Minimalwert, Max = Maximalwert, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Altersgruppe 3 (10 - 16 J) (n = 3)	**Switched Memory B-Zellen (%)**	
	Median (Min - Max)	MW +/- SD
Präoperativ	9 (5,7 - 10,2)	8,3 +/- 1,9
Postoperativ	6,1 (3,8 - 6,5)	5,5 +/- 1,4
Differenz	-2,5 (-1,9 - -4,1)	-2,8 +/- 0,9

3.4 Gegenüberstellung von pitE und B-Zell Immunphänotypisierung

3.4.1 Gegenüberstellung der Ergebnisse im Kontrollkollektiv

Alle Patienten mit einer pathologisch erniedrigten relativen IgM Memory B-Zellzahl (< 16. Q) zeigten normwertige pitE-Werte (Tbl. 66). Alle Patienten mit pitE-Werten > 2 % zeigten normwertige relative IgM Memory B-Zellzahlen (Tbl. 67).

Tbl. 66: Auffällige relative IgM Memory B-Zellzahl (< 16. Quantil) jeweils bezogen auf altersgruppenspezifische Referenzbereiche (Altersgruppe 2: 5 - 10 Jahre (J), Altersgruppe 3: 10 - 16 J) bei Kontrollen im Vergleich zur relativen Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE), Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Kontrolle	Altersgruppe	**IgM Memory B-Zellen (%)**	**pitE (%)**
1	2	6,5	< 2
2	3	4,6	< 2

Tbl. 67: Auffällige relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei Kontrollen der Altersgruppe 1 (2 - 5 Jahre) im Vergleich zur relativen IgM Memory B-Zellzahl, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Kontrolle	Altersgruppe	**pitE (%)**	**IgM Memory B-Zellen (%)**
1	1	2,2	6,4
2	1	2,6	9,3
3	1	2,8	12,5

3.4.2 Gegenüberstellung der Ergebnisse ohne Op (Gruppe 1)

Alle Patienten mit einer pathologisch erniedrigten relativen IgM Memory B-Zellzahl (< 16. Q) zeigten normwertige pitE-Werte (Tbl. 68). Alle Patienten mit auffälligen pitE-Werten zeigten normwertige relative IgM Memory B-Zellzahlen (Tbl. 69).

Tbl. 68: Auffällige relative IgM Memory B-Zellzahl (< 16. Quantil) jeweils bezogen auf altersgruppenspezifische Referenzbereiche (Altersgruppe 2: 5 - 10 Jahre) bei Patienten ohne Op im Vergleich zur relativen Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE); Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	Altersgruppe	**IgM Memory B-Zellen (%)**	**pitE (%)**
1	2	4,6	< 2

Tbl. 69: Auffällige relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei Patienten ohne Op im Vergleich zur relativen IgM Memory B-Zellzahl; Altersgruppe 2: 5 - 10 Jahre (J), Altersgruppe 3: 10 - 16 J, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	Altersgruppe	**pitE (%)**	**IgM Memory B-Zellen (%)**
1	2	2,6	11,8
2	3	2,6	14,0
3	3	3,2	12,7
4	2	5,0	13,2

3.4.3 Gegenüberstellung der Ergebnisse nach subtotaler Splenektomie (Gruppe 2)

5 Patienten mit einer pathologisch erniedrigten relativen IgM Memory B-Zellzahl (< 16. Q) zeigten auffällige pitE-Werte > 2 %, 7 Patienten wiesen auffällige pitE-Werte > 4 % auf (Tbl. 70). 5 Patienten mit pitE-Werten > 2 % und 7 Patienten mit pitE-Werten > 4 % zeigten eine erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl (< 16. Q) (Tbl. 71).

Tbl. 70: Auffällige relative IgM Memory B-Zellzahl (< 16. Quantil) jeweils bezogen auf altersgruppenspezifische Referenzbereiche bei Patienten nach subtotaler Splenektomie im Vergleich zur relativen Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE); Altersgruppe 2: 5 - 10 Jahre (J), Altersgruppe 3: 10 - 16 J, Altersgruppe 4: > 16 J, (↑) = grenzwertig erhöht, ↑ = pathologisch erhöht, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	Altersgruppe	**IgM Memory B-Zellen (%)**	**pitE (%)**
1	3	2,9	3,5 (↑)
2	3	4,3	2,4 (↑)
3	3	4,7	2,4 (↑)
4	4	4,6	4,3 ↑
5	4	5,0	5,3 ↑
6	3	5,1	0,8
7	4	5,2	3,9 (↑)
8	3	5,3	11,2 ↑
9	4	5,8	2,2 (↑)
10	2	5,9	5,3 ↑
11	4	7,1	12,0 ↑
12	4	7,4	8,8 ↑
13	4	8,6	6,0 ↑

Tbl. 71: Auffällige relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei Patienten nach subtotaler Splenektomie im Vergleich zur relativen IgM Memory B-Zellzahl; Altersgruppe 2: 5 - 10 Jahre (J), Altersgruppe 3: 10 - 16 J, Altersgruppe 4: > 16 J, erniedrigt = ↓, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	Altersgruppe	**pitE (%)**	**IgM Memory B-Zellen (%)**
1	4	2,2	5,8 ↓
2	2	2,2	11,5
3	3	2,4	4,3 ↓
4	3	2,4	4,7 ↓
5	4	3,5	8,2
6	3	3,5	2,9 ↓
7	4	3,9	5,2 ↓
8	3	4,2	10,0
9	4	4,3	4,8 ↓
10	4	5,3	5,0 ↓
11	2	5,3	5,9 ↓
12	3	5,6	6,4
13	4	6,0	8,6 ↓
14	3	8,5	8,2
15	4	8,8	7,4 ↓
16	2	11,0	7,8
17	3	11,2	5,3 ↓
18	4	12,0	7,1 ↓
19	2	13,8	9,4

3.4.4 Gegenüberstellung der Ergebnisse nach totaler Splenektomie (Gruppe 3)

Alle Patienten mit einer pathologisch erniedrigten relativen IgM Memory B-Zellzahl (< 16. Q) zeigten auffällige pitE-Werte > 4 % (Tbl. 72). 10 von 11 Patienten mit pitE-Werten > 4 % zeigten eine pathologisch erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl (< 16. Q) (Tbl. 73). Bei einem Patient wurden 2 postoperative Messungen durchgeführt, welche in der folgenden Tabelle aufgelistet wurden. Zu beiden Zeitpunkten zeigten sich erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahlen (< 16. Q) (Tbl. 74).

Tbl. 72: Auffällige relative IgM Memory B-Zellzahl (< 16. Quantil) jeweils bezogen auf altersgruppenspezifische Referenzbereiche bei Patienten nach totaler Splenektomie im Vergleich zur relativen Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE); Altersgruppe 3: 10 - 16 J, Altersgruppe 4: > 16 J, ↑ = pathologisch erhöht, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	Altersgruppe	**IgM Memory B-Zellen (%)**	**pitE (%)**
1	*4*	*2,6*	*27,1* ↑
2	*4*	*3,1*	*17,0* ↑
3	*4*	*3,7*	*20,2* ↑
4	*3*	*4,1*	*25,2* ↑
5	4	5,0	16,0 ↑
6	*3*	*5,6*	*5,8* ↑
7	4	6,5	6,8 ↑
8	*4*	*7,1*	*fehlt*
9	*4*	*7,4*	*8,1* ↑
10	*4*	*7,4*	*14,2* ↑
11	*4*	*8,1*	*12,4* ↑

Tbl. 73: Auffällige relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei Patienten nach totaler Splenektomie im Vergleich zur relativen IgM Memory B-Zellzahl; Altersgruppe 2: 5 - 10 Jahre (J), Altersgruppe 3: 10 - 16 J, Altersgruppe 4: > 16 J, ↓ = erniedrigt, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	Altersgruppe	**pitE (%)**	**IgM Memory B-Zellen (%)**
1	3	5,8	5,6 ↓
2	3	6,8	6,5 ↓
3	4	8,1	7,4 ↓
4	4	12,4	8,1 ↓
5	4	14,2	7,4 ↓
6	4	16,0	5,0 ↓
7	4	17,0	3,1 ↓
8	4	20,2	3,7 ↓
9	3	24,4	6,3
10	3	25,2	4,1 ↓
11	4	27,1	2,6 ↓

Tbl. 74: Auffällige relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei einem Patienten nach totaler Splenektomie im Vergleich zur relativen IgM Memory B-Zellzahl; Altersgruppe 2: 5 - 10 Jahre (J), Altersgruppe 3: 10 - 16 J, d = Tag; ↓ = erniedrigt, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Untersuchung-zeitpunkt	Alters-gruppe	Postoperativer Zeitraum	**pitE (%)**	**IgM Memory B-Zellen (%)**
1	2	1 d	4,2	5,7 ↓
2	3	3,3 J	25,2	4,5 ↓

3.5 Selektive Milzszintigraphie

Bei allen 4 Patienten der Gruppe 2 zeigte sich in der Milzszintigraphie eine volumenproportionale, homogene Anreicherung der Tc-99m markierten, hitzealterierten Erythrozyten in der Restmilz sowie keine fokalen Defekte.

Bei 3 von 4 Patienten zeigte sich sonographisch postoperativ im Langzeitverlauf eine gut durchblutete Restmilz in der Sonographie. Bei 1 von 4 Patienten zeigte sich bis 5 Jahre nach der Szintigraphie eine gute Durchblutung der Restmilz. Nachdem der Patient ein stumpfes Bauchtrauma erlitt, war sonographisch kein Milzrest mehr nachweisbar. Zum Zeitpunkt der pitE-Messung war der Patient sekundär asplen.

1 Patient besaß einen pitE-Wert von 2 - 4 %, 2 Patienten besaßen pitE-Werte von > 4 % (Tbl. 75).

Tbl. 75: Relative Zahl von „Pitted Erythrocytes“ (pitE) bei Patienten mit selektiver Milzszintigraphie, J = Jahre, Universitätsklinikum Ulm, 2014 bis 2018

Patient	**PitE (%)**	Geschlecht	Alter (J)	Postoperative Jahre (J)
1	0,2	m	25,1	14,1
2	3,9	m	23,3	14,6
3	5,3	w	24,9	13,4
4	16,0	w	23	12,5

4 Diskussion

4.1 Effektivität bzgl. der Grunderkrankung

4.1.1 Präoperative Befunde

4.1.1.1 Schweregrade der HS

Es gibt vier verschiedene Schweregrade der HS, die anhand der Hämoglobin-Werte und Gesamtbilirubinkonzentration sowie der relativen Retikulozytenzahl eingeteilt werden können [18, 20].

Von der leichten Form der Kugelzellenanämie sind 30 % der Patienten betroffen [19]. Die Anämie ist nur selten so stark ausgeprägt, dass eine Transfusion benötigt wird. In unserer Studie zeigten 35,2 % der erkrankten Patienten eine leichte Form des HS.

Die Mehrzahl der Patienten (60 %) leidet an einer mittelschwere Kugelzellenanämie [19]. Bei diesen Kindern werden Bluttransfusionen hauptsächlich bei hyperhämolytischen oder aplastischen Krisen nötig [19]. In unserem Patientenkollektiv zeigten 57,4 % der erkrankten Patienten eine mittelschwere Form der HS.

Die schwere HS betrifft etwa 10 % der Patienten [19]. Diese Kinder benötigen in den ersten 2 Lebensjahren wiederholt Transfusionen [15]. Sie behalten auch im weiteren Verlauf erniedrigte Hämoglobinkonzentrationen. Ein Anteil von 3,7 % unseres Patientenkollektivs war von der schweren Form der HS betroffen.

3 - 4 % aller Betroffenen leiden an einer sehr schweren Form der HS [19]. Patienten mit der sehr schweren Form benötigen regelmäßig Bluttransfusionen. In der Folge entwickeln sie meist um das 4. - 5. Lebensjahr eine deutliche Eisenüberladung verschiedener Organe. Keiner unserer Patienten litt an einer sehr schweren Form. Ein Anteil von 3,7 % unseres Patientenkollektivs war von der sehr schweren Form der HS betroffen.

Wir nehmen an, dass aufgrund der Stichprobenzahl von 60 Patienten die Verteilungen leicht von den in der Literatur Beschriebenen abweichen.

4.1.1.2 Transfusionsbedarf

Infektbedingte Transfusionen:
Infektionen können bedrohliche hämolytische Krisen hervorrufen. Patienten mit einer hämolytischen Anämie sind besonders gefährdet. Häufig sind virale Infektionen Trigger für eine hämolytische Krise. Interkurrente Infekte können hämolytische Krisen auslösen, die meist mild ausfallen und ohne Transfusionsbedarf ablaufen. Akute Infektionen aktivieren und vergrößern die Milz, wodurch es zur gesteigerten Hämolyse kommt, die die Anämie verstärkt. Kompensatorisch erhöht sich die Retikulozytenzahl stark.

