

Aus dem Institut für Klinische Chemie
(Direktor: Prof. Dr. med. Ralf Junker)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**VALIDIERUNG EINES MATHEMATISCHEN ALGORITHMUS ZUR
SPEZIFISCHEN BERECHNUNG KLINISCHER REFERENZGRENZEN
AM BEISPIEL VON ERYTHROZYTENPARAMETERN**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

JOHANNES SCHADE

aus Kassel

Kiel (2019)

1. Berichtstatter:

Prof. Dr. med. Ralf Junker

2. Berichtstatter:

Prof. Dr. med. Wolfgang Lieb

Tag der mündlichen Prüfung:

09.09.2020

Zum Druck genehmigt:

Kiel, den 28.04.2020

gez.: Prof. Dr. med. Johann Roider

(Vorsitzender der Prüfungskommission)

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	i
Abbildungsverzeichnis	iv
Tabellenverzeichnis	v
Abkürzungsverzeichnis	vi
1 Einleitung	1
1.1 Das Referenzwertkonzept: Referenzgrenzen und Referenzintervalle	1
1.2 Blutbildung und Erythrozytenparameter	3
1.2.1 Hämatopoese	3
1.2.2 Erythropoese	4
1.2.3 Erythrozyten	5
1.2.4 Hämoglobin	5
1.2.5 Hämatokrit	7
1.2.6 Erythrozytenindizes	8
1.3 Klinisch-chemische Analyten in der hämatologischen Diagnostik	10
1.3.1 Cobalamin, Folsäure und Pyridoxal	10
1.3.2 C-reaktives Protein	12
1.3.3 Eisen und Ferritin	13
1.3.4 Transferrin, Transferrin-Sättigung und löslicher Transferrinrezeptor	14
1.3.5 Retikulozyten	15
1.4 Zielsetzung und Fragestellungen	15
2 Methodik	17
2.1 Datenkollektiv	17
2.1.1 Selektion der Messwerte	18
2.2 Gerätespezifikationen: Sysmex XE5000 und XT1800i	19
2.2.1 Äquivalenzprüfung der Geräte	20
2.3 Reference Limit Estimator	21
2.3.1 Zulässige Differenz und Konfidenzintervall der Referenzgrenze	23
2.4 Korrelationsberechnung	24
3 Ergebnisse	26
3.1 Prüfung der Geräte auf Äquivalenz	26
3.2 Ergebnisse der Referenzgrenzenberechnungen	28

3.3 Erythrozyten	28
3.3.1 Altersabhängigkeit der Erythrozyten	28
3.3.2 Referenzgrenzen der Erythrozyten	30
3.4 Hämoglobin	35
3.4.1 Altersabhängigkeit des Hämoglobins	35
3.4.2 Referenzgrenzen des Hämoglobins	37
3.5 Hämatokrit	41
3.5.1 Altersabhängigkeit des Hämatokrits	41
3.5.2 Referenzgrenzen des Hämatokrits	43
3.6 MCH	46
3.6.1 Altersabhängigkeit des MCHs	46
3.6.2 Referenzgrenzen des MCHs	48
3.7 MCV	50
3.7.1 Altersabhängigkeit des MCVs	50
3.7.2 Referenzgrenzen des MCVs	52
3.8 MCHC	55
3.8.1 Altersabhängigkeit des MCHCs	55
3.8.2 Referenzgrenzen des MCHCs	57
4 Diskussion	60
4.1 Altersabhängigkeit der Erythrozyten, des Hämoglobins und des Hämatokrits	60
4.2 Referenzgrenzen der Erythrozyten	64
4.3 Referenzgrenzen des Hämoglobins	68
4.4 Referenzgrenzen des Hämatokrits	71
4.5 Erythrozytenindizes	74
4.5.1 Altersabhängigkeit der Erythrozytenindizes	74
4.5.2 Referenzgrenzen der Erythrozytenindizes	76
4.6 Vergleich zwischen dem RLE und der IFCC-Methode	78
5 Zusammenfassung	81
6 Literaturverzeichnis	83
7 Anhang	90
7.1 Äquivalenztests der einzelnen Geräte untereinander (Erythrozyten)	90
7.2 Äquivalenztests (SIS und XT1800i Geräte zusammengefasst)	91
7.3 Korrelationsberechnungen	92
7.4 Verteilungen des RLE	94

8	Danksagung.....	106
9	Publikationen.....	107

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Datenkollektiv, Selektion und Auswahl der Messwerte.	18
Abb. 2: Die Verteilung der Erythrozyten für Männer und Frauen vom 18. bis zum 100. Lebensjahr.	22
Abb. 3: Violinplots der Parameter Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit.....	27
Abb. 4: Altersabhängigkeit der Erythrozyten (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer und Frauen.	29
Abb. 5: Altersabhängigkeit der Erythrozyten (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).	29
Abb. 6: Mediane der Altersgruppen für die Erythrozyten mit Referenzbereichen.	31
Abb. 7: Altersabhängigkeit des Hämoglobins (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer und Frauen....	36
Abb. 8: Altersabhängigkeit des Hämoglobins (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).....	37
Abb. 9: Mediane der Altersgruppen für das Hämoglobin mit Referenzbereichen.	38
Abb. 10: Altersabhängigkeit des Hämatokrits (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer und Frauen. ..	41
Abb. 11: Altersabhängigkeit des Hämatokrits (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).....	42
Abb. 12: Mediane der Altersgruppen für den Hämatokrit mit Referenzbereichen.....	43
Abb. 13: Altersabhängigkeit des MCHs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer und Frauen.....	46
Abb. 14: Altersabhängigkeit des MCHs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).	47
Abb. 15: Mediane der Altersgruppen für das MCH mit Referenzbereichen.	48
Abb. 16: Altersabhängigkeit des MCVs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer und Frauen.....	51
Abb. 17: Altersabhängigkeit des MCVs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).	52
Abb. 18: Mediane der Altersgruppen für das MCV mit Referenzbereichen.	53
Abb. 19: Altersabhängigkeit des MCHCs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).	55
Abb. 20: Altersabhängigkeit des MCHCs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).	56
Abb. 21: Mediane der Altersgruppen für das MCHC mit Referenzbereichen.	57
Abb. 22: Verteilung der Erythrozyten (RLE) für die Altersklasse 18-100 Jahre.	65
Abb. 23: Verteilung der Erythrozyten (RLE) für die Altersklassen 18-41 und 81-100 Jahre für Männer.....	66
Abb. 24: Verteilung des Hämoglobins (RLE) für die Altersklasse 18-100 Jahre.....	69
Abb. 25: Verteilungen des Hämoglobins (RLE) für die Altersklassen 18-40 und 81-100 Jahre (Männer).	69
Abb. 26: Verteilungen des Hämatokrits (RLE) für die Altersklassen 41-60 und 61-80 Jahre für Männer.	71
Abb. 27: Verteilungen des Hämatokrits (RLE) für die Altersklassen 61-80 und 81-100 Jahre für Frauen.	72
Abb. 28: Verteilungen des MCHs (RLE) für die Altersklassen 61-80 und 81-100 Jahre (Männer).	77

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Messbereich und Genauigkeit der Sysmexgeräte XE5000 und Sysmex XT1800i	20
Tab. 2: Mediane, Mittelwerte und die dazugehörigen Standardabweichungen der Parameter Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit	26
Tab. 3: Korrelationen der Erythrozyten-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie	30
Tab. 4: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen der Erythrozyten.	33
Tab. 5: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle der Erythrozyten nach Thomas (9).....	34
Tab. 6: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle der Erythrozyten nach Herklotz et al. (65).....	35
Tab. 7: Korrelationen der Hämoglobin-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie	37
Tab. 8: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen des Hämoglobins.	39
Tab. 9: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des Hämoglobins nach Thomas (9)	40
Tab. 10: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des Hämoglobins nach Herklotz et al. (65)	40
Tab. 11: Korrelationen der Hämatokrit-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie	42
Tab. 12: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen für den Hämatokrit.	44
Tab. 13: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des Hämatokrits nach Thomas (9)	45
Tab. 14: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des Hämatokrits nach Herklotz et al. (65)	45
Tab. 15: Korrelationen der MCH-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie	48
Tab. 16: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen des MCHs.	49
Tab. 17: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCHs nach Thomas (9)	50
Tab. 18: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCHs nach Herklotz et al. (65)	50
Tab. 19: Korrelationen der MCV-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie	52
Tab. 20: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen des MCVs.	54
Tab. 21: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCVs nach Thomas (9)	54
Tab. 22: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCVs nach Herklotz et al. (65)	55
Tab. 23: Korrelationen der MCHC-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie	57
Tab. 24: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen des MCHCs.	58
Tab. 25: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCHCs nach Thomas (9).....	59
Tab. 26: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCHCs nach Herklotz et al. (65).....	59

Abkürzungsverzeichnis

ACD	engl.: anemia of chronic disease
/l	pro Liter
Abb.	Abbildung
BÄK	Bundesärztekammer
BFU-E	engl.: Burst Forming Unit-Erythroid
CFU-E	engl.: Colony Forming Unit-Erythroid
CRP	C-reaktives Protein
CSF	engl.: Colony Stimulating Factor
DGKL	Deutsche Vereinte Gesellschaft für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V.
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EPO	Erythropoetin
et al.	lat.: und andere
Fe ²⁺	zweiwertiges Eisenion
fl	Femtoliter
g/dl	Gramm pro Deziliter
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
IFCC	engl.: International Federation of Clinical Chemistry
MCH	Mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres Zellvolumen
mRNA	engl.: Messenger RNA
N	Anzahl
PALP	Pyridoxalphosphat
pCV _A	engl.: permissible analytical coefficient of variation; zulässiger analytischer Variationskoeffizient
pD	engl.: permissible difference; zulässige Differenz
pg	Pikogramm
ps _A	engl.: permissible analytical standard deviation; zulässige analytische Standardabweichung
r	Korrelationskoeffizient
KI↑	Konfidenzintervall für die obere Referenzgrenze
KI↓	Konfidenzintervall für die untere Referenzgrenze
Rili-BÄK	Richtlinie der Bundesärztekammer
RL↑	oberes Referenzlimit
RL↓	unteres Referenzlimit

RLE	engl.: Reference Limit Estimator
RNA	Ribonukleinsäure
SCF	Stammzellofaktor
SLS	Natrium-Lauryl-Sulfat-Reagenz
Tab.	Tabelle
TOST	engl.: Two One-sided-T-Test
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein

1 Einleitung

Laboranalysen sind in der Medizin ein wesentliches diagnostisches Fundament in der Versorgung von Patienten. Die Beurteilung der analysierten Werte spielt neben weiteren klinischen Parametern und Untersuchungen eine entscheidende Rolle für die weitere Therapiewahl und deren Verlauf. Bei der Bewertung und Interpretation der Messwerte sind Referenzgrenzen von klinischer Bedeutung, die als Entscheidungsgrenzen bei der Einordnung der Messwerte fungieren.

Üblicherweise werden Referenzgrenzen anhand von Probandenkollektiven ermittelt, die keine pathologischen Messwerte enthalten. Die Rekrutierung von geeigneten Referenzindividuen bringt aber einen hohen administrativen und experimentellen Aufwand mit sich und lässt sich z. B. für ältere Menschen nur schwer realisieren. Bei Referenzgrenzen wird darum nur selten auf altersspezifische Unterschiede eingegangen. Des Weiteren werden häufig keine geschlechtsspezifischen Angaben gemacht. Aufgrund dieser Problematik hat die Arbeitsgemeinschaft „Richtwerte“ der Deutschen Vereinigten Gesellschaft für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V. (DGKL) eine Software, den Reference Limit Estimator (RLE), entwickelt, die auf Grundlage von gesammelten Labordaten Referenzgrenzen berechnen kann. Im Institut für Klinische Chemie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH) steht ein stetig wachsendes Datenkollektiv zur Verfügung, das zum Zeitpunkt dieser Arbeit für jeden Parameter der Erythrozyten ca. 1,8 Mio. Messwerte bereithält und mit dem RLE analysiert werden kann.

In dieser Arbeit werden mithilfe des RLE die Erythrozytenparameter für Männer und Frauen vom 18. bis zum 100. Lebensjahr analysiert, um spezifische Referenzgrenzen zu berechnen. Diese werden anschließend mit Referenzgrenzen aus der Literatur verglichen. In Zukunft könnten anhand dieses Verfahrens Referenzgrenzen noch einfacher und spezifischer berechnet und pathologische Vorgänge im Körper noch präziser eingeordnet werden.

1.1 Das Referenzwertkonzept: Referenzgrenzen und Referenzintervalle

Das Referenzwertkonzept wurde von der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) beschrieben und in sechs Teilen als „Approved recommendations on the theory of reference values“ publiziert. Es gilt als universeller Standard der Laboratoriums-

diagnostik (1–6). In den Empfehlungen werden die theoretischen Grundlagen sowie das Vorgehen zur Ermittlung von Referenzintervallen dargestellt. Die Empfehlungen sollen im Folgenden aufgezeigt werden.

Um Referenzgrenzen und -intervalle zu etablieren, muss zunächst eine Auswahl von geeigneten Referenzindividuen erfolgen, um eine Referenzstichprobe bilden zu können. Diese sollte aus mindestens 120 Messwerten bestehen (1,5). Für die Auswahl der Referenzindividuen müssen Ein- und Ausschlusskriterien definiert werden, die abhängig vom Ziel der Referenzbereichsstudie sind. Zu den Einschlusskriterien zählen Einflussgrößen wie Alter oder Geschlecht. Ausschlusskriterien können organische Grunderkrankungen, Schwangerschaft, Medikamenteneinnahme oder exzessive körperliche Aktivität sein (2,3). Die präzise Auswahl der Ein- und Ausschlusskriterien ist von entscheidender Bedeutung. Der Zielanalyt der Studie darf nicht direkt oder indirekt beeinflusst werden. Aus diesem Grund müssen nicht zwingend gesunde Probanden rekrutiert werden. Zum Beispiel kann eine Medikation erlaubt sein, wenn sichergestellt ist, dass diese den Zielanalyten nicht beeinflusst (7). Die Rekrutierung von Blutspendern stellt ein mögliches Vorgehen zur Gewinnung von Messwerten eines Referenzkollektivs dar, das möglichst frei von pathologischen Einflüssen ist. Jedoch bringt diese Vorgehensweise der Referenzwertermittlung einen hohen logistischen und administrativen Aufwand mit sich. Außerdem sind Kinder und Jugendliche unter 18 Jahren sowie generell Erwachsene über dem 65. Lebensjahr als Neuspender von einer Blutspende ausgeschlossen (8).

Im nächsten Schritt müssen die ermittelten Messergebnisse der Referenzkohorte auf Normalverteilung überprüft werden, was mit dem Kolmogorov-Smirnov- oder dem Anderson-Darling-Test erfolgen kann. Liegt keine Normalverteilung vor, können die Daten eventuell durch Logarithmierung in eine Normalverteilung transformiert werden. Ist dies nicht möglich, können nicht-parametrische Verfahren angewendet werden (5). Allerdings ist die Bestimmung des Referenzintervalls anhand einer Normalverteilung die übliche Vorgehensweise (7). Anhand der Verteilung lassen sich die Referenzintervalle entnehmen, die nach internationaler Konvention 95 % der Messergebnisse beinhalten, was bei normalverteilten Daten dem Mittelwert ± 2 Standardabweichungen entspricht. Das Referenzintervall wird durch die untere und obere Referenzgrenze limitiert, die der 2,5ten und der 97,5ten Perzentile entsprechen. Demnach werden jeweils 2,5 % der Messergebnisse, die sich am unteren bzw. oberen Ende der Verteilung befinden, als potentiell pathologisch eingestuft. Das Referenzintervall kann auch als

Referenzbereich bezeichnet werden. Die IFCC-Methode stellt bisher den Goldstandard bei der Ermittlung von Referenzbereichen dar (7).

Der Reference Limit Estimator bietet die Möglichkeit, anhand einer indirekten Methode Referenzgrenzen zu bestimmen, wobei vorhandene laboreigene Messwerte genutzt werden. Dieses Programm geht davon aus, dass der Hauptanteil der laboreigenen Messwerte aus nicht-pathologischen bzw. physiologischen Werten besteht und der pathologische Anteil der Daten gering ist. Über mathematische Verfahren können die pathologischen Werte abgegrenzt und schließlich Referenzgrenzen ermittelt werden. Der RLE wird in Kapitel 2.3 genauer erläutert.

1.2 Blutbildung und Erythrozytenparameter

Die vorliegende Arbeit fokussiert sich auf die Berechnung von Referenzgrenzen der Erythrozytenparameter (Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozytenindizes). Aus diesem Grund werden zunächst die Grundzüge der Hämato- und Erythropoese, sowie im Anschluss die verschiedenen Erythrozytenparameter skizziert. Dabei werden die angegebenen Referenzgrenzen aus dem Laborstandardwerk von Lothar Thomas – „Labor und Diagnose“ (9) verwendet. In diesem Werk wird als Primärquelle für die Erythrozyten, das Hämoglobin und die Erythrozytenindizes Nebe et al. (10) angegeben. Für den Hämatokrit beziehen sich die Werte auf die Angaben von Fairbanks und Tefferi (11).

1.2.1 Hämatopoese

Das hämatopoetische System bildet neue Blutzellen und sorgt für eine konstante Anzahl an Zellen im Kreislauf. Innerhalb eines Zeitraumes von sieben Jahren bildet der menschliche Körper die Masse an Blutzellen, die seinem Körpergewicht entspricht (12).

Ursprung der Hämatopoese ist die pluripotente Stammzelle (CD34+), die teilungs- und reproduktionsfähig ist und sich über Vorläuferzellen zur lymphatischen oder myeloischen Zelle weiter entwickeln kann. Die Hämatopoese wird dabei durch verschiedene Wachstumsfaktoren (Zytokine) gesteuert, die Proliferation und Differenzierung beeinflussen. Diese können von knochenmarksfernen Zellen in der Leber oder der Niere gebildet werden, oder sie stammen von lokalen Stromazellen (Fibroblasten, Endo-

thelzellen). Einer dieser Wachstumsfaktoren ist der Stammzellfaktor (SCF), der gelöst und gebunden in Stromazellen vorkommt und über einen Tyrosinkinase-Rezeptor die Stammzelle aktiviert. Weiterhin sensitiviert der Stammzellfaktor die Zellen für den Colony Stimulating Factor (CSF), der an der weiteren Zelldifferenzierung beteiligt ist (13). Aus den lymphatischen und myeloischen Stammzellen differenzieren sich schließlich weitere Zellkolonien. Aus der lymphatischen Stammzelle gehen die für das menschliche Immunsystem bedeutenden T- und B-Lymphozyten hervor. B-Lymphozyten können sich zu Plasmazellen entwickeln, die Antikörper produzieren. An die myeloische Stammzelle schließen sich die Thrombozytopoese (Megakaryopoese), Granulozytopoese, Monozytopoese und die Erythropoese an (14). Auf letztere wird im Folgenden genauer eingegangen.

1.2.2 Erythropoese

Die Erythropoese wird in zwei verschiedene Phasen aufgeteilt: in die Proliferations- und die Reifungsphase (9).

In der Proliferationsphase entstehen an der Oberfläche der myeloischen Stammzelle Rezeptoren, die die Signale von Wachstumsfaktoren zur weiteren Differenzierung weiterleiten. Zunächst entsteht die Burst Forming Unit-Erythroid (BFU-E), die die unreifste Form der Erythrozytenreifung darstellt, im nächsten Schritt die Colony Forming Unit-Erythroid (CFU-E). Im Laufe von 7 Tagen bilden sich zunächst Proerythroblasten und schließlich ein Kontingent an Erythroblasten (9).

In der anschließenden Reifungs- bzw. Differenzierungsphase reifen die Erythroblasten zu Retikulozyten heran. Die erste Zellreihe dieser Reifungsphase ist der Pro-normoblast. Er besitzt ein basophiles Zytoplasma, mehrere Nukleoli und ist mit 15-20 µm im Vergleich zum finalen Erythrozyten etwa zwei bis dreimal so groß. Bestimmender Wachstumsfaktor in der Proliferations- sowie in der Reifungsphase ist das Erythropoetin (EPO). 90 % des EPOs werden in den peritubulären Zellen der Niere und ca. 10 % in der Leber produziert (15). Die EPO-Bildung wird durch eine Gewebhypoxie intensiviert, die vermehrt bei Herz- und Lungenerkrankungen, renalen Anämien, aber auch bei Hochleistungssportlern in hoch gelegenen Trainingsgebieten zu beobachten ist (16). Am Ende der Reifungsphase entsteht der Retikulozyt, der in den Blutkreislauf freigesetzt wird und dort innerhalb von 24-48 Stunden zum fertigen Erythrozyten heranreift (9).

1.2.3 Erythrozyten

Die Erythrozyten haben mit mehr als 99 % den größten Anteil an Blutzellen im menschlichen Körper. Die morphologische Erscheinung entspricht einem bikonkaven Scheibchen mit einem Durchmesser von 7,5 μm , das durch die Strukturproteine Spektrin, Aktin und Protein 4.1 sehr flexibel und deformierbar ist. Als Referenzbereich für die Erythrozytenzahl im Vollblut wird für erwachsene Männer ein Intervall von 4,4 bis 5,9 $\times 10^{12}/\text{l}$ angegeben, für erwachsene Frauen sind es 4,1 bis 5,4 $\times 10^{12}/\text{l}$ (10). Die Autoren ermittelten die Referenzwerte anhand eines Kollektivs von 1158 gesunden Männern und Frauen im Alter von 16 bis 75 Jahren und wählten dafür dem Standardverfahren folgend ein Intervall, das 95 % der Werte enthält. Abgesehen vom Hämatokrit-Wert, beziehen sich auch die Referenzwerte der anderen Erythrozytenparameter auf die Quelle von Nebe et al. (10).

Die Bestimmung der Erythrozytenzahl erfolgt im EDTA-Blut (Ethylendiamintetraacetat) oder in heparinisiertem Kapillarblut durch die Impedanz- oder Streulicht-Methode (17). Die Erythrozytenzahl gibt klinische Hinweise für verschiedene Erkrankungen: So können bei hämolytischen Anämien, Thalassämien, Sichelzellanämien und bei chemotherapeutischer Behandlung die Erythrozytenzahlen erniedrigt sein. Weitere Gründe für eine Verringerung der Erythrozytenzahl sind Cobalamin, Folsäure- und Eisenmangel sowie Niereninsuffizienz. Bei primären bzw. sekundären Polyzythämien sowie Langzeit-Glukokortikoidtherapien kann es hingegen zu erhöhten Erythrozytenzahlen kommen.

Die Lebensdauer der Erythrozyten im Blut liegt zwischen 100 und 120 Tagen (14). Danach werden sie zum größten Teil durch das Monozyten-Makrophagen-System in der Milz abgebaut. Ein weiterer Teil wird im Knochenmark phagozytiert.

1.2.4 Hämoglobin

Das Hämoglobin (Hb) ist einer der Hauptinhaltsstoffe der Erythrozyten. Es ist ein Tetramer aus Globinketten, die jeweils ein Häm-Molekül gebunden haben. Insgesamt enthält ein Hämoglobinmolekül vier Häm-Moleküle. Unterschieden werden primär das HbA₁, HbA₂ und das HbF (A = adult; F = fetal). HbA₁ und HbA₂ finden sich bei Erwachsenen, wobei überwiegend das HbA₁ vorliegt. Das HbF wird in der Embryonal- und Fetalzeit und einige Monate postnatal gebildet (18). Hämoglobin verleiht dem Blut

seine charakteristische rote Farbe und ist für die Bindung von Sauerstoff im zirkulierenden Blut verantwortlich. Außerdem hat das Hämoglobin eine Pufferfunktion, da es ebenfalls einen Teil des CO₂ abtransportiert, das z. B. bei Azidose kumuliert. Hb-Wert und Erythrozytenmasse korrelieren im menschlichen Organismus miteinander (9).

Die Synthese des Globins, als Bestandteil des Hämoglobins, erfolgt in den Erythroblasten durch Proteinbiosynthese, die durch den noch vorhandenen Zellkern möglich ist (19). Zunächst wird im Zellkern durch die Transkription Messenger RNA (mRNA) aus der DNA synthetisiert, die anschließend den Zellkern verlässt. Dort gelangt die mRNA zu den Ribosomen, an denen der Prozess der Translation stattfindet: Dort wird die mRNA in die Aminosäuresequenzen des Proteins „übersetzt“. Im rauen endoplasmatischen Retikulum wird die Proteinbiosynthese schließlich durch Faltung in die korrekte dreidimensionale Struktur abgeschlossen und das Protein anschließend aus der Zelle transportiert.

Der Hämoglobin-Wert ist ein zentraler Parameter in der Diagnostik von Anämien, wo dieser erniedrigt sein kann. Bei einer Anämie liegt eine Verminderung des Hämoglobin-Werts vor, wobei Erythrozytenzahl oder Hämatokrit ebenfalls reduziert sein können. Der verminderte Hb-Wert wird aber in der Regel als erstes Indiz für die Anämiediagnostik angesehen (20). Klinisch manifestiert sich eine Anämie für den Patienten durch verminderte Leistungsfähigkeit, Abgeschlagenheit und Dyspnoe, die sich insbesondere bei Belastung zeigt (21). Die Referenzbereiche für das Hämoglobin werden bei Erwachsenen für beide Geschlechter getrennt angegeben, wie es auch bei den Erythrozyten der Fall ist. In der Literatur finden sich für Frauen Referenzbereiche für das Hb zwischen 11,5 und 16,0 g/dl, für Männer zwischen 13,5 und 17,8 g/dl (10). Bei Erwachsenen sind außerdem angepasste Werte für Raucher und für Personen, die in höheren Regionen als 3000 Meter leben, publiziert.

Erhöhte Hb-Werte findet man u. a. bei Polyglobulien. Außerdem können Hämoglobinopathien wie die Thalassämie oder die Sichelzellanämie zu Funktionsstörungen des Hämoglobins führen (22). Die Bestimmung des Hämoglobins erfolgt anhand von EDTA-Blut oder heparinisiertem Kapillarblut. Analysiert wird der Hb-Wert mit Hilfe der Hämoglobincyanid-Methode, die als diagnostische Referenzmethode fungiert (9).

1.2.5 Hämatokrit

Der Hämatokrit (Hkt) gibt den Anteil der festen Blutbestandteile am Gesamtblutvolumen in Prozent an. Da der Leukozytenanteil im Verhältnis zur Zahl der Blutzellen relativ gering ist (<5 %), entspricht der Hkt näherungsweise dem Anteil des Erythrozytenvolumens am Gesamtblutvolumen. Der Hkt ist damit ein indirektes Maß für die Erythrozytenmasse im menschlichen Körper und dient u. a. der Diagnostik von Anämien, Polyzythämien und Polyglobulien (9). Außerdem ist er für die Berechnung der Erythrozytenindizes notwendig.

Die Referenzmethode zur Bestimmung des Hämatokrits ist die Mikrohämatokritmethode. Dabei wird EDTA-Blut in Borsilatglas- oder Natronkalkkapillaren mit sehr hoher Zentrifugalkraft (10.000 – 15.000 x g) für fünf Minuten zentrifugiert, so dass sich die festen Bestandteile vom Blutplasma absetzen (23). Der Hkt kann außerdem über den Hämatologie-Analyser bestimmt werden. Hier erfolgt die Kalkulation mit Hilfe des Mittleren Zellvolumens (MCV) und der Erythrozytenzahl, dessen Produkt den Hkt ergibt. Als durchschnittlicher Wert wird ein Hkt von 42 % bei Frauen und 46 % bei Männern angegeben. Die üblichen Referenzbereiche liegen für erwachsene, kaukasische Frauen zwischen 36 und 48 %, für Männer zwischen 40 und 53 %. Außerdem gibt es spezifische Referenzbereiche für Farbige und Athleten (11). Die Autoren ermittelten diese Werte durch eine Metaanalyse von zwölf publizierten Studien erwachsener, kaukasischer Männer (N = 11667) und Frauen (N = 11244) zwischen 20 und 100 Lebensjahren.

Ein erniedrigter Hkt kann auf eine Anämie hinweisen, wie es z. B. bei chronischem Blutverlust der Fall ist. Weiterhin führt eine Vermehrung des Plasmavolumens, z. B. durch Transfusionen bei Operationen, zu einer Hkt-Minderung. Ebenfalls haben Schwangere in den ersten beiden Trimestern sowie Leistungssportler einen niedrigeren Hkt, bedingt durch eine Erhöhung des Plasmavolumens (24).

Erhöhte Hkt-Werte finden sich bei Polycythämia vera, bei Nierenfunktionsstörungen (Nierenarterienstenose, Hydronephrose, Nierenzysten, Adenokarzinom) und können auch als Posttransplantationserythrozytose auftreten, die eine mögliche Komplikation der Nierentransplantation ist (25). Weiterhin ist ein erhöhter Hkt mit Diabetes Mellitus Typ 2 assoziiert.

1.2.6 Erythrozytenindizes

Zu den Erythrozytenindizes zählen das mittlere korpuskuläre Hämoglobin (MCH), das mittlere Zellvolumen (MCV) und die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC). Sie können in der erweiterten Diagnostik von Anämien verwendet werden.

1.2.6.1 Mittleres korpuskuläres Hämoglobin (MCH)

Durch das MCH wird das mittlere korpuskuläre Hämoglobin (engl. mean corpuscular hemoglobin) angegeben. Es beschreibt den Hämoglobingehalt eines einzelnen Erythrozyten und wird aus dem Quotienten von Hämoglobin und der Erythrozytenzahl errechnet (26):

$$MCH \text{ (pg)} = \frac{\text{Hämoglobin (g/l)}}{\text{Anzahl der Erythrozyten} \left(\frac{10^{12}}{\text{l}}\right)}$$

Ist der MCH-Wert bei einer Anämie erniedrigt, spricht man von einer hypochromen Anämie. Diese Form der Anämie tritt in der Regel mikrozytär-hypochrom in Erscheinung und kann durch einen Eisen-, Kupfer- oder Vitamin-B6-Mangel bedingt sein. Trotz einer suffizienten Produktion von Erythrozyten können diese nicht ausreichend mit Eisen bzw. Hämoglobin „beladen“ werden. Dadurch entstehen volumenreduzierte Erythrozyten (= mikrozytär), die weniger Eisen bzw. Hämoglobin enthalten (= hypochrom).

Ein erhöhtes MCH zeigt sich in der Regel in Verbindung mit einer makrozytär-hyperchromen Anämie. Auslöser kann eine eingeschränkte Erythropoese z. B. durch Vitamin-B12- oder Folsäuremangel sein. Dabei liegt eine reduzierte Erythrozytenzahl vor. Die vorhandenen Erythrozyten werden vermehrt mit Eisen beladen, was zu großvolumigen roten Blutzellen (= makrozytär) und einem erhöhten Eisen- bzw. Hämoglobingehalt führt (= hyperchrom).

Normwertige MCH-Werte können im Rahmen einer normochromen Anämie bei Hämolyse, bei renaler Anämie, bei malignen Tumoren oder bei chronischen Erkrankungen vorliegen. Das MCH wird in der Einheit Pikogramm (pg) angegeben. Der Referenzbereich des MCHs liegt bei 28 bis 32 pg pro Zelle (10).

1.2.6.2 Mittleres Zellvolumen (MCV)

Das MCV bezeichnet das mittlere Erythrozytenvolumen (engl. mean cell volume). Es beschreibt das Volumen eines einzelnen Erythrozyten und wird aus dem Hämatokrit-Wert und der Erythrozytenzahl ermittelt. Mit folgender Formel kann das MCV berechnet werden (26):

$$MCV (fl) = \frac{\text{Hämatokrit (als Fraktion)}}{\text{Anzahl der Erythrozyten pro 1}}$$

Bei Eisenmangel kann eine mikrozytär-hypochrome Anämie mit vermindertem MCV-Wert (= mikrozytär) vorliegen. Zusätzlich zeigt sich ein verminderter MCH-Wert (= hypochrom), wie im Abschnitt zuvor bereits dargestellt wurde. MCH- und MCV-Wert sind häufig gemeinsam verändert. Weitere Beispiele für Erniedrigungen des MCV-Wertes sind Thalassämien oder sideroblastische Anämien.

Erhöhte MCV-Werte (makrozytär oder megalozytär) finden sich z. B. bei Vitamin-B12- und Folsäuremangel als auch bei myelodysplastischen Erkrankungen. Der MCV-Wert kann sich dabei ebenfalls analog zum MCH-Wert verhalten (21).

Normwertige MCV-Werte sind in Form einer normozytär-normochromen Anämie zum Beispiel bei Hämolyse, renaler Anämie, oder bei chronischen Erkrankungen möglich. Das MCV wird in der Einheit Femtoliter (fl) angegeben. Der Referenzbereich für erwachsene Männer und Frauen ist einheitlich angegeben und liegt zwischen 80 bis 96 fl (10).

1.2.6.3 Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC)

Die MCHC beschreibt die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration des Erythrozyten (engl. mean corpuscular hemoglobin concentration). Es ist ein Maß für die Hämoglobinkonzentration der zirkulierenden Erythrozyten im Blut. Zur Berechnung wird der Quotient aus Hämoglobinkonzentration und Hämatokrit herangezogen (26):

$$MCHC (g/dl) = \frac{\text{Hämoglobinkonzentration (g/dl)}}{\text{Hämatokrit (als Fraktion)}}$$

Da Hämoglobingehalt und Erythrozytenkonzentration eng miteinander korreliert sind, bleibt die MCHC auch bei Kranken meist im Normbereich (14). Der Referenzbereich liegt zwischen 33 und 36 g/dl für erwachsene Männer und Frauen (10).

Eine niedrige MCHC kann bei Eisen-, Kupfer- und Vitamin-B6-Mangel oder bei Hyperglykämie vorkommen. Eine erhöhte MCHC kann bei hochtitrigen Kälteagglutininen und hereditärer Sphärozytose vorliegen (27).

1.3 Klinisch-chemische Analyten in der hämatologischen Diagnostik

In dieser Arbeit sollen neben den Referenzgrenzen der Erythrozytenparameter ebenfalls altersabhängige Mediane vom 18. bis zum 100. Lebensjahr für Männer und Frauen berechnet werden. Diese können möglicherweise altersspezifische Unterschiede aufzeigen und Hinweise geben, ob für bestimmte Altersabschnitte spezifische Referenzgrenzen berechnet werden sollten. Die Messwerte bzw. Mediane der Erythrozytenparameter könnten mit weiteren Analyten aus der klinischen Chemie in Zusammenhang stehen, da diese die Hämatopoese direkt beeinflussen oder in Verbindung mit der Hämatopoese stehen. Darauf soll in den folgenden Abschnitten eingegangen werden.

1.3.1 Cobalamin, Folsäure und Pyridoxal

Cobalamin (Vitamin-B12), Folsäure (Vitamin-B9) und Pyridoxal (Vitamin-B6) sind an der Hämatopoese im roten Knochenmark beteiligt. Durch einen Mangel dieser Vitamine, kann es zu einer verminderten oder unphysiologischen Hämato- und Erythropoese im Organismus kommen (28).

Das Cobalamin ist ein wasserlösliches Vitamin, das mithilfe des im Magen synthetisierten Intrinsic Factors im terminalen Ileum resorbiert wird. Es fungiert als Kofaktor der Enzyme Methionin-Synthase und L-Methylmalonyl-CoA-Mutase und ist gemeinsam mit Folsäure für die Reifung erythropoetischer Zellen essenziell. Liegt ein Mangel einer dieser beiden Vitamine vor, kann dies zu einer megaloblastären Anämie (makrozytär-hyperchrome Anämie) führen. Vitamin-B12 ist in Nahrungsmitteln wie Leber, Fleisch, Fisch, Milch, Käse und Eiern enthalten. Bestimmte Populationen weisen ein erhöhtes Risiko für einen Vitamin-B12-Mangel auf: Dazu zählen u. a. vegetarisch und vegan lebende Menschen, Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen,

chronisch Leber- und Nierenerkrankte und Gastritis-Patienten. Außerdem können Erkrankungen des terminalen Ileums (M. Crohn), chronischer Alkoholabusus und Medikamente zu einer Mangelsituation führen (29). Die Prävalenz eines Vitamin-B12-Mangels steigt im Laufe des Lebens an: Etwa 4 % der 40- bis 59-Jährigen und etwa 6 % der über 70-Jährigen weisen reduzierte Vitamin-B12-Serumspiegel auf (30,31). Für Menschen über 60 Jahre zeigten Untersuchungen, dass 6 % einen Vitamin-B12-Mangel haben, bei über 90-Jährigen ist der Anteil bei 14,2 %, von denen insbesondere hospitalisierte Patienten betroffen sind (32,33). Krasinski et al. (34) stellten fest, dass bei etwa ein Drittel der über 70-Jährigen die Magensäureproduktion sowie der Intrinsic Factor reduziert sind und damit ein Vitamin-B12 Mangel begünstigt wird.

Das Vitamin Folsäure ist während des Zellwachstums und der Zellteilung von Bedeutung. Dort dient es als Cofaktor des Purin- und Pyrimidinstoffwechsels im Nukleolus der Zelle bei der DNA-Synthese. Von einem Folsäuremangel sind zuerst die Gewebe betroffen, die eine hohe Mitoserate besitzen, wie z. B. die blutbildenden Zellen des Knochenmarks. Folsäure ist in grünem Gemüse wie Spinat, Spargel, Bohnen und Avocados enthalten. Chronischer Alkoholabusus ist der dominierende Faktor für einen Folsäuremangel (35). Weiterhin können chronisch-entzündliche Darm- und Lebererkrankungen, Schwangerschaftskomplikationen sowie Demenz, Depression und kognitive Störungen als auch Medikamente (Methotrexat, Folatanaloga) zu einem Folsäuremangel führen. Wie vorher erwähnt, kann ein Mangel an Folsäure oder Vitamin-B12 zu einer megaloblastären Anämie (makrozytär-hyperchrome Anämie) führen. Joosten et al. (36) untersuchten die Serumkonzentration von 64 gesunden älteren Probanden (65 bis 88 Jahre) und 286 älteren hospitalisierten Patienten (61 bis 97 Jahre) und fanden dabei in 5 % und 19 % der Fälle erniedrigte Folsäurespiegel. Untersuchungen an 533 gesunden Menschen ab dem 65. Lebensjahr und älter ergaben ebenfalls reduzierte Folsäurewerte (37).

Pyridoxal (Vitamin-B6) kann in den ebenso biologisch aktiven Formen Pyridoxin und Pyridoxamin vorliegen. Wie beim Cobalamin und der Folsäure handelt es sich um ein wasserlösliches Vitamin. Vitamin-B6 wird über die Nahrung in pflanzlicher Form über Mais und Hefe und in tierischer Form über Leber und Geflügel aufgenommen und im Körper zu Pyridoxalphosphat (PALP) umgewandelt. PALP ist ein Cofaktor vieler Enzyme zentraler Stoffwechselwege wie dem Aminosäurestoffwechsel und dem Glykogenmetabolismus sowie der Häm-Synthese, wofür das PALP als Koenzym der δ -Aminolävulinatsynthase dient. Gründe für einen abnormalen Vitamin-B6-Metabolismus

können Fehl- und Mangelernährung, Alkoholismus, chronisch entzündliche Erkrankungen, gestörte Nierenfunktion etc. sein. Durch eine Mangelsituation von Vitamin-B6 kann eine mikrozytär-hypochrome Anämie resultieren (38). Weiterhin sind u. a. Gefäßerkrankungen sowie neurologische Störungen mit einem Vitamin-B6-Mangel assoziiert. Das Alter hat ebenfalls Einfluss auf den Pyridoxalhaushalt. In den Untersuchungen von Joosten et al. (36), die ebenfalls den Vitamin-B12- und den Folsäurespiegel erhoben, konnten ebenfalls reduzierte Pyridoxalwerte festgestellt werden. Bei gesunden älteren Probanden (65 bis 88 Jahre) lag ein Mangel in 9 % der Fälle vor, bei den älteren hospitalisierten Patienten (61 bis 97 Jahre) waren es über die Hälfte der Fälle (51 %).

Aufgrund von reduzierten Blutspiegeln der Vitamine, könnte im Altersverlauf eine eingeschränkte Hämatopoese vorliegen. Diese könnte verringerte Erythrozytenzahlen, Hb- und Hkt-Werte sowie erhöhte MCH- und MCV-Werte erklären und auf eine makrozytär-hyperchrome Anämie hindeuten.

1.3.2 C-reaktives Protein

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein Akute-Phase-Protein, das in der Leber synthetisiert wird und auf ein entzündliches Geschehen im Organismus hinweist. Erhöhte CRP-Werte findet man u. a. bei akuten bakteriellen Entzündungen (Pneumonie, Pyelonephritis) sowie bei malignen Erkrankungen wie Lymphomen und Karzinomen. Rheumatische Erkrankungen wie die rheumatoide Arthritis, Vaskulitis, Polymyalgia rheumatica sowie chronisch entzündliche Darmerkrankungen können ebenfalls zu erhöhten CRP-Werten führen (39,40).

Patienten mit chronisch-entzündlichen sowie malignen neoplastischen Erkrankungen können eine Entzündungsanämie infolge einer Eisenverteilungsstörung aufweisen, die als "anemia of chronic disease" (ACD) bezeichnet wird (26). Die ACD ist die zweithäufigste Form der Anämie. Die Entzündungsanämie kann sich als normochrom-normozytäre (häufigste Variante) oder als hypochrom-mikrozytäre Form manifestieren. In der Diagnostik der ACD kann das CRP u. a. neben den Parametern Ferritin und der Transferrin-Sättigung herangezogen werden, auf die in den nächsten Abschnitten näher eingegangen wird (41). In der „English Longitudinal Study of Aging“ wurden bei gesunden Männern und Frauen mit einem Durchschnittsalter von $65,4 \pm 9$ Jahren erhöhte CRP-Werte postuliert. Außerdem zeigten sich 5,2 % der Probanden

anämisch (42). Bei hospitalisierten Patienten muss zudem mit erhöhten CRP-Werten gerechnet werden, da entzündliche Erkrankungen vorliegen können. Als klassisches Krankheitsbild ist hier z. B. die Pneumonie zu nennen. Aus diesem Grund muss mit erhöhten CRP-Werten gerechnet werden, die möglicherweise in Zusammenhang mit den Messwerten stehen und ein Hinweis für Entzündungsanämien sein können.

1.3.3 Eisen und Ferritin

Das Eisen (Fe^{2+}) ist ein zentrales Spurenelement der Hämatopoese und Bestandteil der Häm-Synthese, die in den Mitochondrien und im Zytosol der Erythroblasten lokalisiert ist. Das Häm ist die prosthetische Gruppe des Hämoglobins und wird aus einem Porphyrinmolekül und einem zweiwertigen Eisen-Ion im Zentrum gebildet. Diese Reaktion wird durch das Enzym Ferrochelatase katalysiert (43). Das zweiwertige Eisen ist für die Bindung des Sauerstoffs im Blut verantwortlich.

Eisenmangel ist die häufigste Ursache einer Anämie. In 80 % der Fälle sind Frauen von einer Eisenmangelanämie betroffen (41). Ätiologisch ist Eisenmangel in den meisten Fällen auf Blutverluste durch Menorrhagien, Blutungen aus dem Gastrointestinaltrakt oder auf Operationen zurückzuführen. Die Eisenmangelanämie tritt in der Regel mikrozytär-hypochrom in Erscheinung. Für die Diagnostik einer Eisenmangelanämie wird das Eisen im Blut bestimmt, das vermindert sein kann. Aussagekräftiger ist jedoch die Bestimmung des Akute-Phase-Proteins Ferritin im Blut, das als Speicher für das Eisen fungiert und beim Menschen vorwiegend in Leber, Milz und Knochenmark vorkommt. Eine Verminderung des Ferritins ist nahezu beweisend für eine Eisenmangelanämie (44). Für die Diagnostik der ACD werden ebenfalls Eisen und Ferritin herangezogen. Dabei kann sich ebenfalls eine Verminderung des Eisens zeigen. Das Ferritin zeigt sich typischerweise erhöht.

Der Eisenstatus von Männern und Frauen ist in Studien untersucht worden. Milman et al. (45) verglichen den Serum Ferritin Wert von gesunden Männern und Frauen für die Altersgruppe 18 bis 45 Jahre mit der Altersgruppe 60 bis 93 Jahre. Dabei konnten die Autoren für die ältere Altersgruppe sowohl für Männer als auch für Frauen erhöhte Ferritin-Werte konstatieren. Die Gruppe der Männer steigerte sich dabei von 67 auf 75 $\mu\text{g/l}$, die der Frauen von 23 zu 60 $\mu\text{g/l}$. Weitere Studien untersuchten ebenfalls das Verhalten des Serum Ferritins im Alter und konnten ebenso eine Erhöhung des Ferritins feststellen. Bei den Männern zeigte es sich im Vergleich zu den Frauen weniger

ausgeprägt (46–48). Milman et al. (45) untersuchten ebenfalls den Serum-Eisen-Gehalt, der aber im Altersgruppen- sowie im Geschlechtervergleich keine signifikanten Unterschiede zeigte (Altersgruppe 18 bis 45 Jahre im Vergleich mit der Altersgruppe 60 bis 93 Jahre). Eine andere publizierte Studie zeigt einen Anstieg des Eisens bis ca. zum 60. Lebensjahr, danach fällt es leicht ab. Dabei zeigte sich im Geschlechtervergleich bei den Frauen ein geringer Anstieg bis zum 60. Lebensjahr, der von den Autoren durch Menstruation und Schwangerschaften erklärt wird (49).

Die postulierten erhöhten Serum Ferritin-Werte im Alter zeigen, dass möglicherweise mit Entzündungsanämien zu rechnen ist, die sich mikrozytär oder normozytär manifestieren können.

1.3.4 Transferrin, Transferrin-Sättigung und löslicher Transferrinrezeptor

Das Transferrin ist ein Glykoprotein, das hauptsächlich in der Leber und zum Teil in Gehirn, Nieren, Milz und Hoden synthetisiert wird. Dieses Protein ist für den Eisen-transport im Serum verantwortlich (50). Auf diese Weise kann das Eisen zu den Zellen transportiert werden, wo es über den Transferrinrezeptor aufgenommen werden kann (rezeptorvermittelte Endozytose). Diagnostisch kommt das Transferrin vor allem bei der Eisenmangelanämie zum Einsatz, bei der erhöhte Transferrin-Werte gemessen werden können, da dieses hepatisch vermehrt produziert wird. Gleichzeitig ist die Transferrin-Sättigung vermindert, da das Molekül mit weniger Eisen beladen ist. Zusätzlich kann der lösliche Transferrinrezeptor erhöht sein, der aus Bruchstücken des zellulären Transferrinrezeptors besteht und bei Eisenmangel vermehrt exprimiert wird. Milman et al. (45) untersuchten neben Eisen und Ferritin auch das Transferrin und die Transferrin-Sättigung von gesunden Probanden. Für das Transferrin konnten keine signifikanten alters- und geschlechtsspezifischen Unterschiede konstatiert werden. Für den Vergleich zogen die Autoren zwei Altersgruppen heran: eine jüngere Gruppe von 18 bis 59 Jahre und eine ältere Gruppe von 60 bis 93 Jahre. Für die Transferrin-Sättigung zeigte sich für die Frauen kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Altersgruppen. Bei den Männern postulieren die Autoren eine niedrigere Transferrin-Sättigung für die Altersgruppe 60 bis 93 Jahre (Transferrin-Sättigung = 33 %) als für die Altersgruppe 18 bis 59 Jahre (Transferrin-Sättigung = 37 %). Für die den löslichen Transferrinrezeptor finden sich bei einer Literaturrecherche über die Datenbank pubmed keine Publikationen zu altersspezifischen Werten. Aufgrund der verminderten

Transferrin-Sättigung im Alter muss mit einer möglichen Eisenmangelanämie gerechnet werden.

1.3.5 Retikulozyten

Die Retikulozyten sind Vorläuferzellen der Erythrozyten. Der Retikulozyt, der im Gegensatz zum Erythrozyten keine DNA sondern lediglich RNA-Reste enthält, wird aus dem Knochenmark in den Blutkreislauf freigesetzt, wo dieser innerhalb von 24-48 Stunden zum fertigen Erythrozyten heranreift (9). Die Retikulozyten sind ein Marker für die Synthesekraft der Erythropoese. Aus diesem Grund werden sie in der Diagnostik von Anämien herangezogen, im Besonderen bei normozytär-normochromen Anämien. Bei akuten Blutungen oder hämolytischen Anämien kann die Retikulozytenzahl erhöht sein, bei renalen oder aplastischen Anämien kann es zur Reduktion der Retikulozytenzahl kommen. Die Retikulozytenzahl ist ein guter Indikator der Knochenmarkaktivität und wird in der Regel pro 1000 Erythrozyten angegeben. Weitere Retikulozytenparameter sind das Retikulozyten-Hämoglobin und der Retikulozytenindex. Das Retikulozyten-Hämoglobin ist ein früher Marker einer Eisenmangelanämie und bezeichnet den Hämoglobingehalt der Retikulozyten (durchschnittliche Menge an Hämoglobin pro Retikulozyt). Bei einem funktionellen Eisenmangel und einer Eisenmangelanämie ist es vermindert (51,52). Der Retikulozytenindex beschreibt den Anteil der Retikulozyten an der Gesamtzahl der Erythrozyten und wird rechnerisch über den Hämatokrit-Wert ermittelt und ist ein Indikator der Erythropoese.

Eine Literaturrecherche über die Datenbank pubmed ergab auch für die Retikulozyten keine Ergebnisse zu altersspezifischen Verläufen. Zusammenhänge der Erythrozytenparameter mit den Retikulozyten lassen aber möglicherweise Rückschlüsse auf die Erythropoese zu.

1.4 Zielsetzung und Fragestellungen

In dieser Arbeit sollen auf Basis von laboreigenen Messwerten unter Anwendung des Reference Limit Estimators alters- und geschlechtsspezifische Referenzgrenzen und -intervalle von Erythrozytenparametern berechnet und mit etablierten Werten aus der Literatur verglichen werden. Folgende Fragestellungen sollen beantwortet werden:

- Sind Berechnungen der Referenzgrenzen für die Erythrozytenparameter mit dem RLE durchführbar?

- Zeigen sich für die Referenzgrenzen alters- und geschlechtsspezifische Unterschiede zu etablierten Werten aus der Literatur und sind diese statistisch relevant?
- Besteht ein Zusammenhang zwischen den altersspezifischen Messwerten bzw. Medianen der Erythrozytenparameter und den weiteren klinisch-chemischen Analyten der Hämatologie?

2 Methodik

2.1 Datenkollektiv

Das vorhandene Datenkollektiv setzt sich aus Messwerten zusammen, die von verschiedenen Laborstandorten in Schleswig-Holstein aus den Jahren 2015 bis 2016 stammen. Den größten Anteil an Messwerten liefert das Zentrallabor des UKSH. Insgesamt stehen für jeden Erythrozytenparameter jeweils ca. 1,8 Mio. Messwerte zur Verfügung. Bei den Messwerten handelt es sich um anonymisierte Daten, so dass ein Votum der Ethik-Kommission nicht benötigt wird.

Da an den Laborstandorten unterschiedliche Analysegeräte benutzt werden und diese unterschiedliche Einzugsgebiete von Patienten aufweisen, wodurch die Werte beeinflusst sein können, werden aus allen Laborstandorten die fünf größten ausgewählt. Zum einen soll dadurch die Homogenität der Daten erhöht werden, zum anderen soll ein möglichst großer Datensatz für die Berechnungen verwendet werden. An den fünf Standorten wurden die Erythrozytenparameter aus EDTA-Blut durch zwei Geräte des Herstellers Sysmex ermittelt: XT1800i und XE5000.

Der Sysmex XT1800i ist an vier der fünf ausgewählten Standorte vorhanden. Am fünften Standort sind die Messwerte mit zwei Geräten des Sysmex XE5000 analysiert worden. Die Analysen der beiden XE5000-Geräte werden durch ein System (Sysmex SIS) integriert, so dass die Messungen zu einer Datenbank konfluieren. Die Auswahl der Standorte und der Geräte ist schematisch in Abbildung 1 dargestellt.