Über 20 % der Patienten erkrankten im Krankheitsverlauf an einer aplastischen Krise bei nachgewiesener Parvovirus B19 Infektion. Es kommt meistens zu einer lebenslangen Immunität. 80 % davon zeigten einen Transfusionsbedarf. Über 20 % zeigten im Krankheitsverlauf eine bzw. mehrere hämolytische Krisen. Bei einer aplastischen Krise kommt es infolge einer Parvovirus B19 Infektion zu einem schnellen, starken Hb-Abfall, woraus häufig ein Transfusionsbedarf entsteht. Parvovirus B19 befällt die Erythroblasten und hemmt damit die Erythropoese, wodurch die Retikulozytenzahl sinkt.

4.1.1.3 Cholecystolithiasis

Bei knapp 60 % der Patienten zeigte sich ein gegenüber der Literatur gleich hohes Auftreten von Konkrementen.

4.1.1.4 Splenomegalie

Circa 10 % aller Patienten mit HS haben generell keine Splenomegalie. Bei uns zeigten lediglich 6 % der Patienten der Gruppe 2 keine Splenomegalie. Alle anderen Patienten der Gruppen 1 und 3 zeigten eine Splenomegalie.

4.1.2 Perioperative Befunde

4.1.2.1 Alter der Patienten bei Op

Laut der entsprechenden Leitlinie ist bei Patienten mit der leichten Form der HS eine Splenektomie in der Regel nicht erforderlich [19]. Bei mittelschweren Verläufen der HS

wird eine Splenektomie vor Erreichen der Pubertät, meist zwischen dem 7. und 10. Lebensjahr des Patienten, empfohlen [19]. Bei Kindern mit der schweren und sehr schweren Krankheitsform der HS sollte die Splenektomie vor dem Schulalter durchgeführt werden. Die vollständige Milzentfernung sollte möglichst nicht vor dem 6. Lebensjahr, auf keinen Fall vor dem 3. Lebensjahr erfolgen [19]. Mit der seltenen schweren oder sehr schweren Form der HS, bei denen die Milz wegen des regelmäßigen Transfusionsbedarfs und der Organhämosiderose vor dem 6. Lebensjahr entfernt werden muss, sollte in jedem Fall subtotal und nicht vollständig splenektomiert werden [19]. „Da 0,1 - 0,4 % der Patienten an einer schweren Postsplenektomie-Infektion v. a. an einer Pneumokokkensepsis oder -meningitis versterben, sollte die Milz nur nach wiederholten Transfusionen oder bei anhaltend eingeschränkter Leistungsfähigkeit und präferentiell nahezu vollständig entfernt werden [51].“

Im Mittel wurden unsere Patienten der Gruppe 2 mit 9,97 Jahren operiert. Aufgrund der schweren Form der HS bzw. inadäquater Blutbildung wurden 2 Patienten vor dem 6. Lebensjahr subtotal splenektomiert. Unter anderem ist diese bei einer Op-Indikation vor dem 6. Lebensjahr vorteilig, da eine gute Restmilzfunktion gegeben ist.

Im Mittel wurden unsere Patienten der Gruppe 3 mit 10,4 Jahren, wie oben empfohlen, operiert. Aufgrund der schweren Form der HS wurde 1 Patient vor dem 6. Lebensjahr total splenektomiert. Wir klärten alle Patienten über die Möglichkeit einer subtotalen Splenektomie auf, wie in der entsprechenden Leitlinie der HS empfohlen [19]. Bei zwei Patienten kam es aufgrund anatomischer Verhältnisse zu einem intraoperativen Wechsel der geplanten Op. In einem Fall gestatteten die anatomischen Verhältnisse eine offene Verkleinerungsoperation nicht, sodass eine total offene Milzentfernung notwendig wurde (Ulm). In einem anderen Fall erfolgte aufgrund der anatomischen Verhältnisse, die eine Teilsplenektomie nicht möglich machten, die laparaskopische vollständige Splenektomie (Berlin). Schaarschmidt et al. führten bei mehreren Kindern eine laparoskopisch assistierte Verfahren mit Minilaparotomie zur Extraktion von Riesenmilzen durch [47]. Rosman et al. wechselten intraoperativ bei einem Patienten von subtotaler auf totale Splenektomie aufgrund von Blutung [46]. Liu und Fan stellten eine Wechselrate von 3,6 % fest [37]. Bei einem Patienten kam es zu einer Totalresektion. 5 Jahre postoperativ wurde eine totale

Splenektomie vorgenommen. Diese erfolgte aufgrund von psychischer Belastung ohne klinische Symptomatik.

4.1.2.2 Splenektomie

Schaarschmidt et al. verwendeten Ultraschallscheren für die laparoskopische subtotale und totale Splenektomie, ohne Verwendung von Clips oder Klammer, um die Milzarterie und -vene durch „ultrasonic laparoscopic coagulation shears“ (LCS) bis zu einem Kaliber von 10 mm zu schneiden und mit dem Argonbeamer zu versiegeln [47]. Die Maximalgröße einer Milz von 230 x 120 x 70 mm/ 1005 ml wurde rein laparoskopisch auf 14 ml reduziert.

4.1.2.3 Durchführung der Cholecystektomie und Cholecystotomie

Patienten mit Cholelithiasis, die wiederkehrend symptomatisch sind, wird eine CCE empfohlen. Bei einer leichten Form der HS, kann diese laparoskopisch erfolgen. Bei Patienten mit einer mittel- bis schwereren Form der HS wird eine CCE meist gleichzeitig mit einer subtotalen Splenektomie durchgeführt [19, 27]. Die Kombination von Splenektomie mit CCE bzw. CCO wurde zu gleichen Teilen in unserer Studie bei Patienten mit Cholelithiasis durchgeführt. Bei asymptomatischen Gallensteinen wird keine operative Therapie empfohlen. Bei Verschlussikterus wird die Endoskopisch-Retrograde-Cholangio-Pankreatikographie (ERCP) bzw. die notfallmäßige CCE empfohlen. Dies wurde auch in unserem Projekt in diesem Rahmen durchgeführt. Das Risiko der Entstehung neuer symptomatischer Konkremente besteht nach einer CCO. Dies war bei einem Patienten der Fall, der erneut cholecystotomiert wurde. Ein weiteres Risiko stellt ein Gallenblasenhämatom dar. Ein Patient zeigte dieses Beschwerdebild, weshalb eine notfallmäßige CCE durchgeführt wurde.

4.1.2.3.1 Perioperative Blutung und Transfusionsbedarf

Da die Milz ein besonders gut durchblutetes Organ ist, besteht vor allem während der Milzentfernung eine erhöhte Blutungsgefahr [6]. Die mögliche Verletzung der Nachbarorgane stellt ein erhöhtes Risiko für Nachblutungen dar [6]. Blutungen sind während oder nach einem viszeralen Eingriff häufig [6]. Nach Liu und Ying betrug der

Blutverlust zwischen 0 - 1200 ml und 3,5 % der Patienten erhielten Transfusionen nach laparoskopisch subtotalen Splenektomien bei verschiedenen Diagnosen [37].

Circa ein Drittel der operierten Patienten erhielt perioperativ Blutkonserven. Dies galt für die subtotal sowie für die total splenektomierten Patienten. Am häufigsten wurden Erythrozytenkonzentrate transfundiert. Der häufigste Grund der Verabreichung war die Anämie nach intraoperativer Blutung. Bei einem Patient musste eine Nachblutung erneut operativ versorgt werden. Es kam in keinem Fall zu einer Verletzung von benachbarten Bauchorganen.

4.1.2.3.2 Vorkommen von Pleuraerguss/ Pneumonie/ Pneumothorax

Der Pleuraerguss wurde vermutlich aufgrund der anatomischen Nähe der Milz unter dem Diaphragma verursacht. „Außerdem werden pulmonale Komplikationen häufig beobachtet, je nach Arbeit sind 2 bis 7 % der Patienten davon betroffen [6].“ „Generell ist nach Operationen die Anfälligkeit für pulmonale Komplikationen gesteigert [6].“ 9 % der laparoskopisch subtotal splenektomierten Patienten entwickelten direkt postoperativ einen punktionsbedürftigen Pleuraerguss. Bei 3 % der Patienten trat direkt postoperativ eine Pleuropneumonie auf. 15 % der laparoskopisch total splenektomierten Patienten erlitt direkt postoperativ einen Spontanpneumothorax mit punktionsbedürftigem Pleuraerguss.

4.1.2.4 Auftreten von Wundinfektionen

Bei keinem Patienten kam es zu einer Infektion der Wunde mit oder ohne Abszessbildung.

4.1.3 Postoperative Befunde

4.1.3.1 Rekonvaleszenz nach Op

Nach Rogulski et al. war die Hospitalisierungszeit nach laparoskopischer subtotaler bzw. totaler Splenektomie ähnlich [45]. Nach Manciu et al. war diese zwischen 5 -7 Tagen, unabhängig vom chirurgischen Zugang für subtotale sowie totale Splenektomie [39].

Zwei Maximalwerte der postoperativen Rekonvaleszenz nach subtotaler Splenektomie wurden durch Komplikationen verursacht. Bei einem Patient, welcher 21 Tage postoperative Rekonvaleszenz benötigte, trat postoperativ ein massiver punktionswürdiger

Pleuraerguss sowie ein Resorptionsschmerz bei avitalem Pol der Restmilz auf. Der Pleuraerguss wurde vermutlich aufgrund der anatomischen Nähe der Milz unter dem Diaphragma verursacht. Der Resorptionsschmerz wurde aller Wahrscheinlichkeit nach durch eine mangelnde Durchblutungssituation ausgelöst. Bei einem Patient, der aufgrund einer Nachblutung nach alleiniger subtotaler Splenektomie eine laparoskopische Revision bedurfte, verbrachte 11 Tage postoperativ im Krankenhaus. Diese wurde vermutlich durch ein insuffizientes Abtrennen der Milzgefäße mit LCS des entfernten Milzgewebes verursacht. Nach Liu und Fan war die postoperative Aufenthaltsdauer nach laparoskopisch subtotaler Splenektomie zwischen 1 - 11 Tagen und somit vergleichbar mit der Dauer in unserer Studie (10,2 Tage) [37].

Nach Beseoglu ist die postoperative Aufenthaltszeit bei laparoskopierten Patienten durch die geringeren postoperativen Schmerzen sowie die frühere Mobilisierung verkürzt. Vorstellbar ist, dass die weite Distanz nach Berlin eine Entlassung in die Heimat (Ulm und Umgebung) verzögert haben könnte. Dies wird im Vergleich der Fälle nach totaler Splenektomie von Berlin vs. Ulm deutlich. Die Ulmer Patienten wurden durchschnittlich nach 6,75 d, die Berliner Patienten nach 9 d entlassen. Die Ulmer Patienten wurden zu Teilen laparoskopisch und offen splenektomiert, die Berliner Patienten zu ganzen Teilen laparoskopisch. Die Hospitalisierungszeit zeigte sich innerhalb dieses Vergleichs unabhängig vom Alter der Patienten. Da die Fallzahlen subtotal (n = 33 Berlin) und total (n = 6 Ulm, n = 3 Berlin) stark differierten, ist ein Vergleich der Hospitalisierungsraten, insbesondere innerhalb des Zentrums Berlin stark eingeschränkt möglich.

4.1.3.2 Hämoglobin-Normalwert und Anämie

Eine Anämie entsteht bei HS, wenn die hyperregeneratorische Erythropoese nicht zur Kompensation der Hämolyse ausreichend ist. Bei der milden Form der Sphärozytose beträgt der Hb-Wert 11 - 15 g/dl. Patienten ab der mittelschweren Form der Sphärozytose besitzen einen Hb-Wert von < 11 g/dl und sind somit anäm [15].

Die operierten Patienten ohne Anämie hatten die Indikationsstellung der Splenektomie wegen einer symptomatischen Cholecystolithiasis, Leistungsminderung sowie Splenomegalie.

Die Evaluation der Effektivität bezüglich der Grunderkrankung erfolgte anhand der postoperativen Blutbilder im postoperativen Langzeitverlauf. Die Splenektomie führt oft zu einer Beseitigung der Anämie. Rogulski et al. stellten fest, dass sich die Hämoglobinwerte nach laparoskopischer subtotaler bzw. totaler Splenektomie verbesserten und über mindestens 12 Monate kontant blieben [45]. Manciu et al. erkannten, dass das Hb-Level nach subtotaler sowie totaler Splenektomie anstieg und wenigstens für 5 Jahre konstant blieb und häufig normale Konzentrationen erreichte [39].