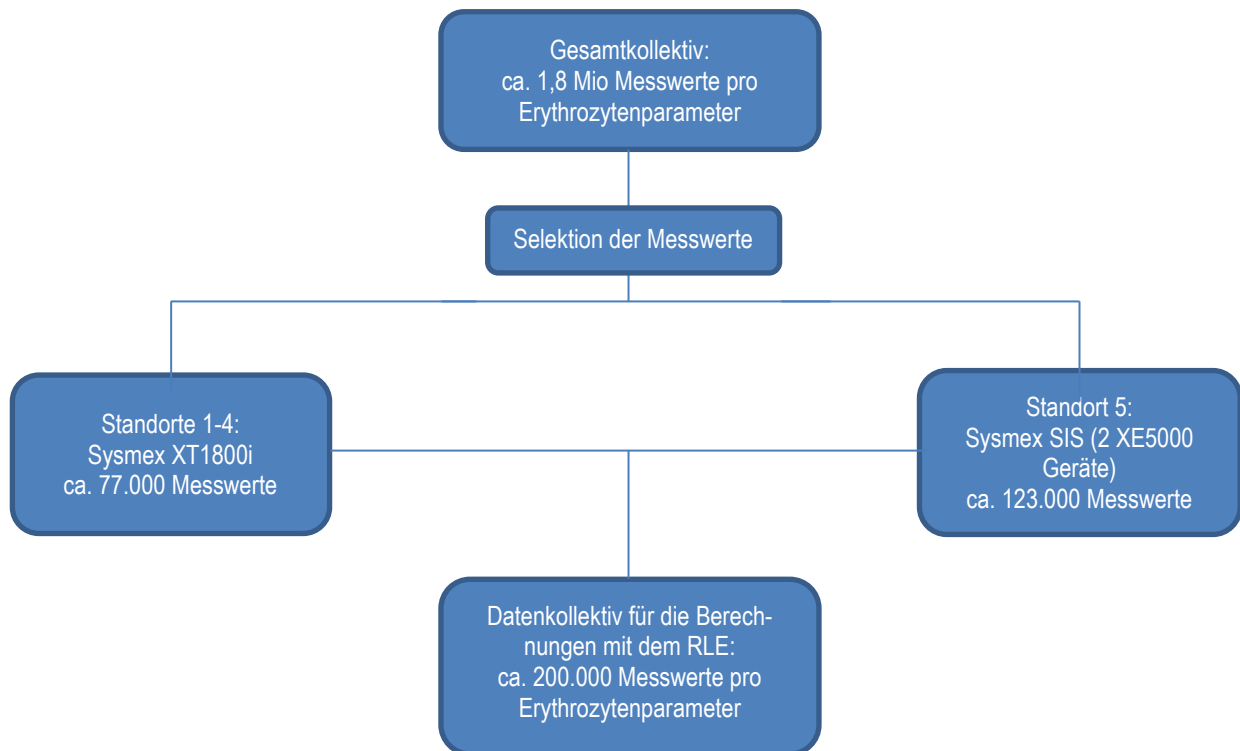


Abb. 1: Datenkollektiv, Selektion und Auswahl der Messwerte.

2.1.1 Selektion der Messwerte

Nachdem die Messwerte der größten Standorte aus dem Gesamtkollektiv ausgewählt wurden, erfolgt eine weitere Selektion, um optimale Kollektive für die Berechnung der Referenzgrenzen für die Erythrozytenparameter zu generieren. Dazu gibt es folgende Überlegungen:

In dem Gesamtkollektiv waren einzelne Patientinnen und Patienten mit Mehrfachmessungen, da es mehrere oder längere Krankenhausaufenthalte gegeben hat. Aus diesem Grund ist anzunehmen, dass pathologische Werte stärker gewichtet werden und somit eine Verzerrung der Daten vorliegt. Darum wird nur die erste Messung eines Patienten in die Analyse einbezogen.

Für die Berechnung der Referenzgrenzen sollte weiterhin ein Kollektiv herangezogen werden, das möglichst frei von pathologischen Werten ist, da diese die Lage der Referenzgrenzen beeinflussen können. Dies liegt im mathematischen Modell des RLE begründet, das annimmt, dass der Hauptteil der Daten aus nicht-pathologischen bzw. physiologischen Werten besteht (die genaue Beschreibung des RLE erfolgt in Kapitel 2.3). Deshalb werden Patientengruppen ausgeschlossen, bei denen vermehrt pathologische Werte zu erwarten sind. Dazu zählen Patientinnen und Patienten von

Intensivstationen. Ebenfalls sollen Patientinnen von gynäkologischen Kliniken von der Berechnung ausgeschlossen werden. Hier liegt die Überlegung zu Grunde, dass Patientinnen gynäkologische Abteilungen häufig aufgrund einer Schwangerschaft aufsuchen und schwangerschaftsbedingte Veränderungen des roten Blutbildes vorliegen können.

Durch die Selektion kann angenommen werden, dass der Anteil an pathologischen Werten an der Gesamtanzahl an Messwerten minimiert wird. Weiterhin ist anzunehmen, dass die Zahl der Werte aufgrund des großen Datenkollektivs auch nach der Selektion noch ausreichend groß ist, um aussagekräftige Berechnungen mit dem RLE durchführen zu können. Insgesamt stehen nach der Selektion für jeden Erythrozytenparameter ca. 200.000 Messwerte zur Verfügung (Sysmex XE5000 ca. 123.000; Sysmex XT1800i ca. 77.000 Messwerte) wie aus Abbildung 1 entnommen werden kann.

2.2 Gerätespezifikationen: Sysmex XE5000 und XT1800i

Die verwendeten Geräte sind vollautomatische Hämatologie-Analysegeräte der Firma Sysmex. Die Geräte arbeiten mit der Technik der Fluoreszenz-Durchflusszytometrie und der Mehrkanalmesstechnologie. Mit diesen können Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozytenindizes, Thrombozyten, Leukozyten und bei Bedarf auch das Leukozyten-Differentialblutbild analysiert werden. Für das rote Blutbild ist die Mehrkanalmesstechnologie relevant.

Erythrozyten und Thrombozyten werden gemeinsam in einer Messkammer mittels Impedanzmessung durch hydrodynamische Fokussierung analysiert, da man sie aufgrund ihrer physiologischen Größenunterschiede eindeutig voneinander abgrenzen kann (53). Bei der hydrodynamischen Fokussierung handelt es sich um einen umhüllenden Mantelstrom, der an den Zellen angelegt wird. Nachdem die Zellen mit einem Reagenz im Verhältnis 1:500 verdünnt worden sind, werden sie durch eine Kapillare gesaugt. Durch den angelegten Mantelstrom können die Zellen die Kapillare zentral und nacheinander passieren. Dabei erzeugen sie eine elektrische Widerstandsänderung, die als elektrischer Impuls gemessen wird. Mit dieser Technik können die Zellen gezählt werden. Die Größe des elektrisch ermittelten Impulses ist direkt proportional zur Zellgröße. Durch die Summe aller Einzelimpulse der roten Blutzellen kann auch auf den Hämatokrit-Wert geschlossen werden. Um die Erythrozytenindizes MCV, MCH und MCHC zu bestimmen, wird zusätzlich der Hämoglobin-Kanal benötigt, der mit dem

Sodium-Lauryl-Sulfat-Reagenz (SLS, Verdünnung: 1:500) durchgeführt wird. Das SLS führt zu einer Auflösung der Zellmembran der Blutzellen, so dass das enthaltene Hämoglobin freigesetzt wird. Durch die Freisetzung des Hbs entsteht der SLS-Hb-Komplex, der schließlich photometrisch analysiert werden kann.

Leukozyten werden mit der Durchflusszytometrie analysiert. Auch hier wird zunächst das Blut mit einem Reagenz verdünnt (1:50). Die Erythrozyten werden dabei lysiert. Im Gerät werden dann Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht der Zellen gemessen. Durch das Vorwärtsstreulicht misst man die Zellgröße, mit dem Seitwärtsstreulicht die innere Struktur und Granulation der Zellen. Mit der Fluoreszenz-Durchflusszytometrie werden neutrophile und eosinophile Granulozyten sowie Lymphozyten und Monozyten differenziert.

Um die Qualität der Messergebnisse zu gewährleisten, ist die Messgenauigkeit von Bedeutung. Die Gerätespezifikationen des Herstellers geben dafür folgende Messbereiche und Präzisionen an (53,54):

	Sysmex XE5000		Sysmex XT1800i	
	Messbereich	Genauigkeit	Messbereich	Genauigkeit
Erythrozyten	0,00 – 8,00 x 10 ⁶ /μL	± 0,03 x 10 ⁶ /μL oder ± 2 %	0,00 – 8,00 x 10 ⁶ /μL	± 0,03 x 10 ⁶ /μL oder ± 3 %
Hämoglobin	0,0 – 25,0 g/dL	± 0,2 g/dL oder ± 2 %	0,0 – 25,0 g/dL	± 0,2 g/dL oder ± 2 %
Hämatokrit	0,0 – 75,0 %	± 1,0 HCT % oder ± 2 %	0,0 – 60,0 %	± 1 % HCT oder ± 3 %

Tab. 1: Messbereich und Genauigkeit der Sysmexgeräte Sysmex XE5000 und Sysmex XT1800i.

2.2.1 Äquivalenzprüfung der Geräte

Aufgrund der Ungenauigkeiten in den Gerätespezifikationen der Hersteller, den zwei Gerätetypen an unterschiedlichen Standorten und den unterschiedlichen Analysezeiträumen muss eine mögliche Diskrepanz der Geräte ausgeschlossen werden. Dazu findet eine Äquivalenz-Überprüfung statt, die mit dem TOST (Two One-sided-T-Test) erfolgt. Dies ist ein zweiseitiger T-Test, der zu einer vorgegebenen Streuung die Äquivalenz zweier Stichproben prüft. Dafür werden zwei einseitige Nullhypothesen getestet. Wenn beide einseitigen Tests statistisch verworfen (engl. rejected) werden können, kann konstatiert werden, dass der beobachtete Effekt innerhalb der vorgegebenen

Streuung liegt und statistisch kleiner ausfällt. Die Geräte dürfen dann als gleichwertig angesehen werden (55). Ein Signifikanzniveau von $\alpha \leq .05$ wird als statistisch signifikant angesehen.

Die vorgegebene Streuung bzw. Äquivalenzgrenze soll 5 % Abweichung um den Mittelwert beider Gerätetypen des jeweiligen Parameters nicht überschreiten und kommt durch folgende Überlegungen zustande: Die Geräteabweichungen des Herstellers wurden in Tabelle 1 mit 2-3 % angegeben. Da jedoch mehrere Geräte an verschiedenen Standorten eingeschlossen wurden, ist anzunehmen, dass die Abweichung größer ausfällt. Aus diesem Grund sollen zusätzlich die erlaubten Toleranzen der „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen“ (Rili-BÄK) (56) berücksichtigt werden, die sich an Ringversuchen orientieren. Diese Richtlinie gibt eine zulässige relative Abweichung für Untersuchungen im Ringversuch an. Diese betragen für Erythrozyten 8 %, für das Hämoglobin 6 % und für den Hämatokrit 9 %. Für die Erythrozyten ergibt das arithmetische Mittel aus den Abweichungen des Geräteherstellers (= 2 %) und den Abweichungen im Ringversuch (= 8 %) einen Wert von 5 %, der als zulässige Streuung herangezogen wird. Für die Erythrozyten entsprechen 5 % einer absoluten Abweichung von $0,2 \times 10^{12}/l$. Die Abweichung muss für die Berechnungen mit dem TOST für jeden Parameter vorab festgelegt werden. Für das Hämoglobin und den Hämatokrit wurde die relative Abweichung ebenfalls auf 5 % festgelegt. Diese Werte entsprechen absolut für das Hämoglobin 0,6 g/dl und für den Hämatokrit 1,8 %. Diese Werte leiten sich erneut von den Ungenauigkeiten der Gerätehersteller und den zulässigen Abweichungen für Messungen im Ringversuch ab. Die Mittelwerte der beiden Gerätetypen für Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit finden sich in Tabelle 2 von Kapitel 3.1.

2.3 Reference Limit Estimator

Die Referenzgrenzen der einzelnen Analyten werden in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht mit dem „Reference Limit Estimator“ (RLE; Version 36) berechnet. Der RLE ist ein Programm, das anhand eines mathematischen Algorithmus Referenzgrenzen aus den Analysedaten klinischer Laboratorien abschätzen kann (57,58). Die Software wurde von der AG Richtwerte der DGKL entwickelt. Die vorliegende Arbeit am Institut für Klinische Chemie im UKSH soll ebenfalls zur Weiterentwicklung des RLE beitragen.

Hinter dem RLE, der auf dem Statistikprogramm R basiert (59), steht die mathematische Überlegung, dass die Verteilung pathologischer Laborwerte von der Verteilung physiologischer Werte abgegrenzt werden kann. Hierfür wird vorausgesetzt, dass der Hauptteil der Daten (mindestens 95 %) nicht-pathologisch ist. Weiterhin nimmt man an, dass sich die Verteilung der physiologischen Werte durch eine Normalverteilung annähern lässt.

Nach dem klassischen Prinzip der Referenzwertbestimmung nach den Kriterien der IFCC ergeben sich die Referenzgrenzen wie folgt: Die untere Referenzgrenze ist als das 2,5te Perzentil, die obere Referenzgrenze ist als das 97,5te Perzentil der Verteilung definiert, womit sich 95 % der Werte innerhalb dieses Intervalls befinden (vgl. Kapitel 1.1). Liegen zusätzlich pathologische Werte im Datenkollektiv vor, zeigen sich bei der Darstellung der Verteilung Abweichungen von der Normalverteilung, wie sie in Abbildung 2 zu erkennen sind. Hier am Beispiel der Erythrozyten für beide Geschlechter gemeinsam für die definierte Altersklasse 18 bis 100 Jahre.

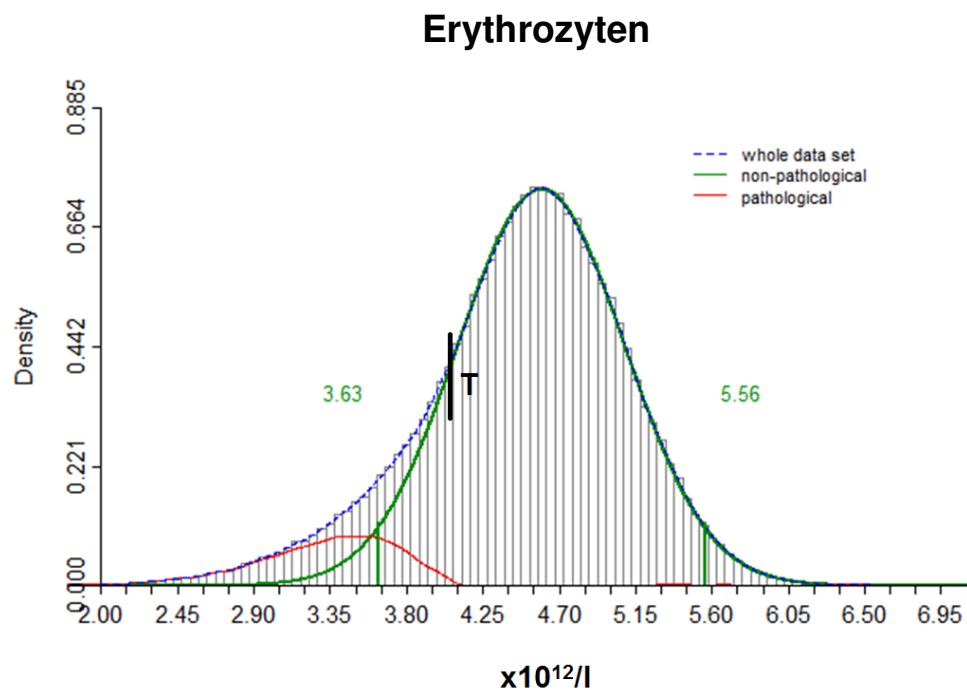


Abb. 2: Die Verteilung der Erythrozyten für Männer und Frauen vom 18. bis zum 100. Lebensjahr. T = truncation point. Untere Referenzgrenze = $3,63 \times 10^{12}/l$ (2,5te Perzentile); Obere Referenzgrenze = $5,56 \times 10^{12}/l$ (97,5te Perzentile).

Die Verteilung der Daten wird durch die blaue Linie markiert. Die Fläche unter der roten Linie zeigt dabei den Anteil an pathologischen Werten auf. Die Messwerte werden mittels Box-Cox-Transformation angenähert, um so die Verteilung der nicht-

pathologischen Werte zu schätzen. Die Box-Cox-Transformation ist eine Methode, um Verteilungsfunktionen normalverteilungsbasierten Verfahren zugänglich zu machen. Im nächsten Schritt werden die Daten trunkiert, das heißt, die Daten werden so getrennt, dass man einen Teil bekommt, in dem mutmaßlich ausschließlich nicht-pathologische Werte enthalten sind. In Abbildung 2 ist dieser Punkt als truncation point (T) dargestellt. Der Teil mit niedrigeren Werten enthält demzufolge eine Mischung aus pathologischen und nicht-pathologischen Daten. Wurde ein geeigneter truncation point gefunden, wird der Datensatz auf Werte oberhalb des Punktes beschränkt (trunkiert). Der Bereich der nicht-pathologischen Werte (unterhalb T) wird mit Hilfe der Maximum-Likelihood-Methode geschätzt. Diese wird durch eine statistische Messgröße festgelegt, die einerseits die Güte der Anpassung der geschätzten Verteilung für die nicht-pathologischen Werte im Trunkierungsbereich beurteilt und andererseits die Güte der Anpassung außerhalb des Trunkierungsbereichs misst. Als Maß der Anpassung wird dazu eine modifizierte Kolmogorov-Smirnov-Statistik gewählt (60). Die Schätzung der Normalverteilung (grün) nimmt der RLE vor, um anschließend über die Bestimmung des 2,5ten und des 97,5ten Perzentils die Referenzgrenzen festlegen zu können. Der RLE kann durch eine Verknüpfung mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel aufgerufen und ausgeführt werden und berechnet für eine definierte Altersklasse automatisch die oberen und unteren Referenzgrenzen für beide Geschlechter. Zudem werden die Verteilungen erstellt, wie exemplarisch am Beispiel der Erythrozyten in Abbildung 2 gezeigt.

2.3.1 Zulässige Differenz und Konfidenzintervall der Referenzgrenze

Nachdem mit dem RLE Referenzgrenzen berechnet wurden, kann eine zulässige Differenz (permissible difference; pD) für die Referenzgrenze berechnet werden. Dies geschieht über ein Excel-Tool, das ebenfalls von der Arbeitsgruppe „Richtwerte“ der DGKL entwickelt wurde. Aus der zulässigen Differenz kann ein Konfidenzintervall (KI) abgeleitet werden. Nach persönlicher Korrespondenz mit dem Mitentwickler der pD, Prof. Dr. med. Rainer Haeckel, kann damit geprüft werden, ob sich statistisch relevante Unterschiede zu bisher genutzten Referenzgrenzen ergeben.

Die Berechnung der zulässigen Differenz wird jeweils für die untere und die obere Referenzgrenze/ Referenzlimit durchgeführt, die durch den RLE berechnet werden. Der Wert der zulässigen Differenz gibt dann die obere und untere Grenze für das

Konfidenzintervall an (Referenzgrenze $\pm pD$). Um die zulässige Differenz zu berechnen, wird das Produkt aus der zulässigen analytischen Standardabweichung (p_{SA} = permissible analytical standard deviation) und dem Faktor 1,28 berechnet: $pD \leq \pm p_{SA} \times 1,28$ (61). Der Faktor 1,28 wird aus einem Konfidenz- bzw. Äquivalenzintervall von 90 % der Normalverteilung abgeleitet und orientiert sich an den IFCC Empfehlungen, die dieses Vertrauensintervall für Referenzgrenzen vorschlagen (5).

Die p_{SA} basiert auf der biologischen Variation und wird anhand der zulässigen Messunsicherheit bzw. Impräzision (p_{CVA} = permissible analytical coefficient of variation) ermittelt, die vom Tool automatisch mitberechnet wird, wenn die Referenzgrenzen eingegeben werden. Die genaue Berechnung der p_{CVA} wird von Haeckel et al. beschrieben (62).

Schließlich kann das Konfidenzintervall durch die Berechnung einer zulässigen Differenz für eine Referenzgrenze ermittelt werden. Durch dieses kann dann ein Vergleich mit bisher etablierten Referenzgrenzen erfolgen, indem überprüft wird, ob sich diese innerhalb des Intervalls befinden. Ist dies nicht der Fall, sind Anpassungen für die bisher etablierte Referenzgrenze angeraten.

2.4 Korrelationsberechnung

In dieser Arbeit werden die altersabhängigen Mediane der Erythrozytenparameter vom jeweils 18. bis zum 100. Lebensjahr für beide Geschlechter berechnet. Diese können altersabhängige Veränderungen aufweisen. Die Messwerte stehen möglicherweise in Zusammenhang mit weiteren Analyten aus der klinischen Chemie, worauf in Kapitel 1.3 eingegangen wurde. Um lineare Zusammenhänge aufzuzeigen, sollen Korrelationen zwischen den Erythrozytenparametern und den weiteren Analyten aus der klinischen Chemie berechnet werden. Für die Korrelationsberechnungen stehen je nach Analyten bis zu 100.000 Werte zur Verfügung.

Für die Berechnung der altersbasierten Zusammenhänge werden Spearman-Korrelationen (Spearman's Rho) verwendet, die den Zusammenhang zwischen zwei Variablen abbilden. Der Spearman-Korrelationskoeffizient wird auch als Rangkorrelationskoeffizient bezeichnet, weil dieser im Unterschied zum klassischen Pearson-Korrelationskoeffizient (Produkt-Moment-Korrelation) nicht zwischen den Werten selbst, sondern zwischen den Rängen berechnet wird (63). Dadurch ist die Spearman-Rangkorrelation im Vergleich zur Produkt-Moment-Korrelation nach Pearson robuster

gegenüber Ausreißern. Ein weiterer Grund für die Verwendung der Spearman-Rangkorrelation ist, dass für die Berechnungen des RLE ausschließlich Mediane und keine Mittelwerte für die Erythrozytenparameter berechnet werden. Für eine Berechnung mit der Produkt-Moment-Korrelation nach Pearson wären Mittelwerte notwendig, die einem Intervallskalenniveau und einer Normalverteilung entsprechen müssten. Die dabei berechneten Rangkorrelationskoeffizienten können Werte von -1 (maximale negative Korrelation) bis +1 (maximale positive Korrelation) annehmen. Beträgt er 0, liegt keine lineare Korrelation vor.

Um die Rangkorrelationskoeffizienten zu berechnen, kommt das Statistikprogramm SPSS 24.0 zur Anwendung. Das Signifikanzniveau wird bei $\alpha \leq .05$ als statistisch signifikant angesehen.

3 Ergebnisse

3.1 Prüfung der Geräte auf Äquivalenz

Vor den Berechnungen der Referenzgrenzen werden die Messwerte der beiden Gerätetypen Sysmex SIS und XT1800i auf Äquivalenz überprüft, um einen homogenen Datensatz zu gewährleisten. Dafür werden zunächst die einzelnen Geräte (Sysmex SIS und XT1800i) untereinander auf Äquivalenz überprüft, um die Homogenität der Messwerte innerhalb eines Gerätetyps sicherzustellen. Die Einzeltestungen geschehen am Beispiel der Erythrozyten. Dazu wurde die relative Abweichung auf einen Wert von 5 % festgelegt, was einer absoluten Abweichung von $0,2 \times 10^{12}/l$ um den Mittelwert beider Geräte ($4,14 \times 10^{12}/l$, siehe Tabelle 2) entspricht wie in Kapitel 2.2.1 erläutert. Für alle Geräte konnte am Beispiel der Erythrozyten die Äquivalenz bestätigt werden, da im TOST die Nullhypothese verworfen werden konnte. Die Berechnungen mit den dazugehörigen Werten finden sich im Anhang dieser Arbeit.

Parameter	Gerät	Median	Mittelwert	MW	SD +/-
Erythrozyten ($\times 10^{12}/l$)	SIS	4,17	4,09	4,14	0,76
	XT1800i	4,23	4,18		0,75
Hämoglobin (g/dl)	SIS	12,30	12,13	12,17	2,31
	XT1800i	12,40	12,20		2,28
Hämatokrit (%)	SIS	36,00	35,35	35,96	6,31
	XT1800i	37,10	36,64		6,13

Tab. 2: Mediane, Mittelwerte und die dazugehörigen Standardabweichungen der Parameter Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit für die Gerätegruppen Sysmex SIS (SIS) und XT1800i. MW = Mittelwert von SIS und XT1800i.

Im nächsten Schritt werden die vier Geräte des Sysmex XT1800i zusammengefasst und gegen das Sysmex SIS auf Äquivalenz getestet. Dies geschieht für die Erythrozyten, für das Hämoglobin und für den Hämatokrit. Die Ergebnisse sind in Form von Violinplots in Abbildung 3 dargestellt. Violinplots ähneln in ihrer Darstellung den Boxplots, zeigen aber neben Median, Mittelwert und Interquartilsbereich zusätzlich die vollständige Verteilung der Daten an, womit die Violinplots noch mehr Informationen enthalten. Dabei kommen besonders multimodale Verteilungen zum Ausdruck (64). Für die Erythrozyten wurde die relative Abweichung von 5 % beibehalten. Für das Hämoglobin und den Hämatokrit wurden die relativen Abweichungen ebenfalls auf 5 % festgelegt (Herleitungen siehe Kapitel 2.2.1). Auf die Äquivalenztestung der

Erythrozytenindizes soll verzichtet werden, da sich diese aus den drei überprüften Parametern Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit ermitteln lassen.

Die Violin-Plots in Abbildung 3 zeigen den Median (blauer Punkt), den Mittelwert und den Interquartil-Bereich (Box; unten erstes, oben drittes Quartil) der Werte an. Die Zarge der gedachten Violine gibt die Verteilung der Werte wieder.