Nach subtotaler Splenektomie zeigten alle Patienten altersgerechte Hb-Werte [40]. Alle Patienten zeigten 12 Monate nach Splenektomie weiterhin altersgerechte Hb-Werte.
87,1 % der Patienten zeigten im postoperativen Langzeitverlauf altersgerechte Hb-Werte. Nur 12,9 % der Patienten zeigten im Verlauf eine milde Anämie mit Hb-Werten von 0,5 - 0,9 g/dl, im Mittel um 0,7 g/dl, unterhalb der Altersreferenzwerte [40]. Somit führte die subtotale Splenektomie bei allen Patienten zu einer langfristigen Beseitigung bzw. deutlichen Reduktion der Anämie. Nach Manciu et al. ist der Grund für diesen Unterschied zu totaler Splenektomie die Existenz eines niedrigeren aber anhaltenden hämolytischen Zustands aufgrund des Restparenchyms [39].

Nach vollständiger Splenektomie zeigten alle Patienten einen normwertigen Hämoglobingehalt. Alle Patienten zeigten 12 Monate nach Splenektomie weiterhin altersgerechte Hb-Werte.
Alle Patienten zeigten im postoperativen Langzeitverlauf altersgerechte Hb-Werte. Somit führte die totale Splenektomie bei allen Patienten zu einer langfristigen Beseitigung der Anämie.

Transfusionsbedarf:
Nach subtotaler Splenektomie treten transfusionsbedürftige hämolytische bzw. aplastische Krisen oder andere Komplikationen nicht [5, 52] oder nur sehr selten auf [43]. Ein an einer schweren Form der HS erkrankten Patient erlitt nach subtotaler Splenektomie eine aplastische Krise bei erstmaliger Parvovirus B19 Infektion mit Transfusionsbedarf. Der Patient hatte keine erneute Splenomegalie.

4.1.3.3 Gesamtbilirubin-Konzentration, Relative Retikulozytenzahl

Die Splenektomie führt zu einer Reduktion der erhöhten Hämolyse-Parameter.

Rogulski et al. stellten fest, dass sich die Gesamtbilirubin-Konzentration nach laparoskopischer subtotaler bzw. totaler Splenektomie verbesserten und über mindestens 12 Monate konstant blieben [45]. Die Gesamtbilirubin-Konzentrationen sanken in der frühen postoperativen Phase ab, stiegen jedoch später erneut an, erreichten dann niedrigere Werte als in der präoperativen Phase [45]. Manciu et al. erkannten, dass die relative Retikulozytenzahl nach subtotaler sowie totaler Splenektomie sank, jedoch aufgrund des niedrigeren jedoch anhaltenden hämolytischen Zustands über dem Normalbereich blieb [39]. Die sei der wichtigste Parameter zur Beurteilung der Erythropoese [39].

Die Patienten mit Morbus Gilbert Meulengracht wurden nicht bei der Auswertung der Gesamtbilirubin-Konzentration berücksichtigt, da sich diese ansonsten falsch hoch dargestellt hätte. Im Zeitraum < 12 Monaten ergab sich durchschnittlich eine gering erhöhte relative Retikulozytenzahl. Die Gesamtbilirubin-Konzentration zeigte sich im Durchschnitt leicht erhöht. Im Zeitraum > 12 Monaten ergab sich eine leicht erhöhte relative Retikulozytenzahl. Die Patienten mit erneuter Splenomegalie zeigten eine mäßig erhöhte Retikulozytenzahl. Die Gesamtbilirubin-Konzentration war eindeutig erhöht. Die Patienten, die im postoperativen Langzeitverlauf an einer erneut milden Anämie litten, wurden genauer betrachtet. Die Retikulozytenzahl war im Mittel mäßig erhöht. 2 der 4 Patienten litten erneut an einer Splenomegalie. Die Gesamtbilirubin-Konzentration war eindeutig erhöht. Im Vergleich zu den Patienten ohne Anämie zeigten diese eine mäßig bis hohe relative Retikulozytenzahl.

4.1.3.4 Thrombozytenzahl und Thrombozytose

Grund für die Thrombozytose ist, dass die Thrombozyten normalerweise in der Milz gespeichert sowie abgebaut werden und das Speicherorgan nach Splenektomie teilweise oder ganz fehlt [32]. Innerhalb von Wochen sinkt die Thrombozytenzahl wieder ab, bleibt aber dann konstant etwa um ein Drittel erhöht [59]. Wir beobachteten einen postoperativen Zeitraum von mindestens 1 Jahr. Ein Drittel der Patienten nach subtotaler Splenektomie zeigte eine Thrombozytose mit einer Erhöhung von 30 %. Circa 50 % der Patienten nach

totaler Splenektomie zeigten eine Thrombozytose um 30 % zum Referenzwert erhöht. Rogulski et al. stellten fest, dass die Thrombozyten nach subtotaler bzw. totaler Op erhöht waren und über die ersten 6 Monate erhöht blieben, jedoch innerhalb eines Jahres auf die präoperativen Levels zurückkehrten [45]. Bei zwei Drittel der dort berichteten Patienten nach subtotaler Splenektomie sanken die Thrombozyten im Verlauf in den Referenzbereich ab. Bei 50 % der Patienten nach totaler Splenektomie sanken die Thrombozyten auf ihr ursprüngliches Niveau ab.

Nach Krauth et al. leiden ein Drittel der operierten Patienten an einer Thrombozytose [32]. 7 bis 12 Tagen nach der Milzentfernung steigt die Thrombozytenzahl vorübergehend stark (bis 1 Mio/µl) an [32]. Grund dafür ist die fehlende Milz, die die Thrombozyten normalerweise speichert [32]. Innerhalb von Wochen sinkt die Thrombozytenzahl wieder ab, bleibt aber dann konstant etwa um ein Drittel erhöht [59].

In unserer Studie zeigten zwei Drittel der Patienten eine Thrombozytose. Bei postoperativer Vorstellung in der Ambulanz zeigten alle Patienten gesunkene Thrombozytenwerte. Es gab wider Erwartens keinen Unterschied zwischen den Gruppen 2 (nach subtotaler Splenektomie) und 3 (nach totaler Splenektomie).

4.1.3.5 Auftreten von Pfortaderthrombosen

Innerhalb der ersten 6 Monate nach einer Milzentfernung besteht ein erhöhtes Risiko für eine Pfortaderthrombose. Das Risiko für das Auftreten einer akuten Milz- und Portalvenenthrombose nach Splenektomie scheint unabhängig von dem operativen Zugangsweg (laparoskopisch versus offen) und von klassischen Thrombophilie-Risikofaktoren zu sein [27]. Eine Rolle spielt die präoperative Milzgröße, v. a. aber die Grunderkrankung. So wurde in einem systematischen Review mit Metaanalyse publizierter Studien bei keinem Patienten nach Splenektomie aufgrund eines Traumas, bei nur 1,7 % der Patienten mit einer Immunthrombozytopenie, aber bei 12,3 % der Patienten mit Splenektomie aufgrund einer hämolytischen Erkrankung eine Thrombose der Milz- und Portalvenen diagnostiziert [32].

Der mediane Zeitpunkt einer asymptomatischen Thrombose der Milz- und Portalvene liegt bei 6 Tagen (3 - 11 Tage) nach Operation, sodass empfohlen wird, etwa 1 Woche nach der

Operation eine sonographische Untersuchung zum Ausschluss einer Thrombose vorzunehmen [27]. Die meisten Patienten sprechen auf eine klassische antikoagulatorische Therapie an.

Man kann davon ausgehen, dass in erster Linie der Eingriff beide Pfortaderthrombosen verursacht hat. Die beiden Patientenvorgeschichten waren bzgl. Thrombosen blande. Wir gehen davon aus, dass die Thrombophilie-Risikofaktoren die Pfortaderthrombosen entgegen der Literatur potenziert haben, da kein Patient ohne Thrombophilie-Risikofaktoren eine Thrombose entwickelte.

4.1.3.6 Vorkommen von akutem Abdomen

Das Risiko eines Bridenileus ist nach einer subtotalen bzw. totalen Splenektomie erhöht. Intraabdominale Adhäsionen oder Verwachsungen entstehen am häufigsten nach Laparotomien, seltener nach Laparoskopien. Ein Patient nach subtotaler Splenektomie erlitt postoperativ einen Dünndarmvolvulus bei Bridenileus, welcher notfallmäßig operativ gelöst worden musste.

4.1.3.7 Langzeitfolgen

Unsere Studie bildet aufgrund der Stichprobengröße und des Beobachtungszeitraumes nicht das Auftreten von möglichen Langzeitfolgen (u.a. pulmonale Hypertonie) ab.

4.1.3.8 Bestimmung der Restmilzgröße

Die Nachresektionsrate aufgrund postoperativer Hämolyse war bei nahezu vollständiger Milzentfernung deutlich niedriger [52] als nach subtotaler Splenektomie mit Belassen einer Restmilz von ca. 30 ml [5, 43]. Bei der Near-Total Splenektomie kann die Restmilzgröße aufgrund der Durchblutungssituation gering von den 10 ml abweichen [52].

De Buys et al. und Rice et al. beschrieben nach Belassung einer Restmilz von ca. 20 bis zu 40 % der präoperativen Milzgröße eine höhere Nachresektionsrate [13, 44]. Im Vergleich zur Literatur wurden in unserer Studie keine Nachresektionen aufgrund klinischer Beschwerden und/ oder Hämolyse nötig.

„Für die Abwägung des bestmöglichen Op-Verfahrens sind letztlich die Sicherheit der Operation und das Langzeitergebnis mit ausreichender Milzgröße, aber ohne spätere Notwendigkeit einer Nachresektion, entscheidend [19].“

Die durchschnittliche postoperative Restmilzgröße betrug unabhängig von der präoperativen Milzgröße durchschnittlich 31,7 ml, im Median 30,5 ml [40]. Bei einem Patienten war die Restmilz direkt postoperativ wegen mangelnder Durchblutung untergegangen. Die direkt postoperative Restmilzgröße war am Ende des Beobachtungszeitraum im Durchschnitt um den Faktor 5,9 angestiegen. Keiner der Patienten mit einer postoperativen Restmilzgröße < 30 ml entwickelte eine Splenomegalie. 6 von 17 Patienten, deren postoperative Restmilzgröße ≥ 30 ml lag, litten im Langzeit Follow-up unter einer erneuten Splenomegalie, die jedoch keiner Nachresektion bedurften [40]. Trotz des wieder sehr großen Milzvolumens zeigte sich in allen Fällen eine deutlich andere Situation als bei Splenomegalie bei nativer Milz. Wir gingen daher davon aus, dass in absehbarer Zeit keine weitere Operation aufgrund erneut zunehmender Hämolyseparameter notwendig sein würde.

Bei etwa 15 Prozent der Menschen findet sich eine organische Besonderheit, sogenannte Nebenmilzen. Sie entstehen durch eine Zellversprengung während der Embryonalzeit. Der Aufbau entspricht dem der Milz. Sofern sich die Nebenmilzen in der Nähe der Milz selbst befinden, sind sie gut erkennbar und weisen in der Regel eine Größe von etwa ein bis vier Zentimetern auf. Milzfern positionierte Nebenmilzen werden hingegen häufig dauerhaft übersehen. Ein Vorteil der Laparotomie liegt hingegen in der besseren Möglichkeit der Detektion von Nebenmilzen und deren Entfernung.

3 Patienten besaßen nachgewiesen eine Nebenmilz, die jeweils bei laparoskopischer subtotaler Splenektomie intraoperativ in vito belassen wurde. Bei 2 Patienten fand sich erst in der postoperativen Sonographie eine bzw. zwei Nebenmilzen. Bei den 6 total operierten Elternteilen erkrankter Patienten konnte keine Sonographie durchgeführt werden und somit keine Nebenmilz ausgeschlossen werden. Manciu et al. empfehlen die Entfernung der Restmilz/en, um ein kontrollierbares Volumen an Milzgewebe zu erhalten [39]. Liu und Fan stellten fest, dass es keine vergleichenden Studien gibt, ob akzessorische Milz/en bei einer partiellen Splenektomie entfernt werden sollen oder nicht [37].

Prinzipiell ist es sicherlich ein praktikables aber auch aus unserer Sicht korrektes Vorgehen bei bildmorphologisch kugeligen Restmilzen für alle Ebenen die gleiche Metrik anzunehmen, selbst wenn man nur oder gerade weil man deshalb nur eine Messung hat bzw. benötigt. Die Abweichung für eine nicht ganz perfekte "Kugel" dürfte außerhalb der klinischen Relevanz liegen, wenn man zudem auch noch die interindividuelle Untersuchervariabilität und generelle Messfehlerspanne bedenkt.