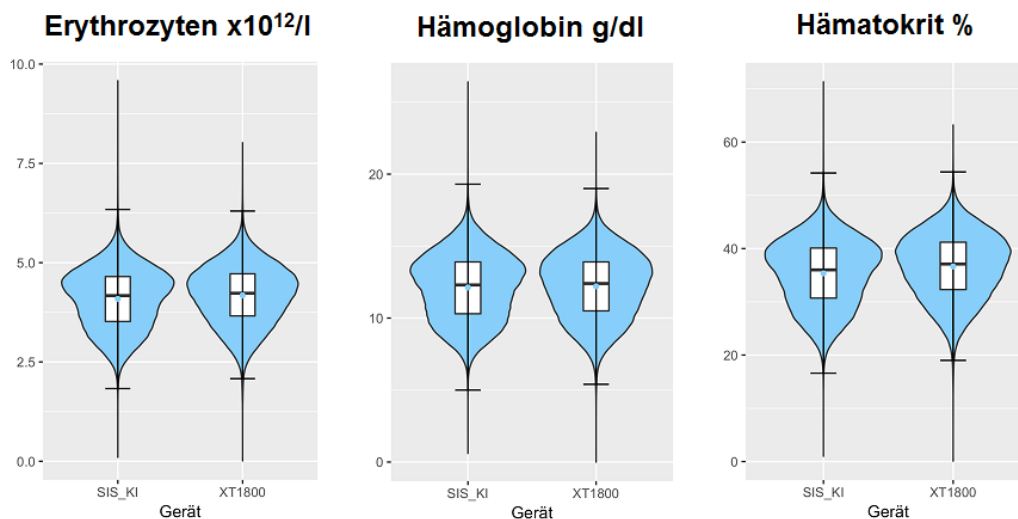


Abb. 3: Violinplots der Parameter Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit für die Geräte Sysmex SIS und XT1800i.

Für die Erythrozyten, das Hämoglobin und den Hämatokrit konnte die Äquivalenz beider Gerätegruppen nachgewiesen werden, da die Nullhypothesen durch den TOST abgelehnt (engl. rejected) werden konnte (detaillierte Ergebnisse finden sich im Anhang dieser Arbeit). Die Violinplots zeigen, dass sich die Werteverteilungen der beiden Gerätegruppen sehr ähneln. Dies zeigt sich in den Medianen und Mittelwerten. Die genauen Zahlen sind in Tabelle 2 dargestellt. Weiterhin kann man auch anhand der Verteilungen erkennen, dass beide Gerätegruppen offensichtlich zu vergleichbaren Messergebnissen führen.

Die Berechnungen mit dem TOST haben die Äquivalenz beider Gerätegruppen nachweisen können. Die Messwerte beider Gerätegruppen können folglich zusammengefasst werden, so dass für jeden Erythrozytenparameter ca. 200.000 Werte zu Verfügung stehen. Für die Berechnungen mit dem RLE kann es von Vorteil sein, mit großen Datenmengen zu rechnen, weil die pathologischen von den physiologischen Werten besser abgegrenzt werden können. Die Grundannahme ist, dass aus großen Wertemengen verlässliche Referenzgrenzen berechnet werden können.

3.2 Ergebnisse der Referenzgrenzberechnungen

Die Beschreibung der Ergebnisse erfolgt nach einem einheitlichen Schema: Zunächst werden die Mediane der Messwerte der einzelnen Erythrozytenparameter in Abhängigkeit vom Alter dargestellt. In der vorliegenden Arbeit wurde sich hierbei auf das Erwachsenenalter vom 18. bis zum 100. Lebensjahr konzentriert. Darauf folgt die Darstellung der altersabhängigen Mediane für Männer und Frauen getrennt und die Prüfung auf Zusammenhänge mit weiteren Parametern aus der klinischen Chemie.

Die Mediane und Referenzgrenzen für die einzelnen Altersgruppen werden in grafischer Form dargestellt. Zunächst geschieht dies für die Altersgruppe von 18-100 Jahre, die als Referenzgruppe dienen soll und alle Mediane in Abhängigkeit vom Alter enthält. Im Anschluss werden vier unterschiedliche Altersgruppen bzw. -stufen gebildet (18 bis 40, 41 bis 60, 61 bis 80 und 81 bis 100 Jahre). Tabellen liefern anschließend die präzisen Werte zu den unterschiedlichen Altersgruppen. Die Einteilung der Altersgruppen in diese vier verschiedenen Stufen hat folgende Gründe: Die vier Altersstufen wurden mit Intervallen von 19 bis 22 Jahren gewählt. Dies soll zum einen der Übersichtlichkeit dienen, um die Anzahl der Intervalle zu begrenzen, zum anderen werden durch die etwas größer gewählten Intervalle mehr Daten in die Berechnung einbezogen, was zu stabileren Referenzgrenzen führt.

Im Anschluss erfolgt ein Vergleich zu den bisher genutzten Referenzgrenzen und einer damit verbundenen Einordnung. Hierfür erfolgt der Vergleich mit den Angaben aus der Literatur nach Thomas und Herklotz (9,65). Letztere werden aktuell im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH) verwendet

3.3 Erythrozyten

3.3.1 Altersabhängigkeit der Erythrozyten

Die Erythrozyten sollen im Folgenden dargestellt werden. Der RLE berechnet für jedes Lebensjahr Mediane und stellt diese als Kurve in altersabhängigen Verlaufsgrafiken dar. Diese Darstellung wird auch für alle weiteren Erythrozytenparameter genutzt.

Die Mediane der Erythrozyten zeigen für die Referenzgruppe von 18 bis 100 Jahre einen kontinuierlichen Abfall der Werte. Einen sehr dezenten Knick in der Kurve beobachtet man lediglich zum Ende der 5. Lebensdekade. Insgesamt unterscheiden sich die Mediane vom 18. Lebensjahr (ca. $4,8 \times 10^{12}/l$) bis zum 100. Lebensjahr (ca. $4,1$

$\times 10^{12}/l$) um ca. 14 %. Am Ende der Kurve sind große Schwankungen durch statistische Artefakte zu sehen.

Erythrozyten

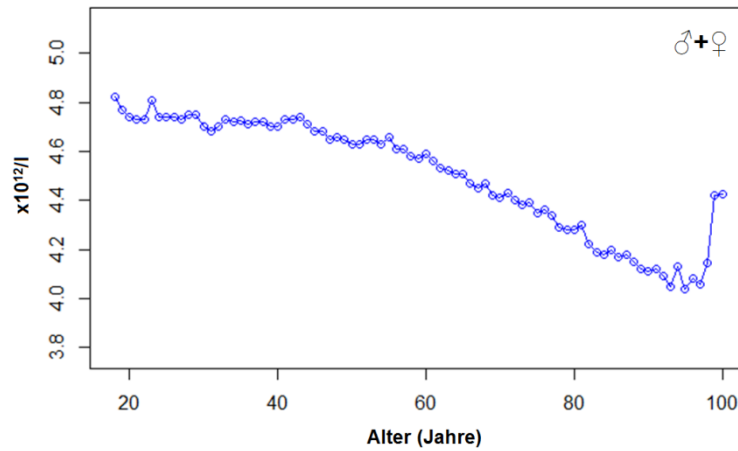


Abb. 4: Altersabhängigkeit der Erythrozyten (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer und Frauen.

Betrachtet man nun in Abbildung 5 die altersabhängigen Mediane für beide Geschlechter getrennt, sind Differenzen zu erkennen. Die Charakteristik des Verlaufs bleibt aber bei beiden Geschlechtern erhalten: Der Abfall der Mediane zeigt die gleiche Kontinuität. Beim männlichen Geschlecht scheinen die Werte aber stärker zu sinken, als man es bei den Frauen beobachten kann. Allerdings liegen die Mediane um das 20. Lebensjahr auch höher als bei den Frauen. Bei denen fällt zunächst ein nahezu gleichbleibendes Niveau bis ca. zum 60. Lebensjahr auf. Dann zeigt sich ein dezenter Knick im Verlauf. Im Anschluss beobachtet man dann einen kontinuierlichen Abfall der Mediane. Am Ende beider Kurven sind große Varianzen der Mediane durch statistisches Rauschen zu verzeichnen.

Erythrozyten

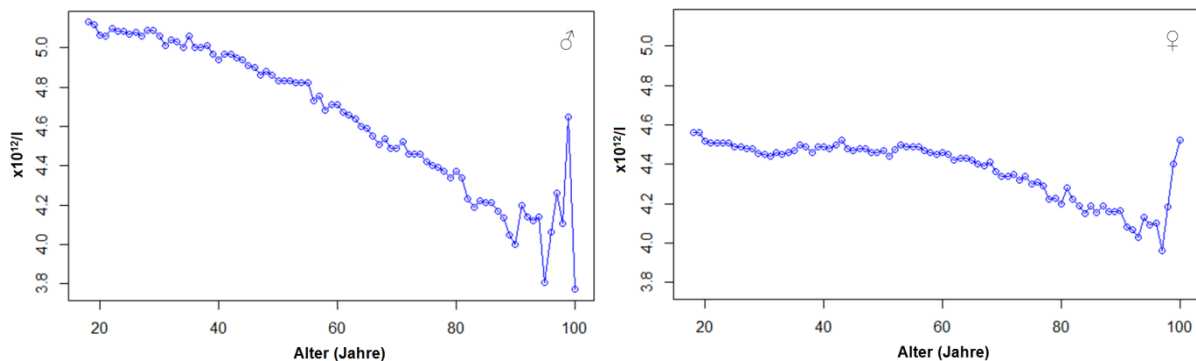


Abb. 5: Altersabhängigkeit der Erythrozyten (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).

Die Altersabhängigkeit der Erythrozytenmediane von Abbildung 4 wurde auf Zusammenhänge mit weiteren Parametern der klinischen Chemie überprüft, die auch in der Anämiediagnostik Anwendung finden. Dazu wurden folgende Parameter herangezogen, da diese mit der Blutbildung in Zusammenhang stehen: Folsäure, CRP, Vitamin-B6, Vitamin-B12, Eisen, Ferritin, Transferrin, Transferrin-Sättigung, löslicher Transferrinrezeptor und Retikulozyten. Um auf Zusammenhänge zu prüfen, wurden Spearman-Rangkorrelationen berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt. Die in der Tabelle gezeigten Korrelationskoeffizienten sind statistisch höchst signifikant, aber kaum relevant. Die absoluten Koeffizienten sind so klein, dass es keine Korrelationen gibt. Die Retikulozyten (%) zeigen mit einem absoluten Koeffizienten von $r = -0,313$ den höchsten Wert von allen getesteten Parametern. Nur sehr niedrige absolute Korrelationskoeffizienten ergeben sich für das Transferrin und Ferritin. Für alle übrigen Parameter aus der klinischen Chemie, die für die Korrelationsberechnungen herangezogen wurden, ergeben sich keine signifikanten Korrelationen, die Berechnungen dazu finden sich im Anhang dieser Arbeit.

Parameter	r	p	n
Transferrin (Serum)	0,110	0,001	953
Transferrin (Heparinblut)	0,102	0,000	7545
CRP (Heparinblut)	-0,046	0,000	100333
Ferritin (Heparinblut)	-0,058	0,000	27135
Ferritin (Serum)	-0,078	0,000	1984
Retikulozyten (Hb)	-0,134	0,000	10355
Retikulozyten (%)	-0,313	0,000	596

Tab. 3: Korrelationen der Erythrozyten-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie. r = Korrelationskoeffizient, p = p -Wert (Signifikanzniveau), n = Anzahl der Datensätze.

3.3.2 Referenzgrenzen der Erythrozyten

Nun sollen die berechneten Referenzgrenzen genauer betrachtet werden. Dies erfolgt in dieser Arbeit nach einem einheitlichen Schema für alle Analyten:

1. Zunächst werden die Mediane der Messwerte in den Altersgruppen mit den dazugehörigen Referenzbereichen in einem Diagramm grafisch dargestellt.
2. Anschließend folgt eine tabellarische Darstellung der exakten Werte.
3. Zum Schluss werden die berechneten Konfidenzintervalle betrachtet und die Referenzgrenzen mit Literaturwerten verglichen.

Die Referenzbereiche sind in Abbildung 6 grafisch dargestellt. Sie zeigt die berechneten Mediane für die Geschlechter und die Altersgruppen, die mit unterschiedlichen Symbolen abgebildet sind (siehe Legende). Zusätzlich sind die dazugehörigen Referenzintervalle (-bereiche) eingezeichnet, die durch die untere und obere Referenzgrenze beschränkt werden.

Für die einzelnen Altersgruppen bestätigen sich die im vorherigen Kapitel dargestellten altersabhängigen Mediane. Bei den Männern ist zwischen den Altersgruppen ein kontinuierlicher Abfall der Gruppenmediane zu erkennen (ausgenommen ist die Referenzgruppe 18-100 Jahre). Bei den Frauen erkennt man bei den Alterskohorten 18-40 und 41-60 Jahre ebenfalls einen Abfall der Mediane. Dies konnte man genauso zuvor in der grafischen Übersicht über die gesamte Altersspanne erkennen, dort zeigte sich im Verlauf ein dezenter Knick.

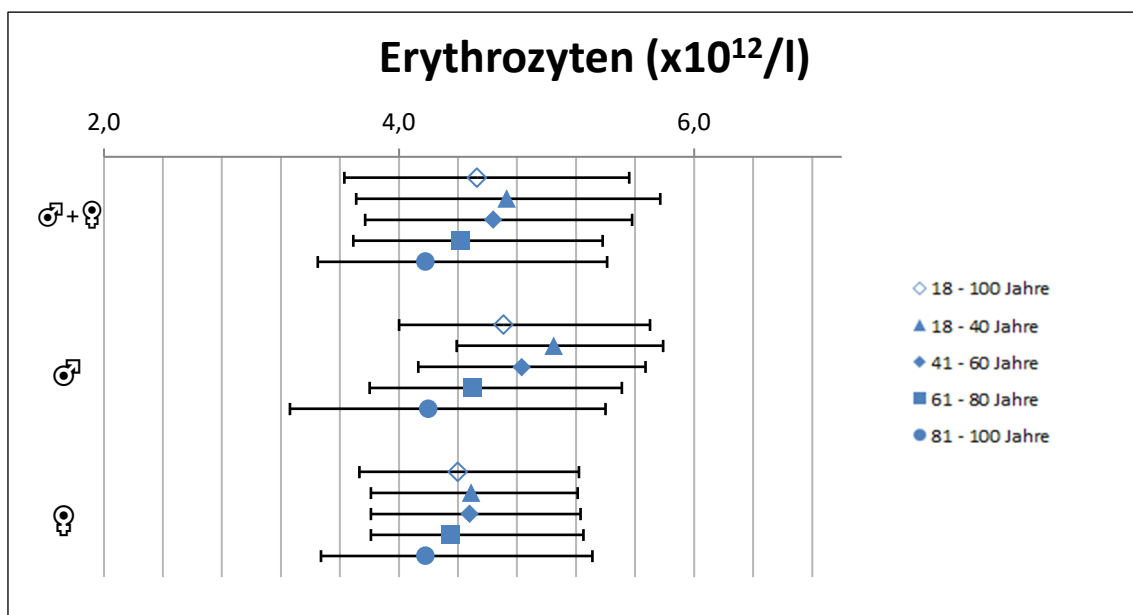


Abb. 6: Mediane der Altersgruppen für die Erythrozyten mit Referenzbereichen. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Aus der Abbildung 6 ist zu erkennen, dass die Breite der Referenzbereiche für Männer und Frauen (♂+♀) für fast alle Altersgruppen sehr ähnlich ausfällt. Ausnahme ist die die Altersgruppe 81-100 Jahre – hier zeigt sich der Referenzbereich breiter. Für die Altersstufen 61-80 und 81-100 Jahre erkennt man außerdem, dass die Referenzbereiche im Diagramm etwas nach rechts verschoben sind (zu höheren Werten) und die Mediane der Messwerte nicht mehr mittig liegen.

Betrachtet man das männliche und das weibliche Geschlecht individuell, zeigen sich die Breiten der Referenzbereiche für die ersten Altersgruppen ebenfalls sehr homogen. Die Mediane liegen wieder mittig in den Referenzbereichen. In der Altersgruppe 81-100 Jahre erkennt man aber erneut deutlich breitere Referenzbereiche und eine Rechtsverschiebung des Referenzbereiches. Diese Verschiebung ist auch wieder in der Altersstufe 61-80 Jahre zu finden.

Weitere Details gibt Tabelle 4, in der präzise Zahlen zu finden sind. Die berechneten Referenzgrenzen sind in allen folgenden Tabellen in dieser Arbeit hellblau markiert. Das untere Referenzlimit für Männer und Frauen ($\♂+\♀$) liegt in der untersten Altersstufe bei $3,71 \times 10^{12}/l$ und fällt auf einen Wert von $3,45 \times 10^{12}/l$ in der letzten Altersstufe. Das obere Referenzlimit sinkt wiederum von $5,77 \times 10^{12}/l$ auf $5,41 \times 10^{12}/l$.

Betrachtet man die Referenzgrenzen für beide Geschlechter getrennt, zeigt sich für die Männer ein ähnliches Bild: Hier fällt der Wert für die untere Referenzgrenze von $4,39 \times 10^{12}/l$ auf $3,26 \times 10^{12}/l$. Das obere Referenzlimit nimmt von $5,79 \times 10^{12}/l$ auf $5,40 \times 10^{12}/l$ ab. Anders sieht es beim weiblichen Geschlecht aus: Die untere Referenzgrenze liegt bei $3,81 \times 10^{12}/l$ und fällt erst bei der höchsten Altersgruppe (81-100 Jahre) auf $3,47 \times 10^{12}/l$. Für die oberen Referenzgrenzen ist sogar ein dezenter Anstieg von $5,21 \times 10^{12}/l$ auf $5,31 \times 10^{12}/l$ zu konstatieren.

Weiterhin erkennt man, dass die Anzahl der Werte in den höheren Altersklassen abnimmt: So sind für Männer in der höchsten Altersklasse nur noch 7804 Werte mit in die Berechnung eingegangen. Aber auch bei den Frauen sind es in dieser Altersstufe deutlich weniger Messwerte im Vergleich zu den anderen Altersstufen.

Alter (Jahre)	♂/♀	N	Median*	RL↓(RLE)*	RL↑(RLE)*
18 - 100	♂+♀	191870	4,53	3,63	5,56
18 - 40	♂+♀	38109	4,73	3,71	5,77
41 - 60	♂+♀	60882	4,64	3,77	5,58
61 - 80	♂+♀	72964	4,42	3,69	5,38
81 - 100	♂+♀	19915	4,18	3,45	5,41
18 - 100	♂	96390	4,71	4,00	5,70
18 - 40	♂	17967	5,05	4,39	5,79
41 - 60	♂	32317	4,83	4,13	5,67
61 - 80	♂	38302	4,50	3,80	5,51
81 - 100	♂	7804	4,20	3,26	5,40
18 - 100	♀	95181	4,40	3,73	5,22
18 - 40	♀	20022	4,49	3,81	5,21
41 - 60	♀	28453	4,48	3,81	5,23
61 - 80	♀	34603	4,35	3,81	5,25
81 - 100	♀	12103	4,18	3,47	5,31

Tab. 4: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen der Erythrozyten. *Angaben $\times 10^{12}/l$. RL↓/RL↑ (RLE) = unteres/oberes Referenzlimit des RLE. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Im weiteren Vorgehen lassen sich mit dem Programm zur zulässigen Differenz der DGKL Äquivalenzgrenzen für das untere als auch das obere Referenzlimit ermitteln. Durch diese Berechnung wird ein Intervall generiert, was zur Beurteilung der bisher genutzten Referenzgrenzen aus der Literatur und der Referenzgrenzen aus dem UKSH benutzt wird.

Zunächst erfolgt der Vergleich mit den Referenzgrenzenangaben aus dem Laborstandardwerk Thomas (9). In der Tabelle 5 sind nun für die in Tabelle 4 dargestellten Referenzgrenzen die dazu gehörigen Konfidenzintervalle (RI) hellblau hinterlegt. Diese leiten sich aus der permissible difference ab und wurden mit dem Excel Tool kalkuliert (siehe Kapitel 2.3.1). In den Spalten RL↓ und RL↑ findet man die Angaben aus der Literatur. Da für die verschiedenen Erythrozytenparameter nicht immer alters- und geschlechtsspezifische Angaben gemacht werden, sind diese Werte in der Tabelle nicht so detailliert aufgelistet. Für die Erythrozyten gibt Thomas (9) ausschließlich geschlechtsspezifische Werte an, es werden aber keine differenzierten Angaben zum Alter gemacht. Befinden sich diese Werte nicht in dem berechneten Konfidenzintervall (RI), das für den RLE bestimmt wurde, wäre eine Anpassung angeraten. Ist dies der Fall, sind die jeweiligen Werte rot markiert.

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓*	RL↑*
18 - 100	♂	3,84 - 4,16	5,49 - 5,91	4,4	5,9
18 - 40	♂	4,24 - 4,54	5,60 - 5,98	4,4	5,9
41 - 60	♂	3,98 - 4,28	5,47 - 5,87	4,4	5,9
61 - 80	♂	3,65 - 3,95	5,30 - 5,72	4,4	5,9
81 - 100	♂	3,10 - 3,42	5,16 - 5,64	4,4	5,9
18 - 100	♀	3,59 - 3,87	5,03 - 5,41	4,1	5,4
18 - 40	♀	3,67 - 3,95	5,03 - 5,39	4,1	5,4
41 - 60	♀	3,67 - 3,95	5,05 - 5,41	4,1	5,4
61 - 80	♀	3,67 - 3,95	5,07 - 5,43	4,1	5,4
81 - 100	♀	3,32 - 3,62	5,10 - 5,52	4,1	5,4

Tab. 5: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle der Erythrozyten (Angaben $\times 10^{12}/l$). KI↓/KI↑ (RLE) = unteres/oberes Konfidenzintervall des RLE; *Literaturwert nach Thomas (9), RL↓/RL↑ = unteres/oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Referenzintervalls des RLE.

Beim männlichen Geschlecht ist zu erkennen, dass bis auf die Altersgruppe 18-40 Jahre die unteren Referenzgrenzen aller Altersgruppen außerhalb der Konfidenzintervalle liegen. Die oberen Grenzen aus der Literatur liegen ebenfalls oberhalb des Intervalls. Für das weibliche Geschlecht wären Anpassungen fast nur für das untere Referenzlimit angeraten, das obere Referenzlimit liegt bis auf die Altersgruppe 18-40 Jahre innerhalb des Intervalls. Insgesamt fallen die Referenzgrenzen des RLE niedriger aus, als die in der Literatur postulierten Werte. Teilweise liegen die etablierten Werte aus der Literatur aber nur sehr knapp außerhalb der berechneten Konfidenzintervalle.

Um einen Vergleich zu den im UKSH genutzten Referenzgrenzen herstellen zu können, wurden weitere Referenzgrenzen berechnet, die sich an den Altersgruppen des UKSH orientieren. Am UKSH wird das Erwachsenenalter in drei verschiedene Altersstufen untergliedert: 18-50, 50-65 und >65 Jahre und jeweils nach Männern und Frauen getrennt. Diese Referenzgrenzen wurden anhand mehrerer Studien ermittelt, indem Mittelwerte für die oberen und unteren Referenzgrenzen für spezifische Altersabschnitte berechnet wurden (65).

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓**	RL↑**
18-50	♂	4,15 - 4,46	5,57 - 5,95	4,30	5,75
50-65	♂	3,87 - 4,18	5,41 - 5,82	4,30	5,75
>65	♂	3,52 - 3,83	5,30 - 5,74	4,00	5,65
18-50	♀	3,66 - 3,94	5,03 - 5,39	3,90	5,15
50-65	♀	3,65 - 3,93	5,06 - 5,42	3,90	5,20
>65	♀	3,49 - 3,78	5,05 - 5,44	3,85	5,20

Tab. 6: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle der Erythrozyten (Angaben $\times 10^{12/l}$). KI↓/KI↑ (RLE) = unteres/ oberes Konfidenzintervall des RLE; **Literaturwert nach Herklotz et al. (65), RL↓/RL↑ = unteres/ oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Konfidenzintervalls des RLE.

Tabelle 6 ist zu entnehmen, dass die oberen Referenzgrenzen für das männliche als auch das weibliche Geschlecht innerhalb der Konfidenzintervalle liegen. Anpassungen wären bei den Männern für die Altersgruppen 50-65 und >65 Jahre angeraten, für die Frauen wäre dies lediglich für die Altersgruppe >65 Jahre der Fall. Auch hier liegen die berechneten Werte des RLE unter den publizierten Werten nach Herklotz et al. (65).

3.4 Hämoglobin

3.4.1 Altersabhängigkeit des Hämoglobins

In den folgenden Grafiken (Abbildungen 7 und 8) sind wieder die altersabhängigen Mediane für jedes Lebensjahr berechnet worden und im Verlauf abgebildet. Die Hämoglobin-Mediane in Abbildung 7 zeigen eine ähnliche Tendenz, wie man es auch bei den Erythrozyten erkennen konnte: Über die Altersspanne von 18 bis 100 Jahre fallen die Werte mit zunehmendem Alter ab. Im Vergleich zu den Erythrozyten beobachtet man aber in der Altersspanne von 20 bis ca. 55 Jahre, dass die Mediane relativ konstant bleiben (ca. 14,0 g/dl) und erst nach dem 55. Lebensjahr kontinuierlich sinken. Insgesamt unterscheiden sich die Mediane vom 18. Lebensjahr (ca. 14,0 g/dl) bis zum 99. Lebensjahr (ca. 12,0 g/dl) um ca. 16 % bei der Betrachtung beider Geschlechter zusammen (Abbildung 7).

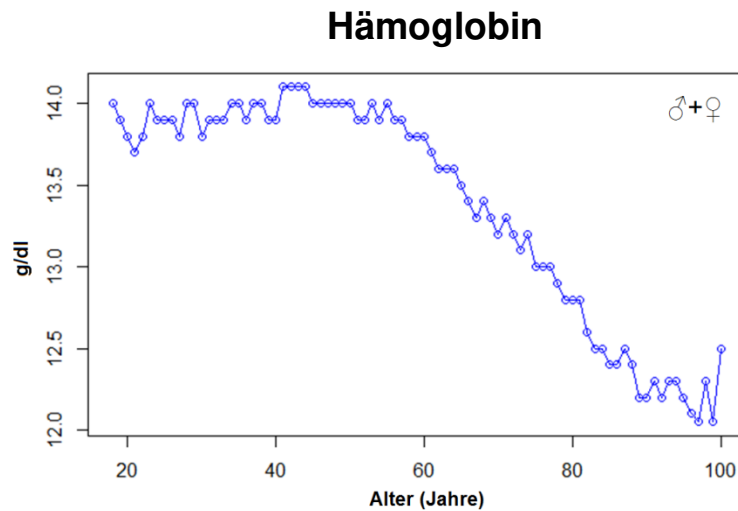


Abb. 7: Altersabhängigkeit des Hämoglobins (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer und Frauen.

Betrachtet man nun die Altersabhängigkeit der Messwerte beider Geschlechter individuell in Abbildung 8, sind Differenzen ersichtlich. Beim männlichen Geschlecht liegt von Beginn an ein nahezu kontinuierlicher Abfall der Mediane vor. Bei den Frauen fällt zunächst ein dezenter Anstieg der Mediane bis ca. zum 55. Lebensjahr auf. Im Anschluss beobachtet man aber den gleichen kontinuierlichen Abfall der Mediane. Der RLE wählt bei der Geschlechterdifferenzierung hier eine unterschiedliche Skalierung (Y-Achse), die bei den Männern größer ausfällt (ca. von 11 bis 15,5 g/dl). Bei den Frauen hingegen beginnen die Werte der Y-Achse bei ca. 11,5 g/dl und enden bei einem Wert von ca. 13,5 g/dl. Aufgrund der unterschiedlichen Skalierung, sind darum die zunächst erscheinenden Unterschiede beider Geschlechter geringer, als zunächst angenommen.

Auffällig ist außerdem, dass die Werte der jüngeren Männer (ca. 20. bis 40. Lebensjahr) mit ca. 15 g/dl höher liegen als bei den Frauen, die hingegen bei ca. 13 g/dl angesiedelt sind. Etwa ab dem 60. Lebensjahr zeigen sich dann für beide Geschlechter vergleichbare Werte.

Am Ende der Kurven sind große Varianzen der Mediane durch statistisches Rauschen zu verzeichnen.

Hämoglobin

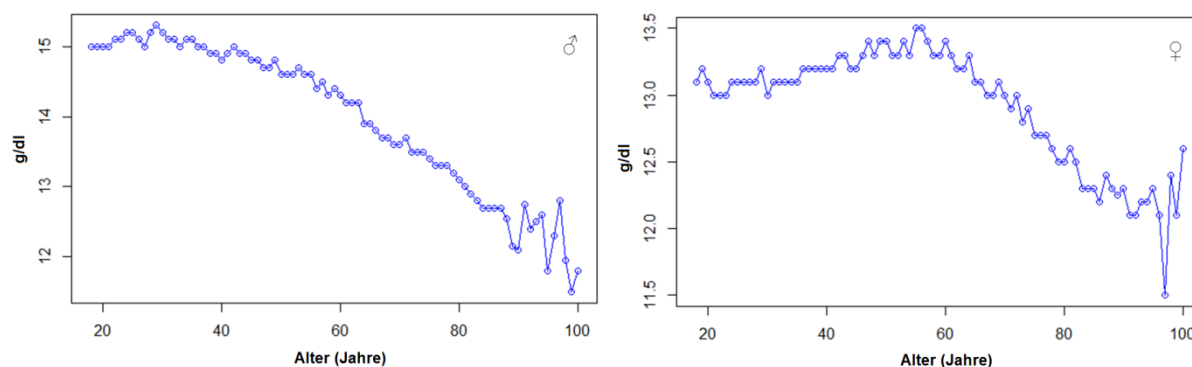


Abb. 8: Altersabhängigkeit des Hämoglobins (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).

Für die Mediane der Messwerte in Abhängigkeit vom Alter wurden auch hier wieder Spearman-Rangkorrelationen mit weiteren Parametern aus der klinischen Chemie berechnet, die tabellarisch in Tabelle 7 aufgeführt sind. Wie auch bei den Erythrozyten, sind die absoluten Korrelationskoeffizienten so gering, dass daraus keine Korrelation zu erkennen ist. Die signifikanten Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt.

Alle anderen Korrelationen mit den weiteren verwendeten Parametern aus der klinischen Chemie finden sich im Anhang dieser Arbeit.

Parameter	r	p	n
Transferrin Sättigung (Heparinblut)	0,077	0,000	6128
Retikulozyten (Hb)	0,036	0,000	10355
Ferritin (Heparinblut)	0,033	0,000	27135
Eisen (Heparinblut)	0,020	0,004	20197
Folsäure (Heparinblut)	-0,029	0,027	5689
CRP (Heparinblut)	-0,037	0,000	100333

Tab. 7: Korrelationen der Hämoglobin-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie. r = Korrelationskoeffizient, p = p-Wert (Signifikanzniveau), n = Anzahl der Datensätze.

3.4.2 Referenzgrenzen des Hämoglobins

Nun sollen die berechneten Referenzgrenzen genauer betrachtet werden. Diese werden für die einzelnen Altersgruppen aufgeführt und anschließend mit den aktuellen Referenzgrenzen aus dem Labor verglichen.

Die einzelnen Mediane der dargestellten Altersgruppen in Abbildung 9 zeigen eine ähnliche Charakteristik zu den bisher dargestellten Abbildungen 7 und 8. Bei den Männern ist zwischen den Alterskohorten ein kontinuierlicher Abfall der Mediane zu

erkennen. Bei den Frauen erkennt man bei den Alterskohorten 18-40 und 41-60 Jahre wiederum einen dezenten Anstieg der Mediane, danach sinken die Werte. Dies konnte man ebenfalls zuvor in der grafischen Übersicht über die gesamte Alterspanne erkennen.

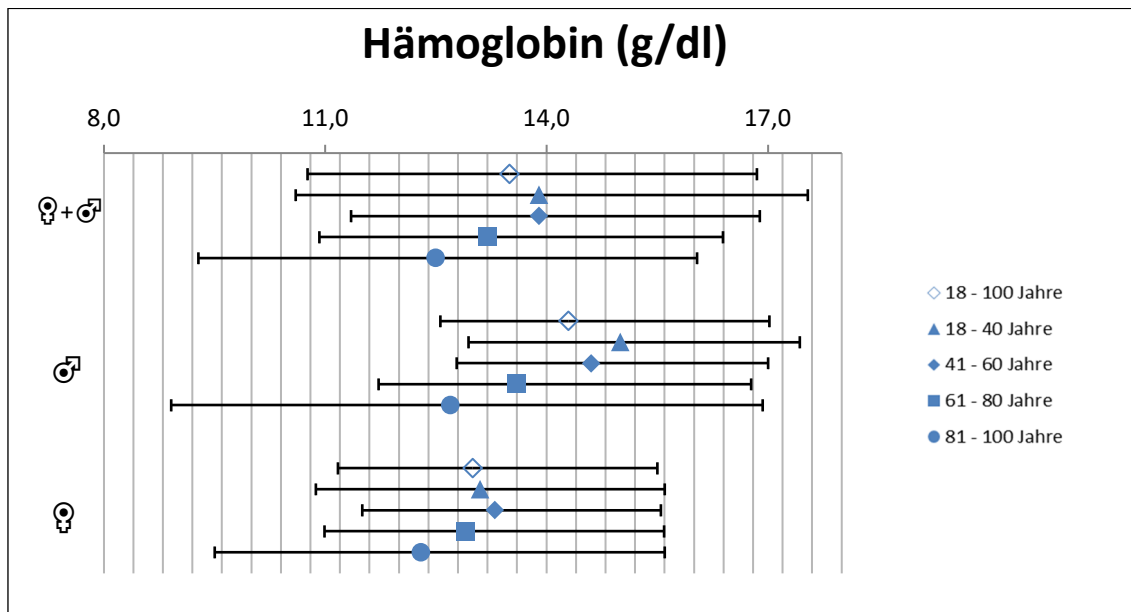


Abb. 9: Mediane der Altersgruppen für das Hämoglobin mit Referenzbereichen. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Aus Abbildung 9 ist zu erkennen, dass die Referenzintervalle für Männer und Frauen zusammen etwas ausgedehnter ausfallen, als es in den beiden geschlechter-getrennten Gruppen zu sehen ist.

Für das männliche Geschlecht liegen die Mediane als auch die Referenzgrenzen in den ersten beiden Altersstufen (18-40 und 41-60 Jahre) sehr nah beieinander. In den beiden letzten Altersstufen zeigt sich ein reduzierter Median für das Hämoglobin und die Referenzgrenzen zeigen nun eine größere Spannweite. Ähnlich findet man es bei der Gruppe der Frauen vor. Die ersten vier Altersstufen lassen vergleichbare Mediane und Referenzgrenzen erkennen. Dennoch erkennt man in der Altersstufe 61-80 Jahre eine Vergrößerung des Referenzintervalls. Die letzte Altersstufe zeigt schließlich einen reduzierten Hb-Wert und ebenfalls ein größeres Referenzintervall, das deutlich breiter ausfällt.

Insgesamt zeigen sich die Referenzbereiche für die beide Geschlechter etwas nach rechts verschoben (in Relation zum Median der Altersgruppe). Weitere Hinweise gibt nun Tabelle 8, in der präzise Zahlen zu finden sind. Wie oben im Verlauf bereits

gezeigt, unterscheiden sich die Mediane für die Gesamtgruppe (Männer und Frauen zusammen) vom 18. (ca. 14,0 g/dl) bis zum 99. Lebensjahr (ca. 12,0 g/dl) um 16 %. Das untere Referenzlimit für die Männer fällt von 12,94 g/dl auf 8,91 g/dl in der letzten Altersstufe. Das obere Referenzlimit verändert sich deutlich geringer von 17,43 g/dl auf 16,93 g/dl. Für die Frauen ist dieser abnehmende Trend für das untere Referenzlimit ebenfalls zu erkennen (von 10,87 g/dl auf 9,50 g/dl). Das obere Referenzlimit bleibt aber im Gegensatz zu den Männern konstant über alle Altersgruppen (zwischen 15,55 und 15,60 g/dl). Die Anzahl an Werten ist mit denen der Erythrozyten nahezu identisch: In der Altersgruppe 81-100 liegen deutlich weniger Werte vor, besonders bei den Männern.

Alter (Jahre)	♂/♀	N	Median*	RL↓(RLE)*	RL↑(RLE)*
18 - 100	♂+♀	191867	13,50	10,76	16,85
18 - 40	♂+♀	38109	13,90	10,60	17,54
41 - 60	♂+♀	60881	13,90	11,35	16,89
61 - 80	♂+♀	72962	13,20	10,92	16,39
81 - 100	♂+♀	19915	12,50	9,28	16,04
18 - 100	♂	96389	14,30	12,56	17,02
18 - 40	♂	17967	15,00	12,94	17,43
41 - 60	♂	32317	14,60	12,78	17,00
61 - 80	♂	38301	13,60	11,72	16,77
81 - 100	♂	7804	12,70	8,91	16,93
18 - 100	♀	95179	13,00	11,17	15,50
18 - 40	♀	20022	13,10	10,87	15,60
41 - 60	♀	28452	13,30	11,50	15,55
61 - 80	♀	34602	12,90	10,99	15,59
81 - 100	♀	12103	12,30	9,50	15,60

Tab. 8: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen des Hämoglobins. *Angaben in g/dl. RL↓/RL↑(RLE) = unteres/ oberes Referenzlimit des RLE. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Tabelle 9 zeigt außerdem die Differenzen zu den Referenzgrenzen aus der Literatur (9). Wie auch bei den Erythrozyten werden Referenzgrenzen in der Literatur getrennt für beide Geschlechter angegeben.

Alter (Jahre)	♀/♂	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓*	RL↑*
18 - 100	♂	12,10 - 13,02	16,44 - 17,60	13,5	17,8
18 - 40	♂	12,48 - 13,40	16,84 - 18,02	13,5	17,8
41 - 60	♂	12,33 - 13,23	16,44 - 17,56	13,5	17,8
61 - 80	♂	11,25 - 12,19	16,15 - 17,39	13,5	17,8
81 - 100	♂	8,42 - 9,40	16,10 - 17,76	13,5	17,8
18 - 100	♀	10,75 - 11,59	14,95 - 16,05	11,5	16,0
18 - 40	♀	10,44 - 11,30	15,02 - 16,18	11,5	16,0
41 - 60	♀	11,08 - 11,92	15,02 - 16,08	11,5	16,0
61 - 80	♀	10,56 - 11,42	15,02 - 16,16	11,5	16,0
81 - 100	♀	9,05 - 9,95	14,93 - 16,27	11,5	16,0

Tab. 9: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des Hämoglobins (Angaben in g/dl). RI ↓ / RI ↑ (RLE) = unteres/ oberes Konfidenzintervall des RLE; *Literaturwert nach Thomas (9), RL ↓ / RL ↑ = unteres/ oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Konfidenzintervalls des RLE.

Der Tabelle ist zu entnehmen, dass nach den Berechnungen des RLE fast alle unteren Referenzgrenzen nach Thomas (9) außerhalb der Konfidenzintervalle liegen. Dabei fällt auf, dass die Intervalle des RLE in allen Fällen niedriger angegeben werden, also nach unten korrigiert werden müssten. Für die oberen Referenzgrenzen wären Anpassungen für das männliche Geschlecht für die publizierten Werte bis auf eine Ausnahme (Altersgruppe 18-40 Jahre) angeraten. Hingegen liegen die Literaturwerte für das weibliche Geschlecht allesamt innerhalb der Intervalle.

Im Folgenden wurden nun erneut die Referenzgrenzen- bzw. Intervalle für die Altersgruppen berechnet, die aktuell am UKSH verwendet werden (65). Auch hier zeigt sich, dass das untere Referenzlimit nach unten angepasst werden müsste. Dies trifft hier auf fast alle unteren Referenzgrenzen zu. Bis auf die Altersgruppe 18-50 Jahre bei den Männern müssten alle unteren Referenzgrenzen nach unten auf geringere Werte angepasst werden. Damit zeigen sich die Referenzspannen (zwischen unterer und oberer Referenzgrenze) durch den RLE breiter als im UKSH angegeben.

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓**	RL↑**
18-50	♂	12,63 - 13,51	16,62 - 17,72	13,50	17,20
50-65	♂	12,12 - 13,02	16,36 - 17,50	13,50	17,20
>65	♂	10,86 - 11,80	16,06 - 17,34	12,50	17,20
18-50	♀	10,92 - 11,74	14,85 - 15,89	12,00	15,40
50-65	♀	11,11 - 11,92	15,03 - 16,09	12,00	15,60
>65	♀	9,53 - 10,45	15,19 - 16,51	11,80	15,80

Tab. 10: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des Hämoglobins (Angaben in g/dl). KI ↓ / KI ↑ (RLE) = unteres/ oberes Konfidenzintervall des RLE; **Literaturwert nach Herklotz et al. (65), RL ↓ / RL ↑ = unteres/ oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Konfidenzintervalls des RLE.

3.5 Hämatokrit

3.5.1 Altersabhängigkeit des Hämatokrits

Der Hämatokrit zeigt über die gesamte Altersspanne von 18 bis 100 Jahre zunächst ein Plateau, das sich auf einem Wert von ca. 40 % bewegt (Abbildung 10). Dieses Plateau liegt ungefähr bis zum Alter von 55 Jahren vor. Im Anschluss erkennt man einen kontinuierlichen Abfall bis ca. zum 90. Lebensjahr. Von dem Ausgangswert von ca. 40 % fällt der Hämatokrit zum Ende der Kurve auf einen Wert von ca. 35 %. Das entspricht einem Abfall von ca. 13 % gegenüber dem Anfangswert. Am Ende zeigt sich ein statistisches Rauschen.

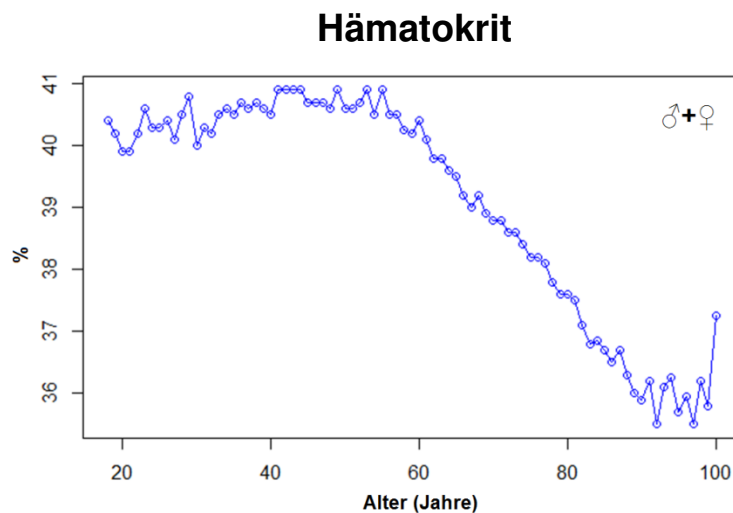


Abb. 10: Altersabhängigkeit des Hämatokrits (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer und Frauen.

In der folgenden unteren Abbildung 11 sind erneut die Mediane der Messerte von Männern und Frauen individuell dargestellt. Bei den Männern starten die Mediane bei einem Hämatokrit-Wert von ca. 43 % und sinken im folgenden Verlauf bis zum 99. Lebensjahr um ca. 32 %. Der Graph beschreibt aber weniger eine kontinuierliche bzw. lineare Abnahme, sondern beschreibt mehr einen bogenförmigen Verlauf.

Hämatokrit

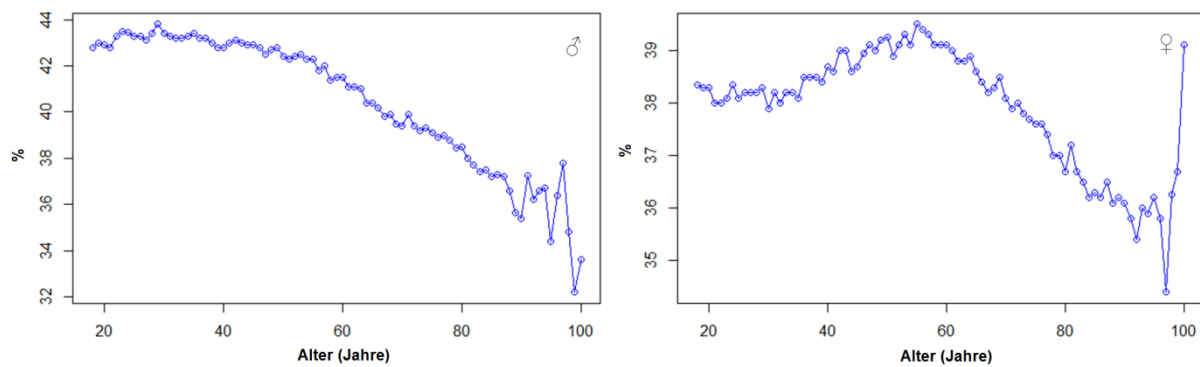


Abb. 11: Altersabhängigkeit des Hämatokrits (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).

Beim weiblichen Geschlecht startet die Kurve bei einem Hämatokrit von ca. 38 % um das 20. Lebensjahr. Darauf folgt eine Zunahme der Werte bis ca. zum 55. Lebensjahr (Hkt = ~39 %). Dann kommt es anschließend zur linearen Reduzierung der Werte auf ca. 35 %. Dies entspricht einem prozentualen Abfall von 8 %. Zum Ende zeigen sich erneut Varianzen. Bei genauerer Betrachtung von Abbildung 11 ist wieder zu erkennen, dass der RLE bei der Geschlechterdifferenzierung eine unterschiedliche Skalierung (Y-Achse) wählt, die bei den Männern größer ausfällt (ca. von 32 bis 44 %). Bei den Frauen hingegen beginnen die Werte der Y-Achse bei ca. 34 % und enden bei einem Wert von ca. 40 %.

Für die altersabhängigen Mediane von Abbildung 10 ergeben sich auch für den Hämatokrit signifikante Rangkorrelationen. Die Zusammenhänge sind aber erneut kaum vorhanden. Der höchste absolute Koeffizient errechnet sich für den löslichen Transferinrezeptor ($r = -0,165$).

Weitere Korrelationskoeffizienten, die keine signifikanten Zusammenhänge ergaben, sind im Anhang dieser Arbeit zu finden.

Parameter	r	p	n
Retikulozyten (%)	0,122	0,008	471
Transferrin (Heparinblut)	0,081	0,000	7545
Transferrin Sättigung (Heparinblut)	-0,036	0,004	6128
Ferritin (Heparinblut)	-0,059	0,000	27135
Vitamin-B12 (Heparinblut)	-0,059	0,001	3395
CRP (Heparinblut)	-0,087	0,000	100332
lösl. Transferrin-Rez. (Serum)	-0,165	0,006	280

Tab. 11: Korrelationen der Hämatokrit-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie. r = Korrelationskoeffizient, p = p -Wert (Signifikanzniveau), n = Anzahl der Datensätze.

3.5.2 Referenzgrenzen des Hämatokrits

In Abbildung 12 werden die altersabhängigen Mediane und Referenzbereiche für die verschiedenen Altersabschnitte des Hämatokrits aufgezeigt. Hier ist die gleiche Charakteristik der Mediane von den vorherigen Graphen (Abbildungen 10 und 11) wiederzufinden: Bei den Männern fällt der kontinuierliche Abfall der Mediane auf. Außerdem zeigt sich hier, in Bezug auf den Median der Altersgruppe, eine leichte Rechtsverschiebung der Referenzbereiche.

Bei den Frauen findet man zunächst die Erhöhung der Mediane in der Altersspanne 41-60 Jahre und die darauf folgende Abnahme. Bei den Referenzgrenzen fällt auf, dass bei den Männern als auch bei den Frauen die Referenzgrenzen in den niedrigeren Altersstufen höher ausfallen als in den höheren Altersstufen. Die Grafik zeigt weiterhin auf, dass die Referenzintervalle bei der Altersgruppe 81-100 Jahre größere Spannbreiten aufweisen.

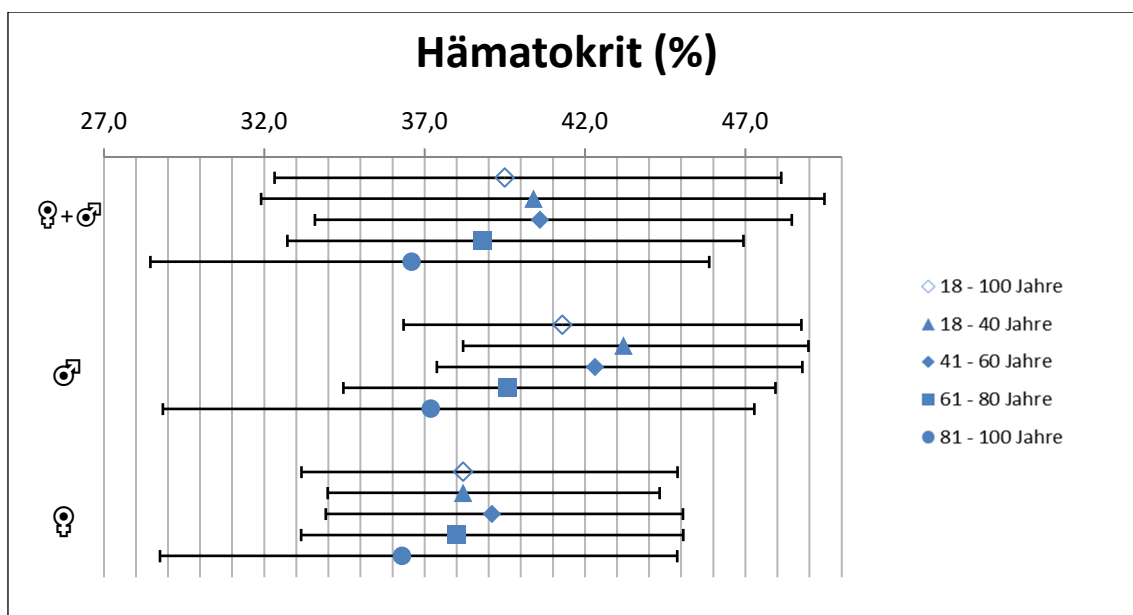


Abb. 12: Mediane der Altersgruppen für den Hämatokrit mit Referenzbereichen. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Die genauen Werte der Referenzgrenzen sind in der Tabelle 12 zu sehen. Für die Männer ist zu erkennen, dass die Werte der unteren Referenzgrenzen von Altersstufe zu Altersstufe geringer werden. Im Vergleich bleiben diese bei den Frauen sehr ähnlich und eine Abnahme ist nur für die höchste Altersstufe zu verzeichnen. Die Oberen Referenzgrenzen unterscheiden sich für alle Altersklassen nicht sehr stark voneinander, was man auch in den Diagrammen ablesen konnte.

Alter (Jahre)	♂/♀	N	Median*	RL↓(RLE)*	RL↑(RLE)*
18 - 100	♂+♀	191868	39,50	32,32	48,11
18 - 40	♂+♀	38109	40,40	31,90	49,46
41 - 60	♂+♀	60881	40,60	33,58	48,44
61 - 80	♂+♀	72963	38,80	32,72	46,94
81 - 100	♂+♀	19915	36,60	28,45	45,87
18 - 100	♂	96389	41,30	36,34	48,74
18 - 40	♂	17967	43,20	38,20	48,96
41 - 60	♂	32317	42,30	37,38	48,77
61 - 80	♂	38301	39,60	34,46	47,93
81 - 100	♂	7804	37,20	28,84	47,28
18 - 100	♀	95180	38,20	33,16	44,88
18 - 40	♀	20022	38,20	33,97	44,32
41 - 60	♀	28452	39,10	33,91	45,05
61 - 80	♀	34603	38,00	33,15	45,06
81 - 100	♀	12103	36,30	28,75	44,87

Tab. 12: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen für den Hämatokrit. *Angaben in %. RL↓/RL↑ (RLE) = unteres/ oberes Referenzlimit des RLE. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Der Vergleich zu den Referenzgrenzen aus der Literatur ist in Tabelle 13 dargestellt. Hier sind zu den vorher dargestellten Referenzintervallen wieder die dazugehörigen Konfidenzintervalle aufgeführt, die durch das Excel Tool zur zulässigen Differenz berechnet wurden. Auf der rechten Seite der Tabelle finden sich die Referenzgrenzen aus Thomas (9). Diese sind beim Hämatokrit ebenfalls nur für das männliche und weibliche Geschlecht angegeben und außerdem nur über die gesamte Altersspanne. Aus diesem Grund wird, wie es auch schon bei den Erythrozyten und beim Hämoglobin passiert ist, jede Altersgruppe mit dem Wert von Thomas (9) verglichen.