Antibiotikaprophylaxe:
Obwohl das OPSI-Risiko lebenslang besteht, gelten die ersten 2 - 3 Jahre nach Splenektomie sowie das Alter < 6. Lebensjahr als vulnerable Phase, in der zwei Drittel aller OPSI-Fälle auftreten [22]. Thomsen et al. stellten fest, dass das höchste Infektionsrisiko innerhalb der ersten 90 Tage nach Splenektomie besteht [58]. Laut einer aktuellen Metaanalyse zum Vergleich der vollständigen mit der subtotalen Splenektomie bei hereditärer Sphärozytose von Guizzetti trat weder bei Patienten mit vollständiger noch bei Patienten mit subtotaler Splenektomie innerhalb der Nachbeobachtung über mindestens 6 Jahre ein OPSI auf [26]. Die Antibiotikaprophylaxe kann für das Intervall mit dem höchsten Risiko für ein OPSI, d.h. für 1 - 2 Jahre nach Splenektomie durchgeführt werden, bei Kindern mit vollständigem Impfstatus bis mindestens zur Vollendung des 5. Lebensjahres [22]. Bei asplenischen oder hyposplenischen Patienten mit unklarem Fieber und Allgemeinsymptomen ist eine sofortige Behandlung mit einer Stand-by-Antibiotika-Notfalltherapie und eine sehr sorgfältige Untersuchung mit ggf. ärztlicher Betreuung und Überwachung notwendig [22]. Alle splenektomierten Patienten sollten einen Notfallausweis mit sich führen [19]. Dies empfehlen wir auch Patienten nach subtotaler Splenektomie, auch wenn wir davon ausgehen, dass die Restmilz eine ausreichende immunologische Funktion erfüllt, um das Risiko einer schweren Infektion mit bekapselten Bakterien deutlich zu reduzieren.

4.2 Retikulohistiozytäre Funktion

Die Milzszintigraphie gilt als Goldstandard für die Untersuchung der Phagozytosekapazität der Milz [35]. Nachteile der Szintigraphie sind ein hoher technischer Aufwand, hohe Kosten sowie eine hohe Strahlenbelastung für die Patienten [36]. Nach Steinhausen korrelieren die pitE stark mit den Szintigraphie-Ergebnissen [50]. PitE wurden zuverlässig bei allen Patienten mit definitiver Asplenie (d. h. nach Splenektomie) oder vermuteter funktioneller Hyposplenie gefunden [36]. Deshalb hat sich die Bestimmung der „Pitted Erythrocytes“ zur Untersuchung der retikulohistiozytären Funktion als nicht-invasive Methode zur Analyse der Phagozytosefunktion am geeignetsten erwiesen [4, 41]. HJK eignen sich nicht gut zur quantitativen Bestimmung der Milzfunktion, da sie nur in sehr geringer Zahl mit ca. 1/ 1000 - 5000 Erythrozyten auftreten und nicht zuverlässig mit einer intakten Milzfunktion einhergehen [35, 57].

4.2.1 „Pitted Erythrocytes“

Die Kontrollgruppe sowie die Gruppe 1 zeigten ähnliche pitE-Werte. Dies lässt schließen, dass die an HS erkrankten Patienten eine suffiziente Phagozytosefunktion aufwiesen.

In unserer Studie zeigten sich Unterschiede von der Kontrollgruppe und Gruppe 1 gegenüber den Gruppen 2 und 3 mit vorheriger Op ($p < 0,001$). Die pitE-Werte der Gruppen 2 und 3 waren höher. Die Patientengruppe 3 zeigte im Vergleich zur Patientengruppe 2 erwartungsgemäß höhere Werte ($p < 0,001$). Dies zeigt auf, dass durch die Reduktion des Milzvolumens die Phagozytosefunktion zurückging und die pitE postoperativ anstiegen. Bei kompletter Milzentfernung stiegen die pitE im Sinne einer Asplenie stärker an.

4.2.1.1 Methodendiskussion

Das Studiendesign könnte bzgl. der pitE-Werte einen systematischen Fehler, den sogenannten „Detection Bias“, enthalten, da das Studienpersonal nicht verblindet wurde. Durch die PitE Messung an verschiedenen Zeitpunkten mit definierten Probanden war eine Verblindung der Proben nicht möglich. Der Untersucher könnte durch das klinische Wissen über die Probanden eine Erwartung über die Höhe der pitE entwickelt haben,

welche sich auf die Ergebnisse ausgewirkt haben könnte. Da einige pitE-Werte der Patientengruppe 3 wider Erwarten unter der Aspleniegrenze lagen, ist dieser Fehler als nicht sehr wahrscheinlich anzunehmen. Um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse durch 2 Untersucher zu testen, wäre eine weitere Person, die mit der Methode vertraut gewesen wäre, nötig gewesen. In der obengenannten Studie zeigte sich allerdings bei der jeweiligen Bestimmung von pitE von 2 Untersuchern eine gute Reproduzierbarkeit [50].

4.2.1.2 Beschreibung der pitE-Grenzwerte

Nach Corazza et al. sowie de Porto et al. liegt die obere Grenze einer normalen Milzfunktion bei 4 % [12, 14]. In beiden Studien wurde gezeigt, dass pitE über 4 % bedeutet, dass ein Hyposplenismus vorliegt [12, 14]. Nach Steinhausen konnten Werte < 2 %/ > 2 % immer von beiden Untersuchern übereinstimmend festgestellt werden [50]. Di Sabatino et al. berichten, dass der Prozentsatz an pitE die unterschiedliche Regeneration der verschiedenen Restmilzen widerspiegle [16]. Daher setzten wir die Grenzen auf < 2 %, 2 - 4 %, > 4 %.

Im Kontrollkollektiv zeigten 3 Kontrollen auffällige pitE-Werte von 2 - 4 % und lagen somit im Graubereich. In der Gruppe 1 zeigten 3 Patienten auffällige Werte von 2 - 4 % und lagen im Graubereich, 1 Patient hatte eindeutig erhöhte pitE > 4 %. Dieser hatte eine gut durchblutete, vergrößerte Milz mit einer Pseudozyste und einer Nebenmilz. Die Pseudozyste war sehr wahrscheinlich durch einem Milzinfarkt entstanden. Somit könnte der stattgehabte Infarkt eine Ursache für die reduzierte Milzfunktion darstellen.

Steinhausen zeigte, dass bei hohen Werten für pitE über 10 % die Ergebnisse bis zu maximal 2 % differierten [50]. Nach Splenektomie lagen die Werte für pitE über 18 %, somit wiesen sie auf eine Asplenie hin [50]. Werte bis 44 % zeigten ein Teil der Patienten mit homozygoter Sichelzellkrankheit [50]. Der zweite Teil der Patienten mit homozygoter Sichelzellanämie, für die eine Hyposplenie angenommen wurde, zeigten Werte zwischen 6,2 % und 18 % [50]. Nach Steinhausen wiesen Werte zwischen 2 % und 18 % auf eine Hyposplenie hin [50]. De Porto zeigte, dass eine Asplenie oder ein klinisch relevanter Hyposplenismus mit pitE-Werten von 15 % bis 70 % einhergeht [14]. Daher setzten wir die Aspleniegrenze für pitE auf > 15 %.

In der Gruppe 2 zeigten 5 Patienten pitE Werte unter 2 % und besaßen eine vollständig regenerierte Restmilz [40]. 6 Patienten besaßen pitE Werte zwischen 2 % und 4 % und befanden sich im Grenzbereich [40]. Diese besaßen ebenfalls eine regenerierte Restmilz [40]. Bei den 13 anderen Patienten konnten wir eine Hyposplenie feststellen, die jedoch unter 15 % lag und somit unter der Aspleniegrenze bzw. klinisch relevanten Hypospleniegrenze [40]. Somit besaß dieser Teil der Patienten einen zum Teil regenerierten Milzrest [40].

In der Gruppe 3 zeigten 6 Patienten Werte > 15 %, zwischen 17,0 und 27,2 %, welche auf eine Asplenie hinwiesen. 4 Patienten zeigten Werte > 4 % und < 15 %. Die 4 Werte waren alle pathologisch erhöht, jedoch unterhalb der festgesetzten Aspleniegrenze. Bei 2 der 4 Patienten wurde eine Sonographie ohne Feststellung von Nebenmilzen durchgeführt. Bei den 2 anderen Patienten wurde keine Sonographie durchgeführt, da es sich um Elternteile von Patienten handelte, die nur anamnestisch über die vollständige Milzentfernung bericheten. Eine Nebenmilz mit atoper Lage kann jedoch nie ganz sicher ausgeschlossen werden, sodass diese eine mögliche Erklärung für das Unterschreiten der Aspleniegrenze darstellen könnte.

In Zusammenschau unserer Ergebnisse kann man davon ausgehen, dass die retikulohistiozytäre Funktion bei unseren Patienten nach subtotaler bzw. totaler Splenektomie im Vergleich zur Kontrollgruppe sowie Gruppe 1 vermindert war. Gruppe 2 zeigte eine bessere Phagozytosefunktion als Gruppe 3.

Da sich die Werte für pitE in den verschiedenen Altersgruppen (Säuglingsalter bis zu 20 Jahren) nach Steinhausen kaum unterscheiden, darf man bei pädiatrischen Patienten mit pitE bis zu 2 % von einer normalen Milzfunktion ausgehen [50]. Es zeigte sich auch in unserer Studie zwischen den drei Altersgruppen der Kontrollgruppe kein Unterschied der pitE-Werte ($p = 0,125$).

4.2.1.3 Zeitlicher Abstand zur Op

Nach Di Sabatino et al. fand sich keine Korrelation zwischen den pitE und der Anzahl an postoperativen Jahren [16]. In der Gruppe nach subtotaler Splenektomie zeigte sich kein Unterschied in den pitE-Werten und der Anzahl der postoperativen Jahre ($p = 0,693$). In

unseren Erhebungen fand sich ebenfalls keine Korrelation zwischen der Anzahl der pitE und der postoperativen Jahre nach totaler Splenektomie (p = 0,690).

Transfusionsstudien zeigten, dass nach Transfusion von einem splenektomierten Spender bei einem Empfänger mit intakter Milz die PitE kontinuierlich abnahmen [9]. Die Erythrozyten verblieben nach Entfernung der pits in der Zirkulation [9]. Nach Transfusion normaler Erythrozyten bei einem milzlosen Empfänger entstanden erneut pits [9]. Nach Abnahme der pitE nach Transfusion kam es zu einem Anstieg der pitE bis zum Ausgangswert innerhalb von 15 - 20 Tagen [9]. Bei einem Patienten nach totaler Splenektomie, der von der Kinderchirurgie Ulm operiert wurde, wurden 2 postoperative Messungen durchgeführt, die einen Anstieg der pitE im Verlauf zeigten. Die 1. Messung wurde am 1. postoperativen Tag vorgenommen. Diese ergab einen pitE-Wert von 4,2 %. Eine 2. Messung nach 3,3 Jahren ergab einen Wert von 25,2 %. Die Differenz von + 21,0 % zeigt, dass zwar bereits wenige Stunden nach Splenektomie die Zahl der pitE steigt, aber erst im weiteren Verlauf die volle Ausprägung erreicht.

4.2.1.4 Direkter Vergleich prä- und postoperativen Werte

Bei 4 Patienten der Gruppe 2 hatten wir die Chance, vor und nach der Op Messungen durchzuführen. Es zeigte sich eine positive mittlere Veränderung zu den präoperativen Werten. Dies untermauert, dass in der Mehrheit der Fälle der pitE-Wert durch die reduzierte Phagozytosefunktion nach subtotaler Splenektomie mit Reduktion des Milzvolumens postoperativ anstieg.

4.3 Immunologische Funktion

Mit der Frage, inwieweit das Fehlen der Milz einen Einfluss auf die B-Zellfunktion und Subpopulationen hat, wurden die B-Zell-Subpopulationen im peripheren Blut mittels Durchflusszytometrie untersucht. Ein besonderes Augenmerk wurde auf die IgM Memory B-Zellen gelegt.

4.3.1 B-Zell Immunphänotypisierung

4.3.1.1 Altersabhängige absolute Leukozytenzahl

Die absolute Leukozytenzahl von allen drei Patientengruppen in Altersgruppe 3 und 4 zeigte sich höher als in der Kontrollgruppe. Somit zeigten alle Patienten unabhängig von der durchgeführten Intervention und somit ursächlich ausgelöst durch die Grunderkrankung eine höhere absolute Leukozytenzahl.

Direkt nach der Splenektomie tritt eine leichte Leukozytose mit Neutrophilie auf. Diese kann durch einen reaktiv stressbedingten Anstieg der Leukozyten verursacht sein. Die Zahl der neutrophilen Granulozyten normalisiert sich im Verlauf und es kommt zu einem Anstieg der Lymphozyten- und der Monozyten.

4.3.1.2 Altersabhängige absolute und relative B-Lymphozytenzahl

Es zeigte sich kein Unterschied bzgl. der absoluten B-Lymphozytenzahl zwischen den Gruppen. Die relative B-Lymphozytenzahl der Gruppe 3 der Altersgruppe 4 zeigte sich höher als in der Kontrollgruppe bzw. in der Gruppe 1. Es wurde festgestellt, dass die Splenektomie zu einem verringerten Anteil der gesamten Gedächtniszellpopulation, jedoch nicht der Gesamtzahl der B-Zellen, führt [10]. Da B-Lymphozyten einen wesentlich geringeren Anteil an der absoluten Lymphozytenzahl ausmachen, schlug sich die relative Erhöhung wahrscheinlich nicht in der absoluten Gesamtlymphozytenzahl nieder. Vermutlich zeigte sich eine absolute B-Lymphozytose durch das vollständig fehlende Speicherorgan bzw. den verminderten Abbau bei einer Altersgruppe im Follow-up. Dadurch zeigten sich die folgenden relativen B-Zell Subpopulationen teilweise erhöht.

4.3.1.3 B-Zell-Entwicklung

Die Zusammensetzung der B-Zell Population im peripheren Blut verändert sich mit dem Lebensalter.

Im peripheren Blut wurden zwei Populationen von B-Zellen identifiziert: reife und B-Gedächtniszellen [34]. Basierend auf der Expression von IgM und IgD können Memory B-Zellen weiter in 50 % IgM Memory B-Zellen und 50% Switched Memory B-Zellen (IgM-, IgD-) unterteilt werden [34].

Follikuläre B-Zellen zirkulieren nach dem Verlassen der Milz als IgD+CD27- naive Zellen (Naive) im Blut und wandern in lymphatische Gewebe ein, um dort weiter zu differenzieren [3]. Bindet der B-Zell Rezeptor einer B-Zelle im Lymphfollikel das für sie passende Antigen, führt dies zur Aktivierung der Zelle. Die Aktivierung bewirkt die weitere Differenzierung der Zelle zur Keimzentrums-B-Zelle, Gedächtniszelle oder Plasmazelle, wobei nicht jede Aktivierung auch eine vollständige Differenzierung nach sich zieht.

Follikuläre B-Zellen werden in den Keimzentren der sekundären lymphatischen Organe T-Zell abhängig stimuliert, was zu einer weiteren Differenzierung der Zellen in CD27+ IgM Memory B-Zellen führt [34]. Im Rahmen der Keimzentrumsreaktion kommt es in einem Teil der Zellen auch zum Antikörper-Klassenwechsel. Dies führt zu einem Wechsel der produzierten Immunglobulin-Klasse von IgM zu IgG, IgA oder IgE [34].

Andere Zellen differenzieren zu Gedächtniszellen, ohne eine Keimzentrumsreaktion eingegangen zu sein. IgM Memory B-Zellen produzieren hochaffine Antikörper der Klasse IgM, die eine wichtige Rolle in der frühen Phase von Infektionen spielen [61]. Wenige IgM+IgD+ naive B-Zellen, führen einen Klassenswitch zu IgM oder selten auch zu IgD durch und verlieren den jeweils anderen Marker [61]. Sie werden dann als „IgM-only“ bzw. „IgD-only“ B-Zellen bezeichnet [61]. Nur-IgM-Gedächtniszellen machen nur etwa 5% der peripheren B-Zellen aus [61]. Es ist allgemein akzeptiert, dass diese Nur-IgM-Gedächtniszellen eine Keimzentrumsreaktion durchlaufen, dabei jedoch keinen Klassenwechsel vollzogen haben. Es handelt sich also um reife Gedächtniszellen.

4.3.1.4 Altersabhängige absolute und relative Naiven B-Zellzahl

Die durchschnittliche relative Naive B-Zellzahl der Kontrollgruppe nahm in unserer Studie von der Altersgruppe 1 (79,2 %) bis zur Altersgruppe 4 auf (66,6 %) immer weiter ab. Nach Kruetzmann umfassen die reifen B-Zellen im Erwachsenenalter 50 - 60 % des gesamten B-Zell-Pools [33].

Die relative Naive B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 2 unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe. Die relative Naive B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 3 unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe. Die absolute sowie relative Naive B-Zellzahl zeigte sich in Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 4 höher als in der Kontrollgruppe bzw. in Gruppe 1. Ausreifungsstörungen der B-Zellen äußern sich z.B. in einem erhöhten Anteil naiver B-Zellen. Außerdem könnten durch die teilweise bzw. vollständig fehlende Milz als fungierendes Speicherorgan vermehrt Naive B-Zellen im peripheren Blut nachweisbar sein. Die Erhöhung der absoluten sowie relativen Zahl Naiver B-Zellen entstand vermutlich durch die Reduktion der peripheren B-Gedächtniszellen nach Splenektomie, der Ausreifungsstörung und dem fehlendem Verteilungsvolumen.

4.3.1.5 Altersabhängige absolute und relative Transitionale B-Zellzahl

In unserer Studie verrringerte sich die relative Transitionale B-Zellzahl der Kontrollgruppe vom frühen Kindesalter (6,0 %) bis zum Erwachsenenalter (2,3 %). Die Populationsstärken von B-Gedächtniszellen und Transitionalen B-Zellen veränderten sich entgegengesetzt. Laut Kruetzmann et al. ist eine B-Transitionalzell-Population mit 2 - 4 % im Erwachsenenalter weiterhin konstant nachweisbar [34]. Es ist anzunehmen, dass auf diese Weise die Rekonstitution des etablierten B-Zell-Pools gewährleistet wird.

Die absolute sowie relative Transitionale B-Zellzahl zeigte sich in Gruppe 2 und 3 in allen Altersgruppen höher als in der Kontrollgruppe bzw. Gruppe 1. Ausreifungsstörungen der B-Zellen äußern sich z.B. in einem erhöhten Anteil Transitionaler B-Zellen. Die Milz stellt eine wichtige Zwischenstation humaner B-Transitional-Zellen dar. Transitionale B-Zellen wandern in die Milz ein, wo sie sich zu reifen B-Zellen weiterentwickeln, entweder zu Marginalzonen-B Zellen oder zu follikulären B-Zellen. Das Milzgewebe ist somit für die Etablierung eines Pools reifer B-Zellen von Bedeutung [33]. Nachgewiesen werden

können die B-Transitional-Zellen in Kochenmark, peripherem Blut und in der Milz. B-Transitional-Zellen können in der Milz des Menschen durchflusszytometrisch nachgewiesen werden. Dahingegen fehlt diese Population in den Tonsillen. Somit entwickeln sich diese kurzlebigen Zellen in der Milz zu reifen B-Zellen. Im asplenen Organismus scheint dahingehend eine Ausweichmöglichkeit zu bestehen, weil trotz Fehlens des Milzgewebes ein normalgroßes Kompartiment reifer B-Zellen nachgewiesen werden kann [34]. Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass durch das reduzierte Milzvolumen eine weitere Reifung der transitionalen B-Zellen temporär nicht möglich war und diese somit in großer Zahl in diesem Stadium arretierten und zu einer absoluten und ggf. relativen Erhöhung führten, was sich auch gut im Vergleich der post- mit den präoperativen Werten der Patienten nach subtotaler Splenektomie zeigte. Die Milz stellt das Zielorgan dieser Zellen dar.

4.3.1.6 Altersabhängige absolute und relative Memory B-Zellzahl

Die durchschnittliche Population der B-Gedächtniszellen der Kontrollgruppe vergrößerte sich vom frühen Kindesalter (17,8 %) bis zum Erwachsenenalter (29,0 %). Nach Kruetzmann umfassen die B-Gedächtniszellen 35 - 45 % des gesamten B-Zell-Pools [33].

Es zeigte sich kein Unterschied der relativen Memory B-Zellzahl zwischen der Kontrollgruppe und der Patientengruppe 1. Dies lässt schließen, dass die an HS erkrankten Patienten eine suffiziente Immunfunktion aufwiesen.

Die relative Memory B-Zellzahl der Gruppe 2 der Altersgruppe 2 unterschied sich nicht mit der Kontrollgruppe. Die relative Memory B-Zellzahl zeigte sich in Gruppe 2 und 3 der Altersgruppen 3 und 4 niedriger als in der Kontrollgruppe bzw. Gruppe 1. Die Splenektomie ist immer mit einer Erschöpfung der zirkulierenden Memory B-Zellen verbunden, da die Milz das größte sekundäre Lymphorgan ist und als Reservoir für B-Gedächtniszellen fungiert. Kruetzmann stellte fest, dass unmittelbar nach Splenektomie beide Arten von Memory B-Zellen im peripheren Blut abnahmen, die Switched Memory B-Zellen aber mit fortlaufender Zeit erneut anstiegen, während der Verlust von IgM Memory B-Zellen dauerhaft blieb [33].

Bis zu vier Jahre nach totaler Splenektomie konnten wir in unserer Studie wenige $CD27^{pos}$ Zellen im peripheren Blut (PB) nachweisen. Nach Kruetzmann et al. hatte der splenektomierte Patient (4 Jahre po) eine niedrige Frequenz sowohl von IgM Memory B-Zellen als auch von Switched Memory B-Zellen [33].

Bei Patienten unserer Studie, deren totale Splenektomien bis zu 15 Jahre und länger zurücklagen, war der die relative Memory B-Zellzahl insgesamt weiterhin stark reduziert. Das überhaupt noch Memory B-Zellen nachgewiesen werden konnten, lässt sich nur zum Teil mit deren Langlebigkeit erklären. Möglicherweise haben sie ein begrenztes proliferatives Potential.

Eine vollständige Regeneration des B-Gedächtniszell Kompartiments nach totaler Splenektomie konnte in unserer Studie nicht beobachtet werden. Bei der Analyse der Expression für mIgM und mIgD zeigte sich entgegen den Untersuchungen von Kruetzmann et al., dass diese Population aus non-switched sowie Switched Memory B-Zellen bestand.

Bei dem splenektomierten Patienten (40 J po) konnte eine deutlich abgrenzbare Population $CD27^{pos}$ B-Zellen identifiziert werden [33]. Die Anzahl der Switched Memory B-Zellen dieses Patienten war reduziert [33]. Bei der Analyse der Expression für mIgM und mIgD zeigte sich, dass diese Population nur aus Switched Memory B-Zellen bestand. Nach Kruetzmann et al. ist die Milz unverzichtbar für die Bildung und das Überleben von IgM-Memory B-Zellen, während sich Switched Memory B-Zellen auch in anderen lymphatischen Geweben entwickeln können [34]. Bei langzeit-splenektomierten und kongenital asplenen Patienten konnte ein normalgroßes Kompartiment reifer B-Zellen identifiziert werden [34]. Kruetzmann et al. stellte fest, dass die Splenektomie beim Menschen zu einem Verlust des gesamten Memory B-Zell-Kompartiment führt, welches sich im Langzeitverlauf nur mit Switched Memory B-Zellen rekonstituiert [34]. In unserer Studie konnten hingegen in jeder Altersgruppe nach subtotaler bzw. totaler Splenektomie IgM Memory B-Zellen nachgewiesen werden.

4.3.1.7 Altersabhängige absolute und relative IgM Memory B-Zellzahl

Die relative IgM Memory B-Zellzahl der Kontrollgruppe nahm in unserer Studie im Laufe des Lebens vom frühen Kindesalter (9,1 %) bis zum Erwachsenenalter (15,9 %) zu. Laut Weller et al. besitzt man schon im 2. Lebensjahr etwa die Hälfte der IgM Memory B-Zellen des Erwachsenen [61].

Es zeigte sich kein Unterschied der IgM Memory B-Zellen zwischen der Kontrollgruppe und der Patientengruppe 1. Dies lässt schließen, dass die an HS erkrankten Patienten eine suffiziente Immunfunktion aufwiesen.

Gegenüber der Kontrollgruppe zeigte die Gruppe 2 der Altersgruppe 2 und 3 eine gute Immunfunktion, da es keinen Unterschied zwischen den 2 Gruppen gab. Die relative IgM Memory B-Zellzahl der Gruppe 3 der Altersgruppe 3 zeigte sich gegenüber der Kontrollgruppe niedriger [40]. Die relative IgM Memory B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 4 zeigte sich gegenüber der Kontrollgruppe und Gruppe 1 erniedrigt [40]. Nach Kruetzmann et al. können IgM B-Gedächtniszellen nur in der Milz generiert werden [34]. Bei verringertem bzw. ganz fehlendem Milzvolumen ließ sich eine spezifische Verminderung der IgM Memory B-Zellen nach subtotaler bzw. totaler Splenektomie nachweisen. In unserer Studie fand sich in allen Altersgruppen kein Unterschied zwischen der subtotalen und der totalen Patientengruppe bzgl. der Höhe der absoluten bzw. relativen IgM Memory B-Zellzahl im PB.