Betrachtet man nun Tabelle 13, zeigt sich, dass für alle etablierten Referenzgrenzen des Hämatokrits Anpassungen angeraten sind.

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓*	RL↑*
18 - 100	♂	35,05 - 37,63	47,11 - 50,37	40,00	53,00
18 - 40	♂	36,96 - 39,44	47,45 - 50,47	40,00	53,00
41 - 60	♂	36,12 - 38,64	47,21 - 50,33	40,00	53,00
61 - 80	♂	33,15 - 35,77	46,23 - 49,63	40,00	53,00
81 - 100	♂	27,47 - 30,21	45,24 - 49,32	40,00	53,00
18 - 100	♀	31,96 - 34,36	43,35 - 46,41	36,00	48,00
18 - 40	♀	32,83 - 35,11	42,91 - 45,73	36,00	48,00
41 - 60	♀	32,73 - 35,09	43,56 - 46,54	36,00	48,00
61 - 80	♀	31,94 - 34,36	43,52 - 46,60	36,00	48,00
81 - 100	♀	27,46 - 30,04	43,03 - 46,71	36,00	48,00

Tab. 13: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des Hämatokrits. *Angaben in %. KI↓/KI↑ (RLE) = unteres/ oberes Konfidenzintervall des RLE; *Literaturwert nach Thomas (9), RL↓/RL↑ = unteres/ oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Konfidenzintervalls des RLE.

Bei den Männern als auch bei den Frauen ist zu beobachten, dass das untere Referenzlimit in allen Altersgruppen nach unten zu korrigieren wäre. Betrachtet man das obere Referenzlimit, so müsste dies für alle Altersgruppen ebenfalls nach unten korrigiert werden, da Thomas (9) einen höheren Wert angibt.

Tabelle 14 zeigt nun Konfidenzintervalle, die speziell für die drei Altersgruppen nach Herklotz et al. (65) berechnet wurden, um diese unmittelbar miteinander vergleichen zu können.

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓**	RL↑**
18-50	♂	36,88 - 39,34	47,36 - 50,36	39,50	50,50
50-65	♂	35,39 - 37,93	46,97 - 50,13	39,50	50,50
>65	♂	32,30 - 34,92	45,90 - 49,36	37,00	49,00
18-50	♀	32,19 - 34,53	43,00 - 45,94	35,50	45,00
50-65	♀	33,00 - 35,34	43,65 - 46,57	35,50	45,55
>65	♀	30,04 - 32,56	43,55 - 46,93	35,00	45,55

Tab. 14: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des Hämatokrits (Angaben in %). KI↓/KI↑ (RLE) = unteres/ oberes Konfidenzintervall des RLE; **Literaturwert nach Herklotz et al. (65), RL↓/RL↑ = unteres/ oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Referenzintervalls des RLE.

Hier ist der Tabelle zu entnehmen, dass die alle unteren Referenzgrenzen außerhalb der Konfidenzintervalle liegen. Dies gilt sowohl für die Männer als auch die Frauen. Es ist zu beobachten, dass die Referenzgrenzen hier ebenfalls nach unten zu korrigieren wären. Die Werte von Herklotz et al. (65) liegen nur knapp außerhalb des

angegebenen Intervalls des RLE für die Altersgruppen 18-50 und 50-65 Jahre. Für die Altersstufe >65 hingegen zeigen die Werte des RLE die größten Abweichungen.

Für das obere Referenzlimit wären Anpassungen lediglich bei den Männern für die Altersgruppen 18-50 Jahre und 50-65 Jahre empfohlen. Hier müsste ebenfalls das Limit nach unten angepasst werden, da der RLE niedrigere Werte berechnet. Für die Frauen könnten die Referenzgrenzen beibehalten werden.

3.6 MCH

3.6.1 Altersabhängigkeit des MCHs

Über die Alterspanne von 18 bis 100 Jahre für beide Geschlechter zeigt die Grafik zunächst einen Anstieg der Werte (bis über 30 pg). Ab dem Alter von ca. 50 Jahren beobachtet man, dass die Mediane relativ konstant bleiben. Zum Ende der Kurve sind erneut Varianzen der Mediane zu beobachten.

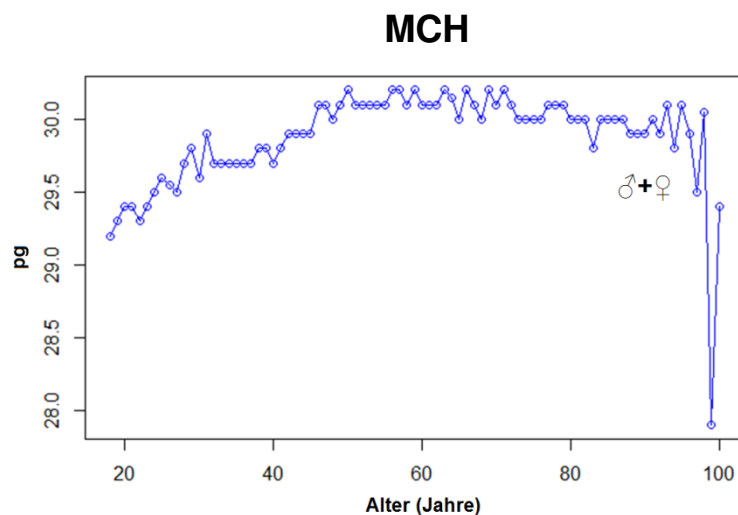


Abb. 13: Altersabhängigkeit des MCHs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer und Frauen.

Betrachtet man nun die altersabhängigen Mediane für beide Geschlechter individuell, fallen zunächst Unterschiede auf (Abbildung 14). Die altersabhängigen Mediane des männlichen Geschlechts zeigen einen sehr moderaten, bogenförmigen Verlauf. Die Kurve entspricht auf den ersten Blick beinahe einer Geraden. Insgesamt ist hier ein leicht zunehmender Trend zu erkennen.

Die Grafik der Frauen zeigt zunächst zunehmende Werte, bis ungefähr zum Alter von 50 Jahren. Dann bleiben die Werte nahezu konstant und erniedrigen sich nur minimal bis zum Ende der Kurve. Insgesamt steigen die Werte vom 18. Lebensjahr aber wie bei den Männern an.

Der RLE wählt bei der Geschlechterdifferenzierung erneut eine unterschiedliche Skalierung (Y-Achse), die bei den Männern größer ausfällt (ca. von 24 bis 31 pg). Bei den Frauen hingegen beginnen die Werte der Y-Achse bei ca. 28 pg und enden bei einem Wert von ca. 30,5 pg. Aufgrund der unterschiedlichen Skalierung, sind darum die zunächst erscheinenden Unterschiede beider Geschlechter geringer, als zunächst angenommen.

Am Ende beider Kurven sind erneut große Varianzen der Mediane zu verzeichnen, die durch statistisches Rauschen bedingt sind.

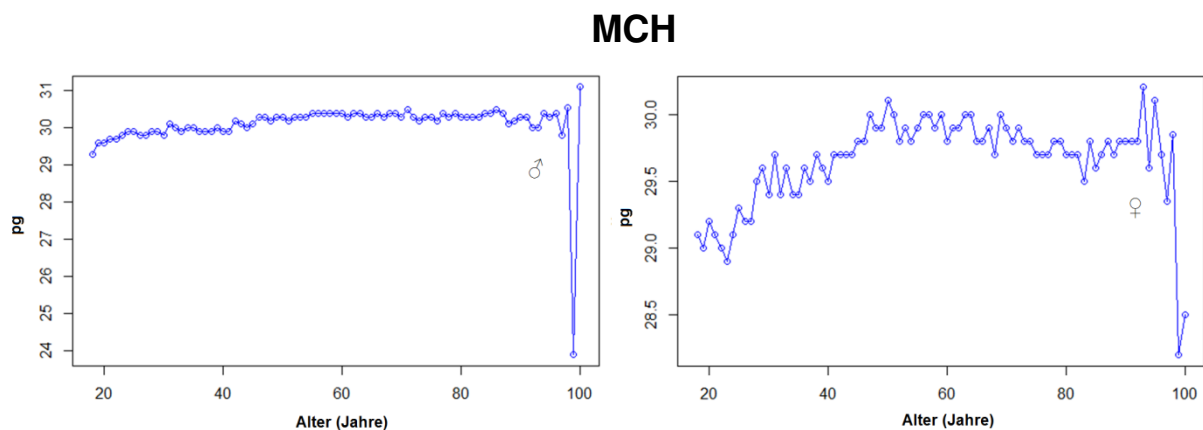


Abb. 14: Altersabhängigkeit des MCHs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).

Auch für diesen Parameter wurden Spearman-Rangkorrelationen mit weiteren Parametern der klinischen Chemie berechnet (Tabelle 15). Dabei zeigte sich eine moderate, positive Korrelation mit dem Retikulozyten-Hb. Die übrigen signifikanten absoluten Korrelationskoeffizienten sind wieder so klein, so man von keinen Zusammenhängen ausgehen kann.

Weitere Korrelationskoeffizienten, die keine signifikanten Zusammenhänge ergaben, sind im Anhang dieser Arbeit zu finden.

Parameter	r	p	n
Retikulozyten (Hb)	0,528	0,000	10355
Transferrin Sättigung (Heparinblut)	0,122	0,000	6128
Ferritin (Heparinblut)	0,088	0,000	27135
Eisen (Heparinblut)	0,025	0,000	20197
CRP (Heparinblut)	-0,033	0,000	100332
Transferrin (Heparinblut)	-0,092	0,000	7545
lösl. Transferrin-Rez. (Serum)	-0,165	0,006	280

Tab. 15: Korrelationen der MCH-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie. *r* = Korrelationskoeffizient, *p* = *p*-Wert (Signifikanzniveau), *n* = Anzahl der Datensätze.

3.6.2 Referenzgrenzen des MCHs

Bei der Betrachtung von Abbildung 15 findet sich der altersabhängige Verlauf der Mediane (Abbildungen 13 und 14) wieder: Mit Ausnahme der Altersstufe 18-40 Jahre bleiben die Mediane über die verschiedenen Altersstufen konstant. Die Mediane in der Altersstufe 18-40 Jahre fallen aber geringer aus.

Für die Männer erscheint der Median für die Gruppe 18-40 Jahre deutlich niedriger zu liegen, obwohl die Grafik zuvor auf den ersten Blick fast den Eindruck einer Geraden vermittelt hat. Bei den Frauen findet man einen zur Grafik konkordanten Verlauf. Man erkennt zunächst einen niedrigen Median für die Altersgruppe 18-40 Jahre, ab der Altersgruppe 41-60 Jahre nehmen die Mediane für die beiden höchsten Altersstufen ab.

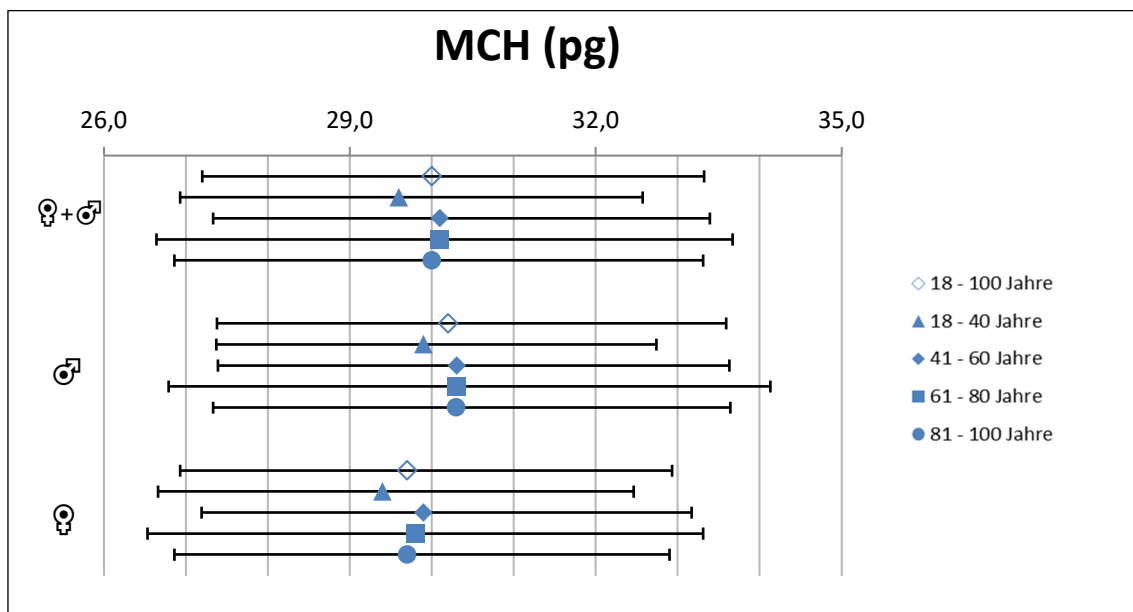


Abb. 15: Mediane der Altersgruppen für das MCH mit Referenzbereichen. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Weiterhin ist zu erkennen, dass die Referenzbereiche für beide Geschlechter und alle Altersgruppen insgesamt sehr nahe beieinander liegen. Außerdem zeigen sich die Referenzbereiche zum Median sehr symmetrisch für die oberen als auch unteren Referenzgrenzen. Aus Tabelle 16 ist zu entnehmen, dass sich besonders die unteren Referenzgrenzen sehr ähnlich sind. So schwanken für die Männer die Grenzen für alle Altersklassen dicht um einen Wert von ca. 27 pg. Für die oberen Referenzgrenzen sind dann etwas größere Differenzen zu beobachten.

Alter (Jahre)	♂/♀	N	Median*	RL↓(RLE)*	RL↑(RLE)*
18 - 100	♂+♀	191869	30,00	27,20	33,32
18 - 40	♂+♀	38109	29,60	26,93	32,57
41 - 60	♂+♀	60882	30,10	27,33	33,39
61 - 80	♂+♀	72963	30,10	26,64	33,67
81 - 100	♂+♀	19915	30,00	26,86	33,31
18 - 100	♂	96389	30,20	27,38	33,59
18 - 40	♂	17967	29,90	27,37	32,74
41 - 60	♂	32317	30,30	27,39	33,63
61 - 80	♂	38301	30,30	26,79	34,13
81 - 100	♂	7804	30,30	27,33	33,64
18 - 100	♀	95181	29,70	26,93	32,93
18 - 40	♀	20022	29,40	26,66	32,46
41 - 60	♀	28453	29,90	27,19	33,17
61 - 80	♀	34603	29,80	26,53	33,31
81 - 100	♀	12103	29,70	26,86	32,90

Tab. 16: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen des MCHs. *Angaben in pg. RL↓/ RL↑ (RLE) = unteres/ oberes Referenzlimit des RLE. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Im Folgenden findet man die Berechnung der Konfidenzintervalle für das MCV. Im Gegensatz zu Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit werden für die Erythrozytenindizes MCV, MCH und MCHC in der Literatur (9) nur Angaben für beide Geschlechter gemeinsam gemacht. Eine weitere Alters- oder Geschlechtsdifferenzierung wird hier nicht gemacht. Dementsprechend erfolgt an dieser Stelle auch nur der Vergleich für Männer und Frauen zusammen.

Tabelle 17 zeigt, dass bis auf die Altersgruppe 41-60 Jahre alle unteren Referenzgrenzen nach Thomas (9) außerhalb der Konfidenzintervalle liegen. Allerdings liegen die angegebenen Werte teilweise nur sehr knapp innerhalb oder im Fall der Gruppe 41-

60 Jahre außerhalb des berechneten Konfidenzintervalls. Alle oberen Referenzgrenzen liegen innerhalb des Konfidenzintervalls.

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	KI↓*	KI↑*
18 - 100	♂+♀	26,41 - 27,99	32,39 - 34,25	28,00	33,00
18 - 40	♂+♀	26,18 - 27,68	31,69 - 33,45	28,00	33,00
41 - 60	♂+♀	26,54 - 28,12	32,47 - 34,31	28,00	33,00
61 - 80	♂+♀	25,80 - 27,48	32,66 - 34,68	28,00	33,00
81 - 100	♂+♀	26,05 - 27,67	32,35 - 34,27	28,00	33,00

Tab. 17: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCHs (Angaben in pg). KI↓/ KI↑ (RLE) = unteres/ oberes Konfidenzintervall des RLE; *Literaturwert nach Thomas (9), RL↓/ RL↑ = unteres/ oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Konfidenzintervalls des RLE.

Im Vergleich zeigen die Altersberechnungen, die analog zu den Altersgruppen nach Herklotz et al. (65) durchgeführt wurden, dass für die unteren Referenzgrenzen kein Anpassungsbedarf bestehen würde. Hier liegen alle aktuell verwendeten Referenzgrenzen im berechneten Intervall. Auch die Werte für das obere Konfidenzintervall bedürfen keiner Anpassung.

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓**	RL↑**
18-50	♀+♂	26,41 - 27,93	32,01 - 33,79	27,00	33,50
50-65	♀+♂	26,05 - 27,67	32,55 - 34,49	27,00	33,50
>65	♀+♂	26,37 - 27,95	32,50 - 34,38	27,00	34,00

Tab. 18: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCHs (Angaben in pg). KI↓/ KI↑ (RLE) = unteres/ oberes Konfidenzintervall des RLE; **Literaturwert nach Herklotz et al. (65), RL↓/ RL↑ = unteres/ oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Konfidenzintervalls des RLE.

3.7 MCV

3.7.1 Altersabhängigkeit des MCVs

Für die Altersabhängigkeit des MCVs für Männer und Frauen zusammen erkennt man zunächst einen kontinuierlichen Anstieg des Graphen bis ca. zum 55. Lebensjahr (Abbildung 16). Ab diesem Zeitpunkt bleiben die Werte dann schließlich konstant auf einem Niveau bis ca. zum 90. Lebensjahr. Dort folgen schließlich erneut große Varianzen durch statistisches Rauschen.

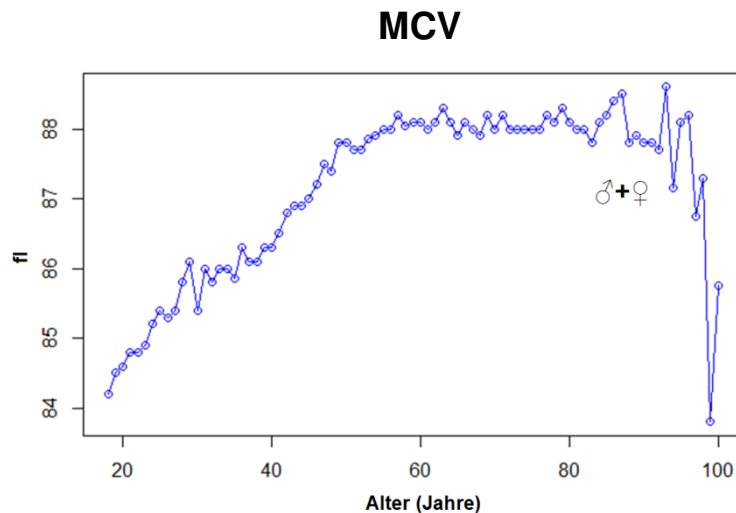


Abb. 16: Altersabhängigkeit des MCVs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer und Frauen.

Die Betrachtung der geschlechterspezifischen Kurven in Abbildung 17 zeigt sich für die Männer ein sehr moderater, bogenförmiger Verlauf. Die Kurve entspricht auf den ersten Blick beinahe einer Geraden. Insgesamt ist hier wieder ein leicht zunehmender Trend zu erkennen, wie man es auch beim MCH erkennen konnte. Am Ende imponieren Varianzen.

Die Grafik der Frauen hat im Vergleich zunächst wieder eine andere Erscheinung. Anfänglich nehmen die Werte stetig zu, bis ungefähr zum Alter von 60 Jahren. Ab dem 60. Lebensjahr sinken die Altersmediane dann moderat. Insgesamt zeigen aber hier die altersabhängigen Mediane eine Zunahme der Werte vom 18. Lebensjahr an.

Der RLE wählt bei der Geschlechterdifferenzierung erneut eine unterschiedliche Skalierung (Y-Achse), die bei den Männern größer ausfällt (ca. von 70 bis 90 fl). Bei den Frauen hingegen beginnen die Werte der Y-Achse bei ca. 84 fl und enden bei einem Wert von ca. 88,5 pg. Aufgrund der unterschiedlichen Skalierung, sind darum die zunächst erscheinenden Unterschiede beider Geschlechter erneut geringer, als zunächst angenommen.

Am Ende beider Kurven sind auch hier große Varianzen der Mediane zu verzeichnen, die durch statistisches Rauschen bedingt sind.

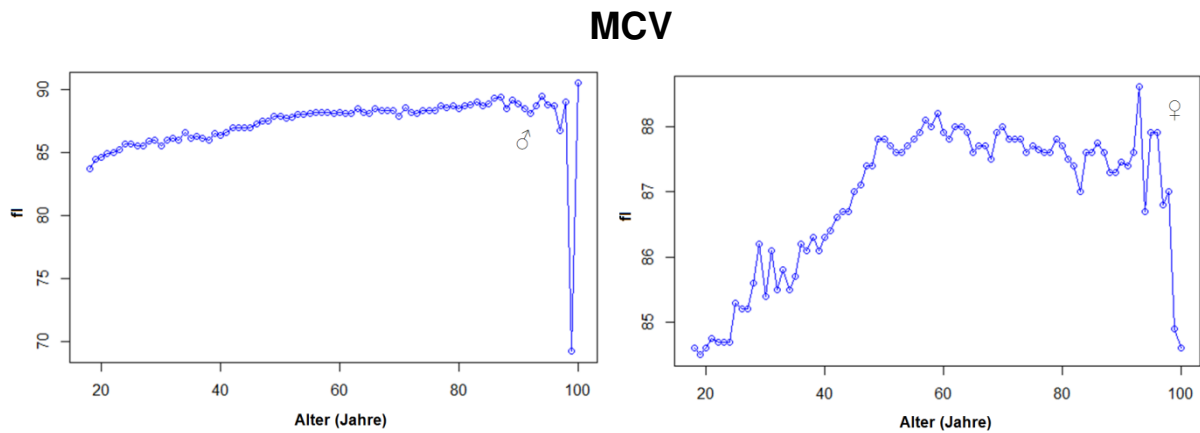


Abb. 17: Altersabhängigkeit des MCVs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).

Die Korrelationsberechnungen für das MCV mit den Parametern der klinischen Chemie zeigen kaum Zusammenhänge auf. Für das Retikulozyten-Hb zeigt sich erneut der höchste absolute Korrelationskoeffizient, der allerdings deutlich niedriger ausfällt als beim MCH zuvor ($r = 0,144$). Weitere Korrelationskoeffizienten, die keine signifikanten Zusammenhänge ergaben, sind im Anhang dieser Arbeit zu finden.

Parameter	r	p	n
Retikulozyten (Hb)	0,144	0,000	10355
Transferrin Sättigung (Heparinblut)	0,055	0,000	6128
Ferritin (Heparinblut)	0,022	0,000	27135
CRP (Heparinblut)	-0,016	0,000	100332
Eisen (Heparinblut)	-0,017	0,014	20197
Vitamin-B12 (Serum)	-0,052	0,028	1769
Transferrin (Heparinblut)	-0,054	0,000	7545
lösl. Transferrin-Rez. (Serum)	-0,137	0,020	291

Tab. 19: Korrelationen der MCV-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie. r = Korrelationskoeffizient, p = p -Wert (Signifikanzniveau), n = Anzahl der Datensätze.

3.7.2 Referenzgrenzen des MCVs

Bei der Betrachtung von Abbildung 18 zeigt sich, dass der Altersstufenmedian von 18-40 Jahre für beide Geschlechter den geringsten Wert anzeigt. Darauf folgt der Anstieg der Mediane zur nächsten Altersstufe. Bei den Männern erkennt man den weiteren Anstieg der Mediane mit einer homogenen Verschiebung der Referenzbereiche. Das heißt, die Mediane liegen mittig in den jeweiligen Referenzbereichen. Bei den Frauen

beobachtet man im Vergleich zur Grafik erneut, dass die Altersgruppenmediane etwas abnehmen. Auch hier sind die Referenzbereiche im Vergleich sehr ähnlich.

Insgesamt beobachtet man sehr homogene Referenzbereiche für beide Geschlechter, die weder eine Links- oder eine Rechtsverschiebung zeigen (der Altersgruppenmedian liegt mittig) und in keiner Altersstufe durch besondere Ausreißer gekennzeichnet sind.

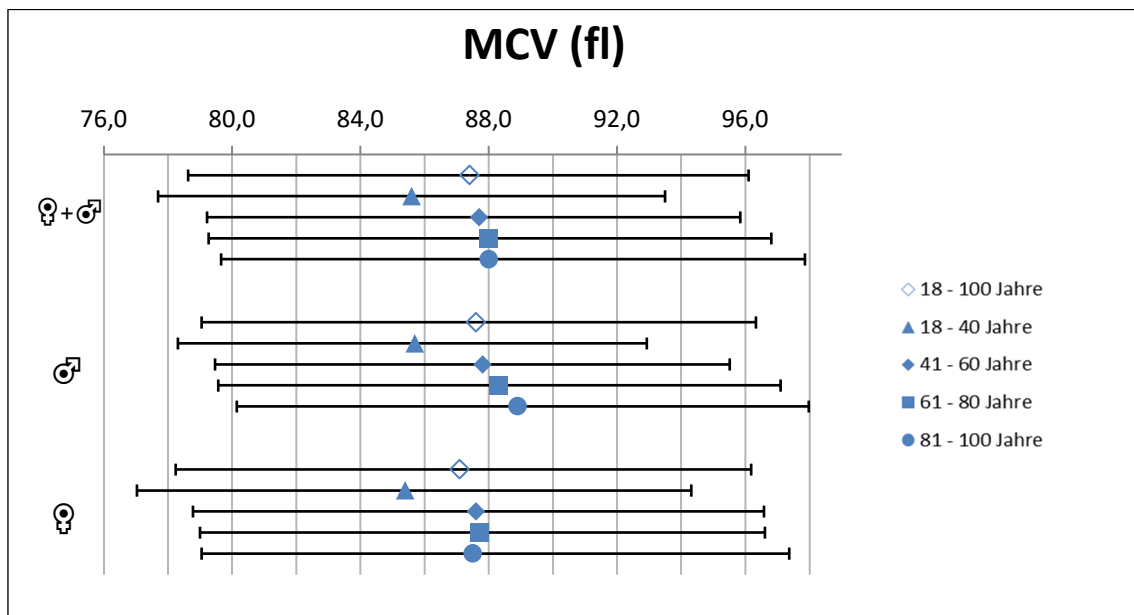


Abb. 18: Mediane der Altersgruppen für das MCV mit Referenzbereichen. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Betrachtet man die Referenzgrenzen in Tabelle 20, zeigen sich keine großen Unterschiede zwischen der Männer- und der Frauenkohorte. Das untere Referenzlimit befindet sich zwischen 78,30 und 80,14 fl bei den Männern und 77,03 und 79,04 fl bei den Frauen. Das obere Referenzlimit zeigt größere Differenzen zwischen den Altersgruppen: Es liegt für die Männer zwischen 92,92 und 97,97 fl. Für die Frauen schwankt es von der untersten bis zur obersten Altersgruppe von 94,31 bis auf 97,97 fl.

Alter (Jahre)	♂/♀	N	Median*	RL↓(RLE)*	RL↑(RLE)*
18 - 100	♂+♀	191871	87,40	78,62	96,10
18 - 40	♂+♀	38109	85,60	77,69	93,49
41 - 60	♂+♀	60883	87,70	79,21	95,84
61 - 80	♂+♀	72964	88,00	79,26	96,80
81 - 100	♂+♀	19915	88,00	79,65	97,85
18 - 100	♂	96390	87,60	79,04	96,33
18 - 40	♂	17967	85,70	78,30	92,92
41 - 60	♂	32317	87,80	79,46	95,51
61 - 80	♂	38302	88,30	79,56	97,09
81 - 100	♂	7804	88,90	80,14	97,97
18 - 100	♀	95182	87,10	78,23	96,18
18 - 40	♀	20022	85,40	77,03	94,31
41 - 60	♀	28454	87,60	78,77	96,57
61 - 80	♀	34603	87,70	78,99	96,60
81 - 100	♀	12103	87,50	79,04	97,36

Tab. 20: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen des MCVs. *Angaben in fl. RL↓/RL↑ (RLE) = unteres/oberes Referenzlimit des RLE. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Im Folgenden sind die Berechnungen der Konfidenzintervalle beschrieben. Betrachtet man Tabelle 21, zeigt sich lediglich die Altersgruppe 18-40 Jahre auffällig. Hier wären Anpassungen für die Referenzgrenzen von Thomas (9) angeraten. Allerdings liegen die Werte nur sehr knapp außerhalb der berechneten Konfidenzintervalle. Für die anderen Altersgruppen wird keine Anpassung empfohlen, da alle Werte in den berechneten Konfidenzintervallen liegen.

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓*	RL↑*
18 - 100	♂+♀	76,35 - 80,89	93,44 - 98,76	80,00	96,00
18 - 40	♂+♀	75,55 - 79,83	91,00 - 95,98	80,00	96,00
41 - 60	♂+♀	76,99 - 81,43	93,25 - 98,43	80,00	96,00
61 - 80	♂+♀	76,98 - 81,54	94,12 - 99,48	80,00	96,00
81 - 100	♂+♀	77,32 - 81,98	95,10 - 100,60	80,00	96,00

Tab. 21: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCVs (Angaben in fl). KI↓/KI↑ (RLE) = unteres/oberes Konfidenzintervall des RLE; *Literaturwert nach Thomas (9), RL↓/RL↑ = unteres/oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Konfidenzintervalls des RLE.

Nach den Angaben von Herklotz et al. (65) werden ebenfalls keine geschlechtsspezifischen Referenzgrenzen angegeben. Allerdings wird hier auch wie bei den vorherigen Erythrozytenparametern altersspezifisch differenziert.

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓**	RL↑**
18-50	♀+♂	75,81 - 80,17	91,93 - 97,03	80,00	99,00
50-65	♀+♂	77,26 - 81,70	93,61 - 98,77	80,00	99,00
>65	♀+♂	76,71 - 81,31	94,38 - 99,80	80,00	101,00

Tab. 22: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCVs (Angaben in fl). KI↓/KI↑ (RLE) = unteres/ oberes Konfidenzintervall des RLE; **Literaturwert nach Herklotz et al. (65), RL↓/RL↑ = unteres/ oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Konfidenzintervalls des RLE.

Die unteren Referenzgrenzen liegen für die drei unterschiedlichen Altersgruppen alle im berechneten Konfidenzintervall, eine Anpassung ist nicht empfohlen. Für die oberen Referenzgrenzen liegen die Werte für alle drei Altersgruppen über den berechneten Konfidenzintervallen. Hier wäre eine Anpassung angeraten.

3.8 MCHC

3.8.1 Altersabhängigkeit des MCHCs

Über die Altersspanne von 18 bis 100 Jahren zeigt Abbildung 19 mit zunehmendem Alter einen Abfall der MCHC-Werte. Es ist dennoch zu erkennen, dass zwischenzeitlich immer wieder kurze Phasen vorliegen, wo die Mediane konstant auf einem Niveau, abszissenparallel verlaufen. Diese Phasen beobachtet man in der nachfolgenden Grafik um das 30., 60. und zuletzt noch einmal um das 90. Lebensjahr. Im Verlauf fallen die Mediane von anfänglich etwas 34,6 g/dl auf unter 33,8 g/dl, was einer Differenz von 2,3 % entspricht.

Zum Ende der altersabhängigen Mediane sind erneut starke Varianzen durch statistisches Rauschen zu beobachten.

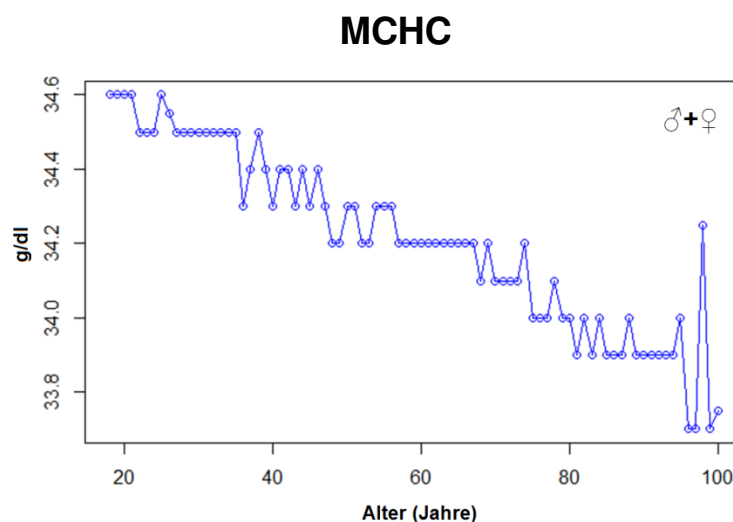


Abb. 19: Altersabhängigkeit des MCHCs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).

Bei der geschlechtsspezifischen Betrachtung in Abbildung 20 fällt ebenfalls der abfallende Verlauf mit zunehmendem Alter auf. Allerdings zeigt die Grafik der Frauen eine flachere Kurve im Vergleich zu den Männern. Dies liegt wieder in der unterschiedlichen Skalierung der Y-Achse begründet, die der RLE automatisch festlegt. Bei den Männern erstrecken sich die Werte der Y-Achse von ca. von 33,8 bis 35 g/dl. Bei den Frauen hingegen beginnen die Werte der Y-Achse bei ca. 84 fl und enden bei einem Wert von ca. 88,5 pg. Aufgrund der unterschiedlichen Skalierung erscheint für die Altersabhängigkeit der Männer ein steilerer Graph.

Zum Ende imponiert, wie auch bei den altersabhängigen Medianen der übrigen Erythrozytenparameter, ein statistisches Rauschen.

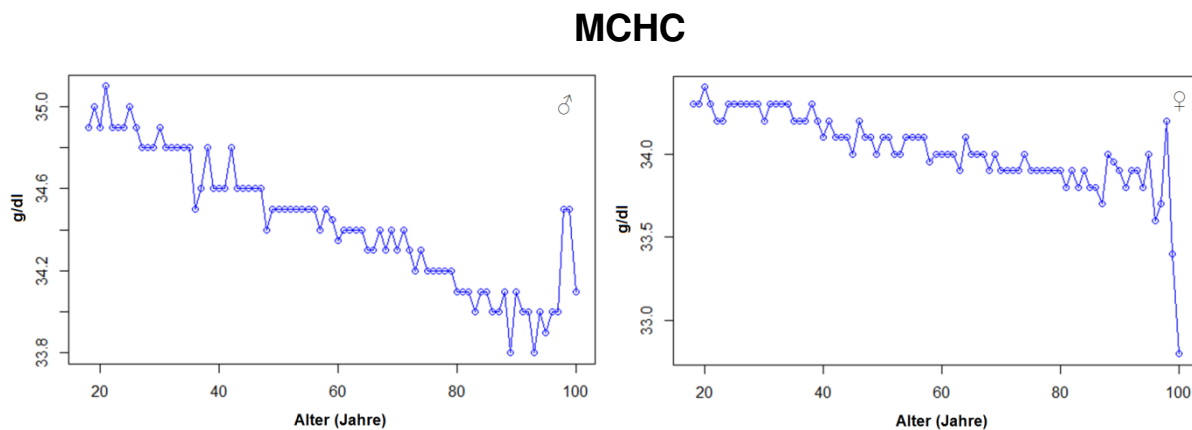


Abb. 20: Altersabhängigkeit des MCHCs (Mediane) vom 18. bis 100. Lebensjahr für Männer (links) und Frauen (rechts).

Auch für diesen Erythrozytenindex wurden erneut Rangkorrelationen mit weiteren Parametern der klinischen Chemie berechnet, die in Tabelle 23 zu finden sind.

Dabei findet sich ein geringer negativer, absoluter Korrelationskoeffizient für den löslichen Transferrinrezeptor ($r = -0,281$). Weiterhin zeigt sich ein geringer positiver Koeffizient für das Retikulozyten-Hb ($r = 0,307$). Die übrigen signifikanten absoluten Korrelationskoeffizienten in der Tabelle zeigen so niedrige Werte, dass auch hier nicht von Zusammenhängen gesprochen werden kann. Weitere Korrelationskoeffizienten, die keine signifikanten Zusammenhänge ergaben, sind im Anhang dieser Arbeit zu finden.

Parameter	r	p	n
Retikulozyten (Hb)	0,307	0,000	10355
Transferrin Sättigung (Heparinblut)	0,103	0,000	6128
Vitamin-B12 (Heparinblut)	0,054	0,001	3395
Ferritin (Heparinblut)	0,042	0,000	27135
CRP (Heparinblut)	-0,012	0,000	100329
lösl. Transferrin-Rez. (Serum)	-0,281	0,000	280

Tab. 23: Korrelationen der MCHC-Werte mit weiteren Parametern der klinischen Chemie. r = Korrelationskoeffizient, p = p-Wert (Signifikanzniveau), n = Anzahl der Datensätze.

3.8.2 Referenzgrenzen des MCHCs

Bei der Betrachtung der Diagramme in Abbildung 21 zeigen alle Mediane für die verschiedenen Altersstufen bei Männern und auch Frauen den abfallenden Charakter. Die Referenzbereiche erscheinen für alle beiden Geschlechter und für alle Altersstufen sehr homogen, es zeigen sich auch keine signifikanten Rechts- oder Linksverschiebungen (in Relation zum Median der Altersstufe). Für die Männer zeigen die Referenzbereiche zwischen den Altersstufen unterschiedliche Breiten: So fallen diese für die Altersgruppe 61-80 Jahre etwas schmaler aus. Für die Frauen scheinen die Referenzbereiche von Altersstufe zu Altersstufe zuzunehmen.

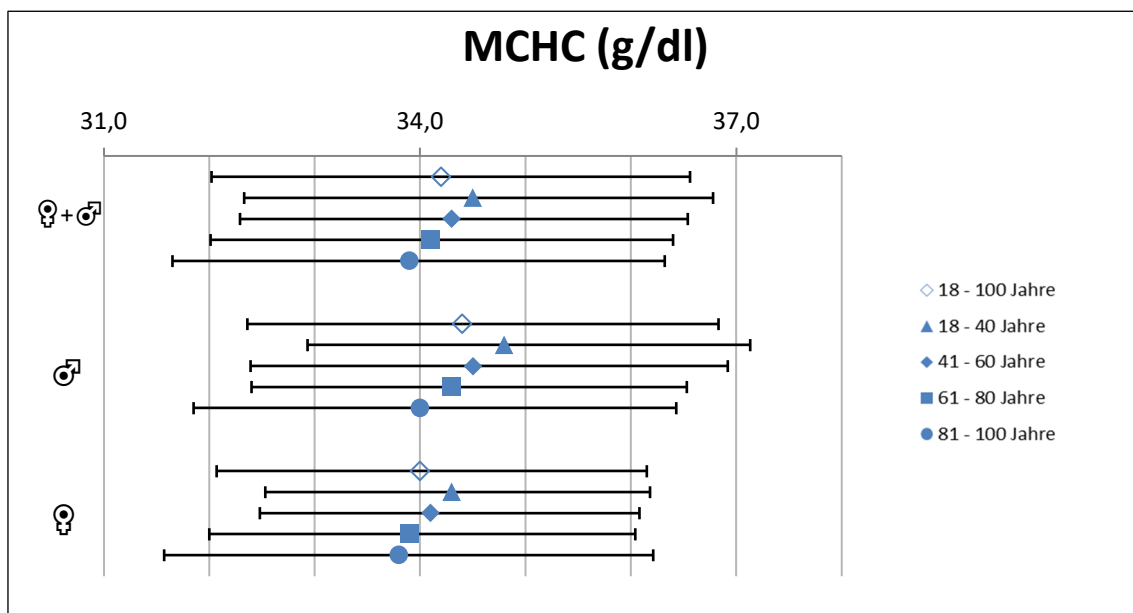


Abb. 21: Mediane der Altersgruppen für das MCHC mit Referenzbereichen. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Tabelle 24 stellt dar, dass die Mediane insgesamt sehr nahe beieinander liegen. Dies gilt besonders für die Männer, wo ausschließlich Werte um die 34 g/dl vorliegen. Die unteren Referenzgrenzen für Männer liegen ebenfalls dicht beieinander und zeigen nur in der höchsten Altersstufe erniedrigte Werte (31,85 g/dl). Die oberen Referenzgrenzen zeigen sich bei Betrachtung der Werte sehr homogen.

Für die Frauen ist ein ähnliches Verhalten der unteren und oberen Referenzgrenzen zu beobachten: Beide Referenzgrenzen zeigen sehr homogene Werte, besonders für die oberen Limits. Lediglich in der höchsten Altersstufe ist das untere Limit auf 31,57 g/dl reduziert.

Alter (Jahre)	♂/♀	N	Median*	RL↓(RLE)*	RL↑(RLE)*
18 - 100	♂+♀	191869	34,20	32,02	36,56
18 - 40	♂+♀	38109	34,50	32,33	36,78
41 - 60	♂+♀	60882	34,30	32,29	36,54
61 - 80	♂+♀	72963	34,10	32,01	36,40
81 - 100	♂+♀	19915	33,90	31,65	36,32
18 - 100	♂	96389	34,40	32,36	36,83
18 - 40	♂	17967	34,80	32,93	37,13
41 - 60	♂	32317	34,50	32,39	36,92
61 - 80	♂	38301	34,30	32,40	36,53
81 - 100	♂	7804	34,00	31,85	36,43
18 - 100	♀	95181	34,00	32,07	36,15
18 - 40	♀	20022	34,30	32,53	36,18
41 - 60	♀	28453	34,10	32,48	36,08
61 - 80	♀	34603	33,90	32,00	36,04
81 - 100	♀	12103	33,80	31,57	36,21

Tab. 24: Mediane, Anzahl der Werte und Referenzgrenzen des MCHCs. *Angaben in g/dl. RL↓/RL↑ (RLE) = unteres/oberes Referenzlimit des RLE. ♂ = Männer; ♀ = Frauen.

Als letzter Parameter der Erythrozytenindizes werden die berechneten Konfidenzintervalle mit den Referenzgrenzen aus dem Labor verglichen. Wie bereits bei den Erythrozytenindizes MCV und MCH wird auch für das MCHC nur ein Referenzintervall für Erwachsene, für beide Geschlechter zusammen, angegeben. Für das untere Referenzlimit von Thomas (9) werden, bis auf zwei Ausnahmen, Anpassungen für alle Werte vorgeschlagen. Dabei liegen vom RLE niedrigere Werte vor.

Das obere Referenzlimit von Thomas (9) bedürfte keiner Anpassung, alle Werte liegen in dem berechneten Konfidenzintervall. Die berechneten Intervalle des RLE liegen hier allerdings oberhalb der Literaturwerte.

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓*	RL↑*
18 - 100	♂/♀	31,28 - 32,76	35,74 - 37,38	33,00	36,00
18 - 40	♂/♀	31,60 - 33,06	35,97 - 37,59	33,00	36,00
41 - 60	♂/♀	31,58 - 33,00	35,75 - 37,33	33,00	36,00
61 - 80	♂/♀	31,29 - 32,73	35,60 - 37,20	33,00	36,00
81 - 100	♂/♀	30,91 - 32,39	35,49 - 37,15	33,00	36,00

Tab. 25: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCHCs (Angaben in g/dl). KI↓/ KI↑ (RLE) = unteres/ oberes Konfidenzintervall des RLE; *Literaturwert nach Thomas (9), RL↓/ RL↑ = unteres/ oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Konfidenzintervalls des RLE.

Nach Herklotz et al. (65) wird für Erwachsene ebenfalls in drei Altersstufen differenziert. Dabei ist zu erkennen, dass nur für das untere Referenzlimit für die Altersstufen 18-50 und 50-65 Jahre Anpassungen angeraten sind. Dort liegen die berechneten Intervalle des RLE ebenfalls oberhalb der Literaturwerte nach Herklotz et al. (65). Die oberen Limits müssten nicht korrigiert werden, wie Tabelle 26 zu entnehmen ist.

Alter (Jahre)	♂/♀	KI↓ (RLE)	KI↑ (RLE)	RL↓**	RL↑**
18-50	♀+♂	31,66 - 33,10	35,90 - 37,48	31,50	36,00
50-65	♀+♂	31,69 - 33,09	35,77 - 37,31	31,50	36,00
>65	♀+♂	31,20 - 32,64	35,56 - 37,16	31,50	36,00

Tab. 26: Referenzgrenzen und Konfidenzintervalle des MCHCs (Angaben in g/dl). KI↓/ KI↑ (RLE) = unteres/ oberes Konfidenzintervall des RLE; **Literaturwert nach Herklotz et al. (65), RL↓/ RL↑ = unteres/ oberes Referenzlimit (-grenze); rot markiert sind die Werte außerhalb des Konfidenzintervalls des RLE.

4 Diskussion

4.1 Altersabhängigkeit der Erythrozyten, des Hämoglobins und des Hämatokrits

Die Altersabhängigkeiten für die Erythrozyten, das Hämoglobin und den Hämatokrit zeigten eine ähnliche Charakteristik und stehen in enger Beziehung zueinander (9). Darum sollen sie gemeinsam diskutiert werden.

Alle drei Parameter werden in der Diagnostik von hämatologischen Erkrankungen verwendet. Gemeinsam für diese drei Parameter ist, dass über die Altersspanne vom 18. bis zum 100. Lebensjahr eine Abnahme der altersabhängigen Mediane zu beobachten war (Abbildungen 4, 7, 10). Es wurde überprüft, ob weitere Parameter aus der klinischen Chemie mit den altersabhängigen Medianen in Zusammenhang stehen. Eventuell sind dadurch Rückschlüsse auf hämatologische Erkrankungen möglich. So ist die Hämato- und Erythropoese u. a. auf Folsäure und Cobalamin angewiesen, damit die Blutzellen im Knochenmark entstehen können (14). Um dies zu prüfen, wurden Korrelationen mit weiteren Parametern der klinischen Chemie berechnet, die aber nur sehr geringe Korrelationskoeffizienten ergaben, wie man es am Beispiel des Akute-Phase-Proteins CRP sehen konnte: Hier lagen die Beträge der Korrelationskoeffizienten für alle sechs Erythrozytenparameter unter $r = 0,100$. Die Korrelationskoeffizienten für die weiteren Analyten zeigten sich ebenfalls äußerst niedrig, was möglicherweise auch auf die verwendeten Daten zurückzuführen ist: Zwar liegen für die Erythrozytenparameter mehr als 190.000 Werte vor (Gesamtgruppe vom 18. bis 100. Lebensjahr), für die weiteren Analyten der klinischen Chemie gibt es jedoch deutlich weniger Werte, da in den Blutuntersuchungen nicht für jeden Patienten die entsprechenden Werte erhoben wurden. Beispielsweise liegen für die Korrelationsberechnung der Erythrozyten und des Ferritins im Serum nur 1984 Werte vor. Somit stehen für die Korrelationsberechnungen oftmals nicht genügend Wertepaare zur Verfügung (am Beispiel des Ferritins sind es somit nur 1984 Wertepaare für die Korrelationsberechnungen). Aus den berechneten Korrelationskoeffizienten, die meist äußerst gering sind, lassen sich deshalb, wenn überhaupt, nur Tendenzen erkennen. Erhöhte Entzündungszeichen, die sich z. B. in Form von erhöhten CRP-Werten zeigen, könnten ein Hinweis für die erniedrigten altersabhängigen Mediane der Erythrozyten, des Hämoglobins und des Hämatokrits im höheren Alter sein, da ein Entzündungsgeschehen auch eine verminderte

Erythropoese zu Folge haben kann (66). Diese Vermutung liegt nahe, da bei Patienten im Krankenhaus ein Entzündungsgeschehen aufgrund von Infektionen, Tumorleiden und weiteren Erkrankungen vorliegen kann, das diesen negativen Zusammenhang erklären würde. Allerdings sind die Korrelationskoeffizienten für das CRP und den Parametern des roten Blutbildes so gering, dass kein Zusammenhang zwischen CRP-Werten und Erythropoese erkennbar ist und kein Einfluss der Erythropoese durch entzündliche Erkrankungen anzunehmen ist.

In den Berechnungen konnten noch weitere signifikante Korrelationskoeffizienten berechnet werden, allerdings auch mit sehr geringen Werten. Darum lassen sich auch hier, wenn überhaupt, nur Tendenzen ableiten. Der negative Koeffizient, der sich für die Erythrozyten mit den Retikulozyten (%) errechnet ($r = -0,313$), könnte auf eine (normozytäre) Anämie hindeuten, beispielsweise bedingt durch eine akute Blutung, bei dem es zum Abfall der Erythrozyten und zum Anstieg der Retikulozyten kommen kann (67). Der sehr geringe positive Korrelationskoeffizient für den Hämatokrit und die Retikulozyten (%) wäre ein Indiz für eine renal-bedingte oder aplastische Anämie ($r = 0,122$). Gleiches gilt für den löslichen Transferrinrezeptor: Hier liegt der Koeffizient bei $r = -0,165$. Dieser würde eher für eine mikrozytär-hypochrome Anämie sprechen. Diese Erkrankungen wären durch die Messwerte der rekrutierten Patienten denkbar und somit ist auch eine Beeinflussung der altersabhängigen Mediane möglich. Allerdings sind auch hier die Koeffizienten so gering, dass keine positiven sowie negativen Zusammenhänge zu konstatieren sind. Gleiches gilt für die Vitamine Cobalamin und Folsäure, die altersbedingt reduziert sein können und damit zu einer verminderten Hämatopoese führen könnten. Die Verminderung der Werte der drei Erythrozytenparameter in dem gezeigten Verlauf vom 18. bis zum 100. Lebensjahr ist daher mutmaßlich auf den altersbedingten Fett- und Bindegewebeinbau des Knochenmarks zurückzuführen und der damit verbundenen eingeschränkten Hämato- und Erythropoese (14). Es könnte auch durch eine verminderte inkretorische Nierenfunktion bedingt sein, wenn das Hormon Erythropoetin vermindert produziert wird (bei chronischer Niereninsuffizienz). Leider stehen für eine Korrelationsberechnung nicht ausreichend EPO-Werte zur Verfügung. Bei Männern kommt möglicherweise ebenfalls eine verminderte Testosteronproduktion im höheren Lebensalter für eine verminderte Erythropoese in Frage. So ist aus Studien mit Dialysepatienten bekannt, dass sich eine Testosterontherapie positiv auf Erythrozyten- und Retikulozytenzahl sowie Hämatokrit auswirkt (68). Letztendlich handelt es sich bei der Hämato- bzw. Erythropoese aber um

einen komplexen Vorgang, so dass diverse externe und interne Faktoren zu den verminderten Messwerten im höheren Alter beitragen können (69). Die Abnahme der Messergebnisse im höheren Alter macht deutlich, dass altersspezifische Referenzgrenzen berechnet werden sollten.

In der geschlechterspezifischen Darstellung der altersabhängigen Mediane wurde deutlich, dass sich die Abhängigkeiten von Männern und Frauen signifikant unterscheiden. Bei den Erythrozyten z. B. liegen die altersabhängigen Mediane der Männer um das 18. Lebensjahr bei $>5,0 \times 10^{12}/l$ hingegen finden sich beim weiblichen Geschlecht Werte von $<4,6 \times 10^{12}/l$. Bei den Altersabhängigkeiten des Hämoglobins sowie des Hämatokrits lagen die Werte der Frauen ebenfalls niedriger als bei den Männern. Vergleicht man die altersabhängigen Mediane beider Geschlechter um das 60. Lebensjahr zeigten sich vergleichbare Werte. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass es sinnvoll ist, geschlechtsspezifische Referenzgrenzen zu berechnen. Es sollten geschlechtsspezifische Referenzgrenzen für die jüngeren Altersstufen (bis ca. 60 Jahre) berechnet werden, für die höheren Altersstufen leitet sich keine geschlechtsspezifische Differenzierung ab.