Zirkulierende IgM Memory B-Zellen spiegeln das Vorhandensein von funktionellem Milzgewebe wider, das ursprünglich in eine Nur-IgM-, eine IgM+IgD+-Subpopulation und eine kleinere IgD-only-Subpopulation unterteilt war [34]. Neben der Marginalzone gibt es in der Literatur Hinweise darauf, dass es weitere Speicherorte für die IgM Memory B-Zellen außerhalb der Milz gibt. Cameron et al. konnten zeigen, dass nach einer Splenektomie diese Zellen zunächst mit einer Latenz von 6 Monaten abfallen, dann aber auf einem niedrigem Level stabil bleiben [10]. Als Erklärung dafür wird in dieser Studie neben einem Speicherort außerhalb der Milz eine langsame Umsatzrate und damit eine lange Lebensdauer in der Peripherie benannt. Das wird auch von Good-Jacobson et al. beschrieben [24].

Zahlreiche wissenschaftliche Arbeiten zu diesem Thema zeigen, dass verminderte IgM Memory B-Zellen mit einer verminderten Milzfunktion bzw. verringertem funktionellen Milzgewebe korrelieren, unabhängig der zu Grunde liegenden Ursachen [3, 33, 61].

Es wäre außerdem vorstellbar, dass die unspezifischen Antikörper der IgM Memory B-Zellen nicht nur für die Abwehr bekapselter Bakterien zuständig sind, sondern grundsätzlich den Zeitraum überbrücken, bis die spezifischen hoch-affinen Antikörper der Switched Memory B-Zellen eine vollständige Erregerelimination ermöglichen [61].

Das heißt, dass der Parameter IgM Memory B-Zellen weder eindeutig zwischen der absoluten Zellzahl noch bzgl. der des relativen Anteils an der Gesamtlymphozytenzahl zwischen den Gruppen 2 und 3 diskriminiert.

4.3.1.7.1 Ergebnisse nach subtotaler Splenektomie (Gruppe 2)

13 von 24 Messungen fanden sich bzgl. der relativen IgM Memory B-Zellzahl unterhalb der Referenzwerte der Kontrollgruppe.

Die laparoskopische subtotale Splenektomie erhält theoretisch die langfristige Immunfunktion der Milz. Kruetzmann et al. untersuchten einen Patienten mit Verdacht auf kongenitale Asplenie in der FACS-Analyse. In der Anfärbung mit monoklonalen Antikörpern (moAk) gegen CD22, CD27, IgM und IgD konnte eine CD22/CD27 doppelt-positive B-Gedächtniszellpopulation (32 %) identifiziert werden. Anhand der fehlenden (neg) bzw. niedrigen (ni) sowie positiven (pos) Oberflächen-Expression von IgM und IgD ließ sich die Population in Switched (IgM^{neg} IgD^{neg}) (27,6 %) und IgM Memory B-Zellen (IgM^{pos} $IgD^{neg/ni}$) (7,4 %) unterteilen [34]. Allerdings war das Verhältnis dieser beiden Subpopulationen deutlich verschoben. Es fanden sich 75% Switched und nur 25% IgM Memory B-Zellen, jeweils gleiche Anteile wären zu erwarten gewesen [34]. Die reifen B-Zellen und B-Transitional-Zellen waren relativ vermehrt. Es konnte eine akzessorische Milz nachgewiesen werden. Dieser Patient unterschied sich durch die deutlich nachweisbaren IgM B-Gedächtniszellen gegenüber dem kongenital asplenen Patienten. Eine geringe Organgröße bei zusätzlich atypischer Lokalisation des Gewebes ist ausreichend, um einen immunkompetenten Pool IgM-B-Gedächtniszellen zu induzieren

[34]. Genaue Studien zeigten, dass die ektope Restmilz nicht ausreichte, um die physiologische Funktion der Entfernung von HJK und der Sequestrierung von Blutplättchen aus dem Blut zu erfüllen [34].

4.3.1.7.2 Ergebnisse nach totaler Splenektomie (Gruppe 3)

11 von 12 Messungen fanden sich bzgl. der relativen IgM Memory B-Zellzahl unterhalb der Referenzwerte der Kontrollgruppe.

Weller et al. gehen davon aus, dass Asplenie-Patienten ein lebenslanges Risiko einer OPSI nach einer Splenektomie haben, da sie bei diesen Patienten im Gegensatz zu uns keine IgM Memory B-Zellen im peripheren Blut nachweisen konnten [61].

Cameron et al. zeigten, dass die Kinetik des Verlusts von IgM Memory B-Zellen nach Splenektomie im Vergleich zum früheren Einsetzen von Lymphozytose, Thrombozytose und dem Auftreten von Veränderungen der Erythrozyten einschließlich des Auftretens von HJK verzögert war [10]. In einer Querschnittsanalyse nahm die Zahl der zirkulierenden IgM Memory B-Zellen wie schon oben genannt in den ersten 6 Monaten ab und blieb danach über viele Jahre stabil [10]. Cameron et al. zeigten einen offensichtlich exponentiellen Rückgang der IgM Memory B-Zellen innerhalb der ersten 100 - 150 Tage, aber darüber hinaus stabile Werte [10].

Ein Patient der Gruppe 3 erhielt nach totaler Splenektomie Untersuchungen zu zwei postoperativen Zeitpunkten. Er zeigte in beiden Fällen eine erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl. Innerhalb der 3,3 Jahre sank die relative IgM Memory B-Zellzahl weiter ab und die relative Switched Memory B-Zellzahl erneut an. Dies zeigt gut, dass sich die Memory B-Zellen im Langzeitverlauf mit Switched Memory B-Zellen rekonstituierten [34]. Die Erklärung für das Vorhandensein von IgM Memory B-Zellen nach totaler Splenektomie geben uns Cameron et al. sowie Good-Jacobsen et al., mit der Vermutung einer langsamen Umsatzrate und damit langen Lebensdauer dieser Subpopulation [10, 24].

Wie schon oben erwähnt, wurde von Cameron et al. festgestellt, dass die Splenektomie mit einem verringerten Anteil sowohl der gesamten Memory B-Zellpopulation als auch der IgM Memory B-Zellpopulation, jedoch nicht der Gesamtzahl der B-Zellen, einhergeht

[10]. Die zugrunde liegende Indikation zur Splenektomie hatte keinen Einfluss auf den Zerfall von IgM Memory B-Zellen [10]. Dies deutet darauf hin, dass es alternative Quellen für die IgM Memory B-Zellen gibt, die für eine niedrige, aber anhaltende Anzahl verantwortlich sind [10].

Die beiden wichtigsten Ergebnisse waren erstens, dass das IgM-Gedächtnis länger anhält als das IgG-Gedächtnis, und zweitens, dass sich Switched Memory B-Zellen während einer sekundären Reaktion schnell zu Plasmablasten differenzieren, während IgM Memory B-Zellen eine langsamere Umsatzrate aufweisen [10].

4.3.1.8 Altersabhängige absolute und relative MZ-like B-Zellzahl

In Altersgruppe 2 zeigten die Patienten der Gruppe 2 (nach subtotaler Splenektomie) eine gute Immunfunktion, da es keinen Unterschied zur Kontrollgruppe gab.

Die relative MZ-like B-Zellzahl zeigte sich in Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 3 niedriger als in der Kontrollgruppe und Gruppe 1. Die relative MZ-like B-Zellzahl der Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 4 zeigte sich gegenüber der Kontrollgruppe und Gruppe 1 erniedrigt. Es zeigte sich eine Verminderung der Subpopulation nach subtotaler bzw. totaler Splenektomie. Als spezifischen Marker für die Milzfunktionen zogen wir die MZ like B-Zellen heran, die in der Marginalzone der Milz gebildet und gespeichert werden. Weller et al. konnten durch Phänotypisierung und Gen-Profiling nachweisen, dass IgM+ IgD+ CD27+ Zellen (IgM Memory B-Zellen) im peripheren Blut den zirkulierenden Marginalzonen B-Zellen aus der Milz entsprechen [61]. In der Peripherie werden sie als MZ-like B-Zellen bezeichnet [61]. Aus diesem Grund benutzen wir in unserer Studie die IgM Memory B-Zellen als Marker für die Immunfunktion der Milz.

4.3.1.9 Altersabhängige absolute und relative Switched Memory B-Zellzahl

Die relative Switched Memory B-Zellzahl der Kontrollgruppe nahm in unserer Studie im Laufe des Lebens vom frühen Kindesalter (7,7 %) bis zum Erwachsenenalter (11,9 %) zu.

Gegenüber der Kontrollgruppe zeigte die Gruppe 2 der Altersgruppe 2 eine gute erworbene Immunfunktion, da es keinen Unterschied zwischen den zwei Gruppen gab. Gegenüber der

Kontrollgruppe zeigte die Gruppe 2 und 3 der Altersgruppe 3 eine gute erworbene Immunfunktion, da es keinen Unterschied zwischen den Gruppen gab. Die relative Switched Memory B-Zellzahl war in Gruppe 2 der Altersgruppe 4 niedriger als in der Kontrollgruppe (Tbl. 70). Gegenüber der Kontrollgruppe zeigte die Gruppe 3 der Altersgruppe 4 eine gute erworbene Immunfunktion, da es keinen Unterschied zwischen den zwei Gruppen gab. Die relative Switched Memory B-Zellzahl blieben vermutlich nach subtotaler Splenektomie im Follow-up erniedrigt, da der Zeitraum nach Splenektomie kürzer war als nach totaler Splenektomie (10,8 Jahre vs. 26,3 Jahre). Es ist davon auszugehen, dass sich die relative Switched Memory B-Zellzahl ebenfalls wie bei der Patientengruppe nach totaler Splenektomie im postoperativen Langzeitverlauf normalisiert. Nach totaler Splenektomie kam es in unserer Studie zu einer vorübergehenden Depletion der relativen Switched Memory B-Zellzahl, die sich im Verlauf jedoch erholten. Daher fand sich kein Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und der Patientengruppe nach totaler Splenektomie mehr wieder.

Nach Kruetzmann et al. können sich Switched Memory B-Zellen auch in anderen lymphatischen Geweben entwickeln [34]. Bei langzeit-splenektomierten und kongenital asplenen Patienten konnte ein normalgroßes Kompartiment reifer B-Zellen identifiziert werden [34]. Kruetzmann et al. stellte fest, dass die Splenektomie beim Menschen zu einem Verlust des gesamten Memory B-Zellkompartiment führt, welches sich im Langzeitverlauf nur mit Switched Memory B-Zellen rekonstituiert [34]. Dieser Entwicklungsprozess zeigt sich in Abwesenheit der Milz jedoch deutlich beeinträchtigt, weil ein altersentsprechender Pool für die Etablierung in anderen Lymphgeweben bedeutend länger wie unter normalen Bedingungen benötigt. In unserer Studie führte die subtotale Splenektomie im Follow-up (10,8 J) zu einer Depletion der relativen Switched Memory B-Zellzahl. Die Depletion der Subpopulation war in der Patientengruppe 3 im Beobachtungszeitraum (26,3 J) nur vorübergehend. Es ist naheliegend anzunehmen, dass die Mikroumgebung der Milz, vermutlich über bislang nicht identifizierte lösliche Faktoren oder Zellkontakte das Überleben zirkulierender Switched Memory B-Zellen sichert [33].

4.3.1.10 Direkter Vergleich prä- und postoperativer Werte

Die relative Transitionale B-Zellzahl nahm nach Intervention in beiden Altersgruppen zu. Die relative Memory -, IgM Memory - sowie Switched Memory B-Zellzahl nahm nach Intervention in beiden Altersgruppen ab.

Die relative Transitionale B-Zellzahl war im Vergleich zu den präoperativen Werten nach subtotaler Splenektomie in Altersgruppe 2 (+2,9 +/- 1,8 Punkte) sowie in Altersgruppe 3 (+3,2 +/- 1,7 Punkte) angestiegen. Dies untermauert, dass in allen Patienten der Wert nach subtotaler Splenektomie durch die Reduktion des Milzvolumens postoperativ anstieg.

Im Vergleich der post- gegenüber den präoperativen Messungen der Patienten nach subtotaler Splenektomie war die relative Memory B-Zellzahl in Altersgruppe 3 (-5,6 +/- 1,3 Punkte) sowie in Altersgruppe 2 (-7 +/- 8,6 Punkte) abgefallen. Daraus schließen wir, dass nach subtotaler Splenektomie die relative Memory B-Zellzahl aufgrund der Reduktion des Speicherorgans Milz abgesunken ist.

In unserer Studie ergab sich im Vergleich der post- mit präoperativen Messungen ein Abfall der relativen IgM Memory bzw. MZ-like B-Zellzahl. Bei einem Patient kam es sogar zu einem Anstieg der absoluten sowie relativen IgM Memory sowie MZ-like B-Zellzahl. Außerdem war die absolute sowie relative IgM Memory und MZ-like B-Zellzahl von zwei Patienten normwertig. Dies lässt uns schließen, dass die Restmilz neue IgM Memory bzw. MZ-like B-Zellen regenieren kann. Bei 3 Patienten war die relative IgM Memory und MZ-like B-Zellzahl erniedrigt, bei 2 Patienten schon präoperativ. Es konnten jedoch bei allen Patienten IgM Memory sowie MZ-like B-Zellen nachgewiesen werden. Dies zeigt gut, dass sich die Memory B-Zellen im Langzeitverlauf nach subtotaler Splenektomie mit IgM Memory bzw. MZ-like B-Zellen sowie mit Switched Memory B-Zellen rekonstituierten [34].

Die relative Switched Memory B-Zellzahl war im Vergleich zu den präoperativen Messungen in der Altersgruppe 3 (-2,8 +/- 0,9 Punkte) sowie in der Altersgruppe 2 (-1,4 +/- 2,6 Punkte) nach subtotaler Splenektomie abgefallen. Dies untermauert, dass der Wert nach subtotaler Splenektomie durch die Reduktion des Milzvolumens postoperativ abfiel.

4.4 Gegenüberstellung von pitE und B-Zell Immunphänotypisierung

Nach Steinhausen kann die Ausprägung der Hyposplenie für klinische Zwecke bestimmt werden, um das Risiko einer schweren Infektion abzuschätzen [36]. Erhöhte Werte können auf ein erhöhtes Risiko einer fulminanten Infektion hinweisen, die eine Antibiotikaprophylaxe erfordern [4, 41].

In Gegenüberstellung der pitE-Werte mit der relativen IgM Memory B-Zellzahl für das Kontrollkollektiv und die Patientengruppe 1 ergab sich bei erhöhten pitE-Werten keine erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl. Ebenfalls ergaben sich bei erniedrigter relativer IgM Memory B-Zellzahl normwertige pitE-Werte.

Für die Patientengruppe 2 zeigten sich bei eindeutig erhöhten pitE-Werten in 12 von 19 Patienten ebenfalls eine erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl. 1 der 12 Patienten zeigte schon präoperativ eine erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl. In 12 von 13 Patienten mit einer reduzierten relativen IgM Memory B-Zellzahl zeigten sich ebenfalls erhöhte pitE-Werte. Nach subtotaler Splenektomie zeigten sich in einigen Fällen beide Werte pathologisch verändert.

Für die Patientengruppe 3 ergaben sich in genannter Gegenüberstellung in 10 von 11 Fällen mit eindeutig erhöhtem pitE-Wert ebenfalls eine erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl. In 10 von 10 Fällen ging eine erniedrigte IgM Memory B-Zellzahl mit pathologisch erhöhten pitE-Werten einher. Nach totaler Splenektomie zeigten sich in den meisten Fällen beide Werte pathologisch verändert.

4.5 Selektive Milzszintigraphie

Die Milzszintigrafie gilt als Goldstandard für die Untersuchung der Phagozytosekapazität der Milz [35]. Nach Steinhausen zeigten Patienten mit < 3,5 % pitE in der Milzszintigraphie eine normale Funktion [50]. In der selben Studie zeigten Patienten mit > 3,5 % pitE in der Milzszintigrafie eine verminderte oder fehlende Aufnahme von Radioaktivität [50]. Ab Werten von 3,7 % zeigte sich eine verminderte Aufnahme, ab 4,8 % kam die Milz nicht mehr zur Darstellung [50]. Di Sabatino et al. stellten hingegen fest, dass jeder Patient mit pitE unter 16,2 % in der Szintigraphie eine Aufnahme von

Radioaktivität in der Milz zeigte [16]. Nach Di Sabatino et al. war der Nachweis von Milzgewebe bei Szintiscans nicht immer mit niedrigen Werten von pitE verbunden, woraus geschlossen wurde, dass das Vorhandensein von Milzgewebe nicht unbedingt die Rückkehr der Milzfunktion bedeutete [16].

Wir hatten die Gelegenheit bei 4 Patienten der Gruppe 2 eine Szintigraphie durchzuführen. Die Szintigraphien wiesen jeweils auf eine normale phagozytäre Funktion der Restmilz hin. Demnach zeigte sich in unserer Studie eine normale Phagozytosefunktion der Milz in der Szintigraphie bei pitE-Werten von < 2 % bis mindestens 5,3 %. In unserer Studie lagen > 10 Jahre zwischen den Szintigraphien und den pitE-Messungen, da die Szintigraphien bis zum Jahr 2005 durchgeführt wurden. Es hatte sich jedoch kein Zusammenhang zwischen der Anzahl pitE und der Anzahl der postoperativen Jahre nach subtotaler Splenektomie in unserer Studie gezeigt.

Anhand der Szintigraphie Untersuchung kann eine Aussage über die Durchblutung und Phagozytosefunktion der Restmilz getroffen werden. Anhand der Sonographie kann die Durchblutung der Restmilz eingeschätzt werden, sodass bei gut durchbluteter Restmilz > 3 Monaten nach Op von funktionierendem Gewebe ausgegangen werden kann.

4.6 Schlussfolgerung

Wir konnten feststellen, dass sich der Hämoglobin-Wert, die Gesamtbilirubin-Konzentration sowie die relative Retikulozytenzahl nach laparoskopischer subtotaler Splenektomie normalisierten und über mindestens 12 Monate konstant blieben [40].

Die Hospitalisierungsdauer zeigte sich in gutem Verhältnis zum Operationsumfang und die Komplikationsrate stellte sich niedrig dar. Bei einer Restmilzgröße von 30 ml (Median) nach subtotaler Splenektomie kam es zu keiner Nachresektion [40]. Bei Patienten mit einer Restmilzgröße von < 30 ml kam es zu keiner erneuten Splenomegalie.

Außerdem konnten wir feststellen, dass sich hinsichtlich des Einflusses einer subtotalen Splenektomie auf die Restmilzfunktion bei pädiatrischen Patienten ähnliche Ergebnisse in Bezug auf die Phagozytosefunktion und auf die immunologische Funktion zeigten.

Die „Pitted Erythrocytes“, die zum Nachweis der Phagozytosefunktion dienen, ergaben in unserer Studie höhere Befunde für die Patienten nach subtotaler Splenektomie im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Ergebnisse aller Patienten der Gruppe 2 lagen unterhalb der Aspleniegrenze [40]. Ebenfalls ergaben sich niedrigere Werte für die Patienten nach subtotaler Splenektomie im Vergleich zur Patientengruppe nach totaler Splenektomie [40]. Wir gehen davon aus, dass die Restmilzen eine signifikante Phagozytosefunktion besaßen.

Auf der anderen Seite konnten wir mittels Immunphänotypisierung eine Reduktion der relativen IgM Memory B-Zellzahl nach subtotaler sowie totaler Splenektomie nachweisen [40]. Zirkulierende IgM Memory B-Zellen spiegeln das Vorhandensein von funktionellem Milzgewebe wider, sodass das Vorhandensein der IgM Memory B-Zellen eine ausreichende immunologische Funktion der Restmilzen nachweist. Es ist davon auszugehen, dass sich die relative Switched Memory B-Zellzahl im postoperativen Langzeitverlauf normalisiert. Alle Ergebnisse der Gruppe 3 zeigten eine erniedrigte relative IgM Memory B-Zellzahl. Ein Teil der Ergebnisse der Gruppe 2 wies eine normwertige IgM Memory B-Zellzahl auf.

Schlussfolgernd kann man davon ausgehen, dass sich der pitE-Wert nach laparoskopischer subtotaler Splenektomie dauerhaft höher und die relative IgM Memory B-Zellzahl dauerhaft niedriger im Vergleich mit der Kontrollgruppe darstellt.

5 Zusammenfassung

In unserer Studie wurde die laparoskopische subtotale Splenektomie bei Patienten mit Hereditärer Sphärozytose (HS) hinsichtlich der Effektivität bzgl. der Grunderkrankung sowie der Bewertung der Milzfunktion untersucht.

Angesichts des fehlenden Nachresektionsbedarfs sowie der stabilen Reduktion der Hämolyseparameter, halten wir die laparoskopische subtotale Splenektomie mit einer Restmilzgröße von < 30 ml, bei Bedarf in Kombination mit einer Cholecystektomie, für einen sehr gut geeigneten Ansatz zur Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit HS. Nicht systematisch untersucht wurde die Frage der Rekonvaleszenz in Bezug auf sportliche Aktivitäten. Unter anderem ist die subtotale Splenektomie bei einer Operationsindikation vor dem 6. Lebensjahr vorteilig, da eine gute Restmilzfunktion gegeben ist. Die Komplikationsrate zeigte sich gering. Bei keinem Patienten kam es zu einer Infektion der Wunde. Unsere Studie bildet aufgrund der Stichprobengröße und des Beobachtungszeitraumes nicht das Auftreten von möglichen Langzeitfolgen (u.a. pulmonaler Hypertonie) ab.

Nach unseren Daten trat weder bei Patienten mit vollständiger noch bei Patienten mit subtotaler Splenektomie innerhalb der Nachbeobachtung eine „overwhelming post-splenectomy-infection“ (OPSI) auf.

Das Ziel unserer Untersuchungen war es, anhand von im klinischen Alltag einsetzbaren Methoden die mögliche Beeinträchtigung der Milzfunktion nach einer subtotalen Splenektomie zu erfassen. Die Funktion der Milz kann man auf zwei Ebenen untersuchen. Da das retikuloendotheliale System gealterte und beschädigte Blutzellen aussortiert, kann eine Dysfunktion mit dem Nachweis von „Pitted Erythrocytes“ (PitE) abgebildet werden. Der Prozentsatz der „Pitted Erythrocytes“ korreliert mit dem funktionellen Milzgewebe. Wir konnten nachweisen, dass die pitE-Werte nach subtotaler Splenektomie unterhalb der Aspleniegrenze lagen, gegenüber der Kontrollgruppe erhöht, aber niedriger als die der Patientengruppe nach totaler Splenektomie waren. Die Patienten nach subtotaler Splenektomie besaßen damit eine noch erhaltene Phagozytosefunktion der Restmilz.

Eine Möglichkeit zum Nachweis der immunologischen Funktion stellt die Durchflusszytometrie dar. Dabei werden die prozentualen Anteile der B-Zell Subpopulationen gemessen. Spezifisch für die Milz sind dabei die Immunglobulin (Ig) M Memory B-Zellen, die in der Marginalzone der Milz gebildet und gespeichert werden. Sie werden T-Zell-unabhängig aktiviert. Diese dienen zur Abwehr bekapselter Erreger und schützen vor einem OPSI. Zirkulierende IgM Memory B-Zellen spiegeln das Vorhandensein von funktionellem Milzgewebe wider. Wir konnten nachweisen, dass die relative Zellzahl nach subtotaler Splenektomie gegenüber der Kontrollgruppe reduziert war, insgesamt besaßen die Patienten nach subtotaler Splenektomie jedoch eine gute immunologische Funktion der Restmilz. Die Performance der Immunphänotypisierung zur Diskriminierung zwischen Patienten nach subtotaler und totaler Splenektomie zeigte sich jedoch nicht ausreichend. Dennoch erscheint es überlegenswert, bei allen pädiatrischen Patienten nach subtotaler Splenektomie eine Kontrolle der immunologischen Milzfunktion durch Analyse der IgM Memory B-Zellen vorzunehmen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die laparoskopische subtotale Splenektomie ein effektives und sicheres Verfahren zur Behandlung von Patienten mit HS darstellt. Untersuchungen zur phagozytären und immunologischen Funktion weisen darauf hin, dass die Restmilz eine ausreichende immunologische Funktion erfüllt, um das Risiko einer schweren Infektion mit bekapselten Bakterien deutlich zu reduzieren.

6 Danksagung

Die Danksagung wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

7 Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

8 Literaturverzeichnis

1. AG Meningokokken B der Ständigen Impfkommission (STIKO), Hellenbrand W, Bogdan C, Burchard G, Heininger U, Tenenbaum T, Erhardt M, Vogel U, Von Kries R: Aktualisierte Stellungnahme der STIKO am RKI zum Stand der Bewertung einer Impfung gegen Meningokokken der Serogruppe B (Stand 20.12.2017). Epidemiologisches Bulletin, 3: 35-44(2018)

2. AG Pneumokokken der Ständigen Impfkommission (STIKO): Wissenschaftliche Begründung für die Aktualisierung der Empfehlungen zur Indikationsimpfung gegen Pneumokokken für Risikogruppen. Epidemiologisches Bulletin, 37: 385-406(2016)

3. Allman D, Pillai S: Peripheral B cell subsets. Current opinion in immunology, 20: 149-157(2008)

4. Angay O, Friedrich M, Pinnecker J, Hintzsche H, Stopper H, Hempel K, Heinze K G: Image-based modeling and scoring of Howell-Jolly Bodies in human erythrocytes. Cytometry, 93: 305-313(2018)

5. Bader-Meunier B, Gauthier F, Archambaud F, Cynober T, Miélot F, Dommergues J P, Warszawski J, Mohandas N, Tchernia G: Long-term evaluation of the beneficial effect of subtotal splenectomy for management of hereditary spherocytosis. Blood, 97: 399-403(2001)

6. Beseoglu K: Splenektomie bei hämatologischen Erkrankungen. Med Dissertation, Universität Düsseldorf (2004)

7. Bianchi P, Fermo E, Vercellati C, Marcello A P, Porretti L, Cortelezzi A, Barcellini W, Zanelia A: Diagnostic power of laboratory tests for hereditary spherocytosis: a comparison study in 150 patients grouped according to molecular and clinical characteristics. Haematologica, 97: 516-523(2012)

8. Bolton-Maggs P H B, Langer J C, Iolascon A, Tittensor P, King M: Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis - 2011 update. British Journal of Haematology, 156: 37-49(2011)

9. Buchanan G.R H C A, Horton J.A: Formation and disappearance of pocked erythrocytes: studies in human subject and laboratory animals. Hematology, 25: 243-251(1987)

10. Cameron P U, Jones P, Gorniak M, Dunster K, Paul E, Lewin S, Woolley I, Spelman D: Splenectomy Associated Changes in IgM Memory B cells in an Adult Spleen Registry Cohort. PloS ONE, 6: 1-13(2011)

11. Cesta M F: Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen. Toxicologic Pathology, 34: 455-465(2006)

12. Corazza G. R, Tarozzi C., Vaira D., Frisoni M., Gasbarrini G: Return of splenic function after splenectomy- how much tissue is needed? British Medical Journal, 289: 861-864(1984)

13. de Buys Roessingh A S, de Lagausie P, Rohrlich P, Berrebi D, Aigrain Y: Follow-up of partial splenectomy in children with hereditary spherocytosis. Journal of Pediatric Surgery, 37: 1459-1463(2002)

14. de Porto A P N A, Lammers A J J, Bennink R J, ten Berge R J M, Speelman P, Hoekstra J B L: Assessment of splenic function. European journal of clinical microbiology and infectious diseases, 29: 1465-1473(2010)

15. Delhommeau F, Cynober T, Schischmanoff P O, Rohrlich P, Delaunay J, Mohandas N, Tchernia G: Natural history of hereditary spherocytosis during the first year of life. Blood, 95: 393-397(2000)

16. Di Sabatino A, MD, Carsetti R, MD, Corazza G R, Prof: Post-splenectomy and hyposplenic states. The Lancet, 378: 86-97(2011)

17. Dittrich W (Hrsg) SOP Version 1 Pitted erythrocytes. QM-Handbuch, Klinik und Poliklinik für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie Hamburg-Eppendorf, (2006)

18. Eber S L S E: Hereditary spherocytosis--defects in proteins that connect the membrane skeleton to the lipid bilayer. Hematology, 41: 118-141(2004)

19. Eber S, Andres O: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/025-018l-S1_Hereditaere-Sphaerozytose_2016-12.pdf (01.01.2021).

20. Eber S W, Armbrust R, Schröter W: Variable clinical severity of hereditary spherocytosis: Relation to erythrocytic spectrin concentration, osmotic fragility, and autohemolysis. The Journal of Pediatrics, 117: 409-416(1990)

21. Eichner H, Edward R: Splenic Function: Normal, Too Much and Too Little . . The American Journal of Medicine, 66: 311-320(1979)

22. Engelhardt M, Eber S, Germing U, Schmugge Liner M, Rieg S: , https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/asplenie-und-hyposplenismus-frueher-praevention-von-infektionen-und-thrombosen-nach-splenektomie-oder-funktioneller-asplenie/@@guideline/html/index.html (01.12.2021).

23. Esposito C, Schaarschmidt K, Settimi A, Montupet P: Experience with laparoscopic splenectomy. Journal of Pediatric Surgery, 36: 309-311(2001)

24. Good-Jacobsen K. L T D M: Multiple routes to B-cell memory. International immunology, 24: 403-408(2012)

25. Groom A C, Schmidt E E: Microcirculatory blood flow through the spleen . In: Bowdler A J, ed. (Hrsg) The Spleen: Structure, Function and Clinical Significance, Chapman and Hall, London, S. 45-102 (1990)

26. Guizzetti L: Total versus partial splenectomy in pediatric hereditary spherocytosis: A systematic review and meta-analysis. Pediatric blood cancer, 63: 1713-1722(2016)

27. Iolascon A, Andolfo I, Barcellini W, Corcione F, Garçon L, De Franceschi L, Pignata C, Graziadei G, Pospisilova D, Rees D C, De Montalembert M, Rivella S, Gambale A, Russo R, Ribeiro L, Vives-Corrons J, Martinez P A, Kattamis A, Gulbis B, Cappellini M D, Roberts I, Tamary H: Recommendations regarding splenectomy in hereditary hemolytic anemias. Haematologica, 102: (2017)

28. Jacobsen E (Hrsg) SOP Version 2 B-Zell Immunphänotypisierung . QM-Handbuch, Universitätsklinik Ulm, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, (2016)

29. Jacobsen E (Hrsg) SOP Version 3 Ficoll Dichtegradienten Anreicherung, Kryokonservierung und Auftauen von MNC . QM-Handbuch, Universitätsklinik Ulm, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, (2016)

30. Kiehl W, Fehrmann S: Mitteilung der Ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert Koch-Institut: Fragen und Antworten zu verschiedenen Impfungen. Epidemiologisches Bulletin, 41: 345-348(2002)

31. Kirkineska L, Perifanis V, Vasiliadis T: Functional hyposplenism. Hippokratia, 18: 7-11(2014)

32. Krauth M, Lechner K, Neugebauer E A M, Pabinger I: The postoperative splenic/portal vein thrombosis after splenectomy and its prevention - an unresolved issue. Haematologica (Roma), 93: 1227-1232(2008)

33. Kruetzmann S A C: Die späten Phasen der B-Zell-Entwicklung des Menschen und die Beschreibung der zentralen Rolle der Milz in der Ausbildung und dem Erhalt des B-Zell-Gedächtnisses. Med Dissertation, Universität Freiburg im Breisgau (2002)

34. Kruetzmann S, Rosado M M, Weber H, Germing U, Tournilhac O, Peter H, Berner R, Peters A, Boehm T, Plebani A, Quinti I, Carsetti R: Human Immunoglobulin M Memory B Cells Controlling Streptococcus pneumoniae Infections Are Generated in the Spleen. Journal of Experimental Medicine, 197: 939-945(2003)

35. Lammers A J J, de Porto A P N A, Bennink R J, van Leeuwen E M M, Biemond B J, Goslings J C, van Marle J, ten Berge I J M, Speelman P, Hoekstra J B L: Hyposplenism:

Comparison of different methods for determining splenic function. American journal of hematology, 87: 484-489(2012)

36. Lehmberg K, Steinhausen B, Janka G: From Neonates to Adolescents - The Diagnostic Significance of Pitted Erythrocytes in Hyposplenic and Asplenic Children. Klinische Pädiatrie, 219: 339-342(2007)

37. Liu G, Fan Y: Feasibility and Safety of Laparoscopic Partial Splenectomy: A Systematic Review., 43: 1505-1518(2019)

38. Lux S E: Anatomy of the red cell membrane skeleton: unanswered questions. Blood, 127: 187-199(2016)

39. Manciu S, Nae G, Diaconu A, Colita A, Dragomir M P, Purnichescu-Purtan R, Tudor S, Vasilescu C: Long-Term Evaluation of the Outcomes of Subtotal Laparoscopic and Robotic Splenectomy in Hereditary Spherocytosis., 44: 2220-2228(2020)

40. Münch AL, Jacobsen E-M, Schulz A, Loichinger W, Wowra T, Schiefele L, Elsner J, Westhoff M-A, Serra A, Strauss G, Schaarschmidt K, Cario H: Long-term haematological response and maintained immunological function after laparoscopic subtotal splenectomy in patients with hereditary spherocytosis. European Journal of Haematology, 111: 777-786(2023). doi:10.1111/ejh.14077

41. Pearson H A, McIntosh S, Ritchey A K, Lobel J S, Rooks Y, Johnston D: Developmental aspects of splenic function in sickle cell diseases. Blood, 53: 358-365(1979)

42. Piątosa B, Wolska-Kuśnierz B, Pac M, Siewiera K, Gałkowska E, Bernatowska E: B cell subsets in healthy children: Reference values for evaluation of B cell maturation process in peripheral blood. Cytometry Part B: Clinical Cytometry, 78B: 372-381(2010)

43. Pincez T, Guitton C, Gauthier F, de Lambert G, Picard V, Fénéant-Thibault M, Turhan A, Mohandas N, Tchernia G, Garçon L: Long-term follow-up of subtotal splenectomy for hereditary spherocytosis: a single-center study. Blood, 127: 1616(2016)

44. Rice H E, Oldham K T, Hillery C A, Skinner M A, O'Hara S M, Ware R E: Clinical and hematologic benefits of partial splenectomy for congenital hemolytic anemias in children. Annals of surgery, 237: 281-288(2003)

45. Rogulski R, Adamowicz-Salach A, Matysiak M, Piotrowski D, Gogolewski M, Piotrowska A, Roik D, Kamiński A: Laparoscopic splenectomy for hereditary spherocytosis-preliminary report. European journal of haematology, 96: 637-642(2016)

46. Rosman C, Broens P M A, Trzpis M, Tamminga R Y J: A long-term follow-up study of subtotal splenectomy in children with hereditary spherocytosis. Pediatric blood cancer, 64: n/a(2017)

47. Schaarschmidt K, Kolberg-Schwerdt A, Lempe M, Saxena A: Ultrasonic shear coagulation of main hilar vessels: A 4-year experience of 23 pediatric laparoscopic splenectomies without staples. Journal of Pediatric Surgery, 37: 614-616(2002)

48. Schatorjé E J H, Gemen E F A, Driessen G J A, Leuvenink J, van Hout R W N M, van der Burg M, de Vries E: Age-matched Reference Values for B-lymphocyte Subpopulations and CVID Classifications in Children. Scandinavian journal of immunology, 74: 502-510(2011)

49. Schilling R F, Gangnon R E, Traver M I: Delayed adverse vascular events after splenectomy in hereditary spherocytosis. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 6: 1289-1295(2008)

50. Steinhausen B: Die diagnostische Bedeutung von „pitted“ Erythrozyten. Med Dissertation, Universität Hamburg (2003)

51. Stoehr G A, Luecken J, Zielen S, Eber S W, Borrow R, Rose M A: Mode of splenectomy and immunogenicity of meningococcal vaccination in patients with hereditary spherocytosis. British journal of surgery, 95: 466-471(2008)

52. Stoehr G A, Sobh J N, Luecken J, Heidemann K, Mittler U, Hilgers R, Eber S W: Near-total splenectomy for hereditary spherocytosis: clinical prospects in relation to disease severity. British Journal of Haematology, 132: 791-793(2006)

53. Stoehr G A, Stauffer U G, Eber S W: Near-total splenectomy: a new technique for the management of hereditary spherocytosis. Annals of surgery, 241: 40-47(2005)

54. Strasser BM H A: Die Milz: Funktion, Erkrankungen, Chirurgie und Replantation. (1986)

55. Tchernia G., MD, Bader-Meunier B., MD, Berterottiere P., MD, Eber S., MD, Dommergues J.P., DM, and Gauthier F., MD: Effectiveness of partial splenectomy in hereditary spherocytosis. Current Opinion in Hematology, 4: 136-141(1997)

56. Tchernia G, Gauthier F, Mielot F, Dommergues J P, Yvart J, Chasis J A, Mohandas N: Initial assessment of the beneficial effect of partial splenectomy in hereditary spherocytosis. Blood, 81: 2014(1993)

57. Tham K T, Teague M W, Howard C A, Chen S Y: A simple splenic reticuloendothelial function test: counting erythrocytes with argyrophilic inclusions. American journal of clinical pathology, 105: 548-552(1996)

58. Thomsen RW, Schoonen WM, Farkas DK, Riis A, Jacobsen J, Fryzek JP, Sørensen HT: Risk for hospital contact with infection in patients with splenectomy: a population-based cohort study. Annals of Internal Medicine, 151: 546-555(2009)

59. Thomsen R W, Schoonen W M, Farkas D K, Riis A, Fryzek J P, Sorensen H T: Risk of venous thromboembolism in splenectomized patients compared with the general population and appendectomized patients: a 10-year nationwide cohort study. Journal of thrombosis and haemostasis, 8: 1413-1416(2010)

60. Warnatz K, Schlesier M: Flowcytometric phenotyping of common variable immunodeficiency. Cytometry. Part B: Clinical cytometry, 74B: 261-271(2008)

61. Weller S, Braun M C, Tan B K, Rosenwald A, Cordier C, Conley M E, Plebani A, Kumararatne D S, Bonnet D, Tournilhac O, Tchernia G, Steiniger B, Staudt L M, Casanova J, Reynaud C, Weill J: Human blood IgM “memory” B cells are circulating splenic marginal zone B cells harboring a prediversified immunoglobulin repertoire. Blood, 104: 3647-3654(2004)