Der dezente Knick im Verlauf, der beim weiblichen Geschlecht um das 55. Lebensjahr bei den Altersabhängigkeiten der Erythrozyten, dem Hämoglobin und dem Hämatokrit deutlich wird, ist möglicherweise auf einen postmenopausalen Östrogenmangel zurückzuführen (Abbildungen 5, 8, 11). Durchschnittlich erreichen Frauen mit 52 Lebensjahren die Menopause, die mit einer Einstellung der ovariellen gesteuerten Menstruation einhergeht und zu Folge hat, das weniger Östrogen im Körper produziert wird (70). Dadurch kommt es u. a. postmenopausal zu einem Knochendichteverlust, der in den ersten 10-15 Jahren nach der Menopause besonders stark ausgeprägt ist (71). Dies könnte möglicherweise eine verminderte Erythropoese und die geringeren Erythrozytenzahlen erklären. Außerdem kommen gynäkologische Erkrankungen in Betracht, die zu erhöhten Blutungen und Blutveränderungen beitragen können, wie z. B. das Endometriumkarzinom (72). Es kommen aber auch Ovarial- und Zervixtumore in Betracht und ebenfalls die damit verbundene Hysterektomie, bei der teilweise auch Ovarien mit entfernt werden, die im Anschluss die Östrogensynthese signifikant reduzieren. Obwohl gynäkologische Kliniken bei der Datenselektion ausgeschlossen wurden, sind diese Gründe möglich, da die genannten gynäkologischen Erkrankungen auch auf anderen stationären Gebieten, wie z. B. der Inneren Medizin behandelt werden. Auch in

Hinblick auf zukünftige Berechnungen mit dem RLE sollte dies für die Datenauswahl beachtet werden.

Vor dem Abfall der Mediane nach dem 55. Lebensjahr konnte man für das Hämoglobin und den Hämatokrit einen moderaten Anstieg der Werte für das weibliche Geschlecht erkennen. Für die Erythrozyten zeigte sich eine konstante Phase der Mediane. Eventuell hat hier die hormonelle Kontrazeption (Ovulationshemmer) Einfluss auf die Erythrozytenparameter, da bei dieser Östrogen- und Gestagenkomponenten eingesetzt werden (73). Diskutiert werden könnte auch die Reduktion der Menstruationszyklen, die prämenopausal zu verringerten Blutverlusten und damit zu erhöhten Hämoglobin- und Hämatokrit-Werten beitragen könnte. Auch eine Hormonersatztherapie mit Östrogenen, die im Klimakterium zur Anwendung kommen kann, kann als mögliche Ursache herangezogen werden (74).

Durch die Elimination der gynäkologischen Kliniken in der vorherigen Datenselektion könnte auch ein Shift für den Anstieg der Altersmediane bis zum 55. Lebensjahr verantwortlich sein, da Schwangere um bis zu 10 % reduzierte Erythrozyten- bzw. Hämoglobin- und Hämatokrit-Werte aufweisen (65). Diese fallen durch die Selektion raus, was vielleicht zu der Werteerhöhung beiträgt.

Bei allen Überlegungen zu den Unterschieden beider Geschlechter in den Altersabhängigkeiten muss jedoch auch die unterschiedliche Skalierung des RLE beachtet werden, die bei Männern und Frauen unterschiedlich festgelegt wird und automatisch durch den RLE geschieht. Darum muss der Knick im Verlauf beim weiblichen Geschlecht relativiert werden (Abbildungen 5, 8, 11), da aufgrund der unterschiedlichen Skalierung (diese wird beim weiblichen Geschlecht vom RLE deutlich gröber gewählt) die zunächst erscheinenden Unterschiede des Kurvenverlaufs beider Geschlechter geringer sind, als zunächst angenommen. Die automatische Skalierung des RLE ist ein Kritikpunkt am RLE, der in der zukünftigen Weiterentwicklung des RLE durch eine manuelle Einstellung der Skalierung behoben werden könnte. Das automatische Einfügen von Gitterlinien könnte auch zu einer verbesserten Einordnung für den Betrachter führen. Insgesamt verlaufen die Altersmediane des Hämatokrits beinahe konkordant zum Hämoglobin, was sich in Form und Verlauf der Graphen (Abbildungen 7, 10) widerspiegelt. Auch die Analogie zum Verlauf der Erythrozyten (Abbildung 4) spiegelt sich wider, jedoch scheinen sich die Brüche (Knick zwischen dem 50. bis 60. Lebensjahr) im Verlauf der Erythrozyten deutlich „weicher“ zu manifestieren. Dies liegt erneut in der Darstellung der Graphen des RLE begründet, da er RLE für jeden Parameter

automatisch eine individuelle Achsenskalierung erstellt. Dies muss bei der Interpretation berücksichtigt werden.

Die großen Schwankungen der Werte im höheren Alter sind wahrscheinlich durch statistisches Rauschen in den vergleichsweise geringeren Patientenzahlen begründet, die sich in den tabellarischen Darstellungen der Werte zeigen (Männer; Altersstufe 81-100 Jahre N = 7804). Dies könnte dazu führen, dass Ausreißer mehr ins Gewicht fallen. Außerdem muss man bei Patienten, die in dieser Altersklasse das Krankenhaus aufsuchen, mit schweren, lebenslimitierenden Erkrankungen rechnen, die sich auch auf das Blutbild auswirken können. Was für den Hämatokrit-Wert auch beachtet werden muss, ist der Flüssigkeitshaushalt des Körpers. Dieser könnte durch Hyperhydratation und ein gesteigertes Plasmavolumen die Werte immens beeinflussen. Dieser Zusammenhang könnte auch die großen Schwankungen der Mediane am Ende der Kurven erklären, da sehr alte Patienten häufig exsikkiert sind. Dies könnte das statistische Rauschen zusätzlich beeinflussen. Es ist aber auch bekannt, dass schon beim Übergang vom Liegen zum Stehen für die Erythrozyten, Hb und Hkt Erhöhungen von bis zu 13 % gemessen werden können. Auch die circadiane Rhythmik lässt die Werte um bis zu 20 % schwanken (65).

Zusammenfassend lassen die berechneten Korrelationskoeffizienten keine nennenswerten Zusammenhänge erkennen, was möglicherweise auf die wenigen Werte für die Berechnungen zurückzuführen ist. Außerdem kann der Rückschluss gemacht werden, dass die verwendeten Blutwerte nicht bzw. wenig pathologisch beeinflusst sind und sich die Daten damit gut für die Berechnungen mit dem RLE eignen, da man möglichst wenige pathologische Messwerte in die Berechnung einbeziehen möchte.

Es lässt sich weiterhin schlussfolgern, dass es sinnvoll ist, alters- und geschlechtsspezifische Referenzgrenzen zu bestimmen, da sich die Mediane für die drei Erythrozytenparameter in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht signifikant unterscheiden.

4.2 Referenzgrenzen der Erythrozyten

Bei der Betrachtung der Referenzbereiche, die in Abbildung 6 dargestellt wurden, zeigte sich, dass diese für alle Patienten (männlich und weiblich) breiter ausfallen. Dies ist durch die Zusammenlegung beider Geschlechter bedingt, da so eine breitere Streuung der Werte vorliegt. Der RLE zeigt für die Berechnungen jeder Altersklasse Histogramme an, so dass eine Einschätzung der Werteverteilung gemacht werden kann.

Für alle Altersklassen sind die pathologischen Werte überwiegend bei den niedrigeren Werten zu finden. Der pathologische Bereich ist als rote Linie in die Histogramme eingezeichnet und entspricht der Fläche unter der roten Linie. Abbildung 22 zeigt dies für die Altersklasse 18-100 Jahre. Dies trifft ebenso auf die geschlechtsspezifischen Werteverteilungen zu (alle weiteren Histogramme zu den Altersklassen finden sich im Anhang dieser Arbeit). Dies lässt den Rückschluss zu, dass primär die niedrigeren Erythrozyten-Werte pathologisch behaftet sind. Dies könnte auch erklären, warum die unteren Referenzgrenzen in den Diagrammen teilweise dichter an den Medianen liegen und die Referenzbereiche nach rechts verschoben sind, wie man es in Abbildung 6 beobachten konnte.

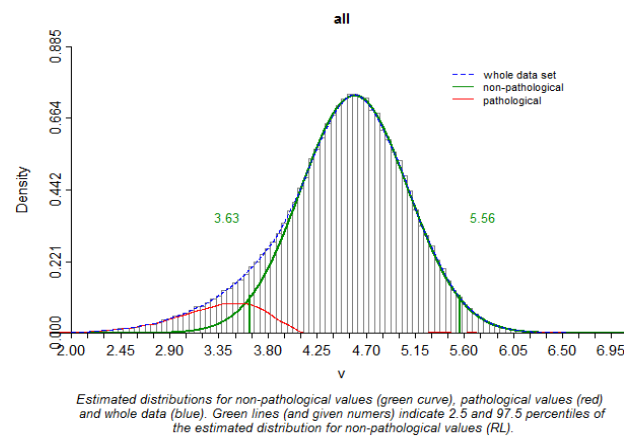


Abb. 22: Verteilung der Erythrozyten (RLE) für die Altersklasse 18-100 Jahre.

Ähnlich sehen auch die getrennt berechneten Referenzbereiche für das männliche und weibliche Geschlecht in den Altersgruppen 61-80 und 81-100 Jahre aus: Auch hier war eine Rechtsverschiebung (die Mediane sind dabei nicht mittig im Referenzbereich lokalisiert) der Referenzbereiche in den Diagrammen zu erkennen (Abbildung 6), was durch die Zunahme von pathologischen Werten im höheren Alter begründet sein kann. In der höchsten Altersstufe sind die Flächen unter der roten Linie bei Männern als auch bei Frauen im Vergleich zu den niedrigeren Altersstufen vergrößert, wie man es in Abbildung 23 am Beispiel der Männer erkennen kann. Damit ist der Anteil an pathologischen Werten erhöht.

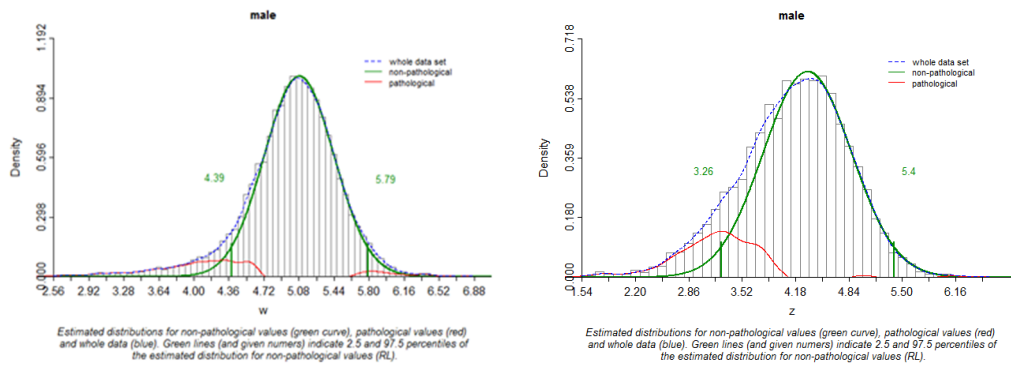


Abb. 23: Verteilung der Erythrozyten (RLE) für die Altersklassen 18-41 und 81-100 Jahre für Männer.

Diese Verteilungen wie in Abbildung 23 aufgeführt, sind kritisch zu bewerten, da der Anteil der Patienten über 90 Jahre deutlich niedriger ist (Männer = 7804; Frauen = 12103) und damit der relative Anteil an pathologischen Werten höher zu erwarten ist. Dies spiegelt sich auch in den zuvor dargestellten altersabhängigen Medianen wider, wo im hohen Alter große Streuungen in den Diagrammen zu sehen waren. Dies ist wahrscheinlich der Grund für die im Alter zunehmende Breite der Referenzbereiche. Dabei nehmen die unteren Referenzgrenzen in den vier Altersstufen ab, während die oberen Referenzgrenzen relativ konstant bleiben. Dies verwundert wenig, wenn die Verteilungen der Messwerte des RLE betrachtet werden, da hier im oberen Referenzgrenzbereich kaum pathologische Werte enthalten sind (gleichbedeutend durch die Fläche unter der roten Linie).

Die Berechnung der Konfidenzintervalle ermöglichte die Berechnung von Bereichen für die untere und obere Referenzgrenze, in denen Referenzgrenzen als gleichwertig angesehen werden können. Dies bietet die Möglichkeit, anhand von bisher genutzten Referenzgrenzen zu überprüfen, ob statistisch relevante Unterschiede vorliegen. Dabei zeigte sich, dass sowohl bei Frauen als auch Männern die bisher genutzten unteren Referenzgrenzen außerhalb des berechneten Intervalls zu finden waren und eine Anpassung angeraten ist. So ist der Literaturwert von Thomas (9) sowohl für Frauen als auch für Männer höher angegeben (Tabelle 5). Die etablierten Werte liegen allerdings meist nur sehr knapp außerhalb des berechneten Konfidenzintervalls, was zeigt, dass die berechneten Grenzen des RLE sehr dicht an den Vergleichswerten liegen. Für die obere Referenzgrenze sind nur für das weibliche Geschlecht für die drei höchsten Altersklassen Anpassungen angeraten. Hier liegen die bisher publizierten Referenzgrenzen von Thomas (9) oberhalb der berechneten Konfidenzbereiche. Dabei sind die Abweichungen speziell für die berechneten Referenzgrenzen der höheren Altersstufen

am größten. Eine mögliche Erklärung ist, dass die übliche Ermittlung von Referenzgrenzen z. B. anhand von Messwerten von älteren Menschen schwer durchzuführen ist und die bisher publizierten Werte möglicherweise qualitativ weniger gut etabliert sind. Für die berechneten Altersstufen des im UKSH verwendeten Referenzbereichs ergaben sich ebenfalls nur Abweichungen für die unteren Referenzgrenzen.

Benutzt man die neuen errechneten Werte des RLE mit den niedrigeren unteren Referenzgrenzen, kann sich dies signifikant auf die Behandlung von Patienten auswirken. Für die Bestimmung der Erythrozytenzahl, die bei hämatologischen Erkrankungen wie Anämien, Leukämien, oder myelodysplastischen Syndromen verändert sein kann, kann die niedrigere untere Referenzgrenze von großer klinischer Relevanz sein. Zwar wird eine Therapieentscheidung in der Zusammenschau mit anderen Blutparametern und klinischer Symptomatik vorgenommen, dennoch sind Grenzen für einen Blutwert bedeutsam.

Mit dem RLE lassen sich außerdem individuellere, altersgruppenspezifischere Werte berechnen, die die Qualität der Referenzgrenzen erhöhen. Die oberen berechneten Referenzgrenzen liegen nur für vereinzelte Altersstufen höher als in der Literatur angegeben. Für diese Werte ist die klinische Relevanz ebenfalls vorhanden, da sie bei der Diagnostik von ausgewählten Erkrankungen, wie z. B. der Polycythämia vera, eine Rolle spielt, bei der es zu einer Polyglobulie kommt (21). Allerdings kann eine Cortisonbehandlung, die im klinischen Alltag bei entzündlichen Prozessen häufig zum Einsatz kommt, zu einer Mobilisierung von Zellen aus dem Knochenmark führen und damit, neben einer Leuko- und Thrombozytose, auch eine Erythrozytose bedingen (21). Daher kann sich auch eine Veränderung der oberen Referenzgrenze auf die Therapieentscheidung auswirken.

Die Werte nach Herklotz et al. (65) stimmen mit den berechneten Werten des RLE für das weibliche Geschlecht weitestgehend überein, auch wenn an dieser Stelle wieder beachtet werden muss, dass in der vorliegenden Arbeit andere Altersgruppen bei der Berechnung verwendet wurden (Tabelle 6). Es muss außerdem beachtet werden, dass Herklotz et al. (65) die Referenzgrenzen anhand der Referenzlimitmittelwerte verschiedener Studien ermittelte. Für das männliche Geschlecht zeigen sich Differenzen für die unteren Referenzgrenzen, die in den Berechnungen des RLE für die höheren Altersstufen geringere Werte zeigen als in der Publikation. Womöglich liegt dies erneut in der verminderten Patientenzahl begründet, was zu größeren Streuungen führt, die

mehr ins Gewicht fallen und in der vergleichenden Publikation konstante Probandenzahlen verwendet wurden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Referenzgrenzen für die Erythrozyten mit dem RLE problemlos berechnet werden konnten. Die Werte unterscheiden sich teilweise nur moderat von den etablierten Literaturwerten, zeigen aber oft statistisch relevante Unterschiede (außerhalb der Konfidenzintervalle) überwiegend für die unteren Referenzgrenzen. Die größten Abweichungen lassen sich in den höheren Altersklassen feststellen, was durch den größeren Anteil an pathologischen Grundwerten erklärt werden kann, wie die Histogramme zeigen. Die Berechnungen zeigen, dass für spezifische Altersklassen noch genauere Referenzgrenzen errechnet werden können, für diese aber auch auf eine präzise Datenselektion geachtet werden muss, um einen möglichst großen Anteil an pathologischen Werten aus den Berechnungen auszuschließen.

4.3 Referenzgrenzen des Hämoglobins

Wie Abbildung 9 zu entnehmen war, fielen die Referenzintervalle für beide Geschlechter zusammen in allen Altersstufen breiter aus als die geschlechter-getrennte Darstellung zeigte. Dies ist auf die breitere Verteilung zurückzuführen, die durch die vermehrte Anzahl an Werten und Streuungen zustande kommt, wenn beide Kohorten zusammengefasst werden. Betrachtet man nun die grafische Darstellung (Abbildung 9) geschlechtsspezifisch, sind die Referenzintervalle für die unteren Altersklassen (18-40, 41-60, 61-80 Jahre) schmaler. Die größte Breite des Referenzintervalls wird sowohl bei Männern als auch bei Frauen in der Gruppe 81-100 Jahre erreicht. Dabei ist das Intervall breiter als es für die Berechnung der Altersgruppe 18-100 Jahre (Referenzgruppe) der Fall ist, da deutlich weniger Patienten in die Berechnung eingegangen sind (Männer: 7804, Frauen: 12103). Im Vergleich gehen für die Gruppenberechnung 18-100 Jahre (Männer und Frauen) ca. 95000 Patientenwerte in die Berechnung ein. Schon die Differenz zwischen Männern ($N = 7804$) und Frauen ($N = 12103$) scheint sich in der Breite des Referenzintervalls auszuwirken, da es beim männlichen Geschlecht in dieser Gruppe am breitesten von allen Berechnungen ausfällt. Außerdem zeigte sich wie bei den Erythrozyten teilweise eine Rechtsverschiebung der Referenzbereiche (Mediane liegen dabei nicht mittig, sondern etwas nach links verschoben in den Referenzbereichen). Die Verteilungen zeigen erneut, dass die pathologischen

Werte primär im Bereich der unteren Referenzgrenzen angesiedelt sind, wie man Abbildung 24 entnehmen kann.

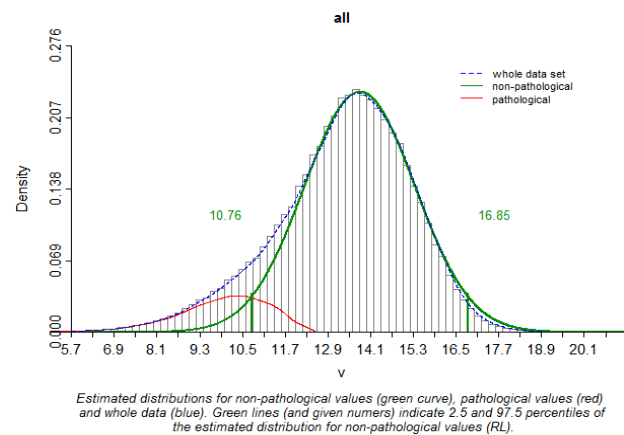


Abb. 24: Verteilung des Hämoglobins (RLE) für die Altersklasse 18-100 Jahre.

Die verbreiterten Referenzbereiche lassen sich durch die ebenfalls breiteren Werteverteilungen in den hohen Altersklassen erklären. Um dies aufzuzeigen, sind in Abbildung 25 die Messwerte der Männer für die Altersklasse 18-40 und 81-100 Jahre dargestellt.

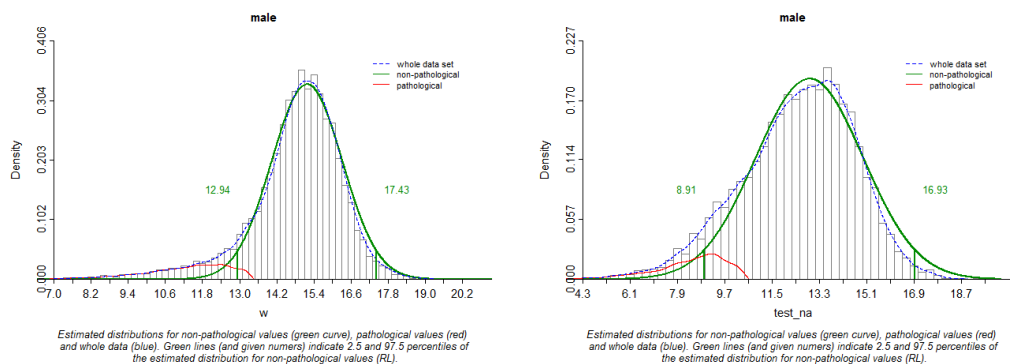


Abb. 25: Verteilungen des Hämoglobins (RLE) für die Altersklassen 18-40 und 81-100 Jahre (Männer).

Aus diesen Abbildungen ist zu erkennen, dass die Verteilung für die höhere Altersstufe (81-100 Jahre) deutlich breiter ausfällt und sich damit auch andere Referenzgrenzen ergeben. Zudem ist die Fläche unter der roten Linie vergrößert, was mit einem erhöhten Anteil an pathologischen Werten einhergeht. Für das weibliche Geschlecht zeigen sich die veränderten Verteilungen der Messwerte speziell in der Altersstufe 81-100 Jahre in der gleichen Weise. Somit kann auch dort der verbreiterte Referenzbereich

erklärt werden (Die Abbildungen zum weiblichen Geschlecht finden sich im Anhang). Bei der Überprüfung der Konfidenzintervalle wurden wie bei den Erythrozyten die Bereiche berechnet, in denen sich bisher genutzte Referenzgrenzen bewegen sollten. Dabei zeigte sich, dass mit Ausnahme einer Altersstufe (41-60 Jahre) für die unteren Referenzgrenzen für alle berechneten Altersgruppen Anpassungen angeraten sind. Für die obere Referenzgrenze wäre dies für das männliche Geschlecht in den Altersgruppen 41-60, 61-80 und 81-100 Jahre nötig, wobei die Literaturwerte teilweise nur knapp außerhalb der Intervalle lokalisiert sind. Die Werte der unteren Referenzgrenzen, die vom RLE ermittelt wurden, sind dabei niedriger als die Literaturwerte von Thomas (9). Damit bestätigt sich der Trend für die Erythrozyten, bei denen ebenfalls niedrigere untere Referenzgrenzen berechnet wurden. Kommt es nun zu einer Anwendung der Referenzgrenzen des RLE, dann hätte dies klinische Relevanz, insbesondere in der Diagnostik von Anämien oder der Diagnostik von Hämoglobinopathien wie z. B. den Thalassämien. Auch im klinischen Alltag bei der stationären Versorgung von Patienten sind Hb-Wert-Veränderungen häufig anzutreffen. So treten nach Operationen häufig Hb-Wert-reduzierende Nachblutungen auf, die Erythrozytentransfusionen nach sich ziehen können. Diagnostisch wird dabei auf die untere Grenze des Hb-Wertes geschaut, um eine Blutungsanämie erkennen zu können. Bei Werten ≤ 6 g/dl werden bereits bei entsprechender klinischer Verfassung des Patienten Erythrozytentransfusionen empfohlen (75). Liegt nun eine Referenzgrenze niedriger als zuvor, wird im klinischen Alltag möglicherweise eher von einer Transfusion abgesehen. Eine veränderte Referenzgrenze hat somit klinische Relevanz in der diagnostischen Entscheidungsfindung. Es sollte allerdings bedacht werden, dass eine Bluttransfusion aufgrund eines niedrigen Hb-Wertes nur in Verbindung mit einer klinischen Auffälligkeit des Patienten, wie zum z. B. Schwäche, Abgeschlagenheit und Unwohlsein, auftritt, da auch Patienten mit sehr niedrigen Hb-Werten klinisch völlig unauffällig sein können. Außerdem müssen bei einer Bluttransfusion immer die Transfusionsrisiken beachtet werden (76). So kann es zu Hämolysen und immunologischen (Anaphylaxie mit Urtikaria) bzw. nicht-immunologischen (Lungenödem, Hypervolämie) Abstoßungsreaktionen kommen, die den Patienten gefährden können. Die Berechnung für die im UKSH verwendeten Altersstufen nach Herklotz et al. (65) zeigen ebenso, dass alle unteren Referenzgrenzen außerhalb der Konfidenzintervalle liegen. Die oberen Referenzgrenzen liegen alle innerhalb dieses Vertrauensbereichs.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Referenzgrenzen für das Hämoglobin mit dem RLE ebenfalls problemlos berechnet werden konnten. Die Unterschiede zeigen sich ebenfalls überwiegend im Bereich der unteren Referenzgrenzen und zeigen die größten Abweichungen in den höheren Altersklassen, was durch den größeren Anteil an pathologischen Grundwerten erklärt werden kann (siehe Histogramme der Altersklassen im Anhang). Die Berechnungen zeigen aber auch, dass für spezielle Altersklassen noch genauere Referenzgrenzen errechnet werden können. Für die unteren Altersklassen unterscheiden sich die Werte zwar teilweise nur moderat von den etablierten Literaturwerten, sie zeigen aber statistisch relevante Unterschiede, da sie außerhalb der berechneten Konfidenzintervalle liegen.

4.4 Referenzgrenzen des Hämatokrits

Auch für den Hämatokrit-Wert bestätigten sich die Tendenzen von den vorherigen Parametern des roten Blutbildes: Die Referenzbereiche sind sowohl in der Darstellung beider Geschlechter zusammen, als auch bei der Altersklasse 81-100 Jahre deutlich breiter ausgefallen. Dies liegt auch wieder mit hoher Wahrscheinlichkeit an der größeren Streuung aufgrund weniger vorhandener Werte in der Altersgruppe 81-100 Jahre, die in die Berechnung des RLE eingingen. Auch liegt der Anteil der pathologischen Werte besonders in der Altersklasse 61-80 Jahre der Männer deutlich höher als in den Verteilungen der jüngeren Altersklasse (41-60 Jahre), was aus Abbildung 26 hervorgeht. Damit kann auch die Rechtsverschiebung des Referenzbereiches erklärt werden, da die unteren Referenzgrenzen in den Diagrammen wieder näher an den Medianen liegen.

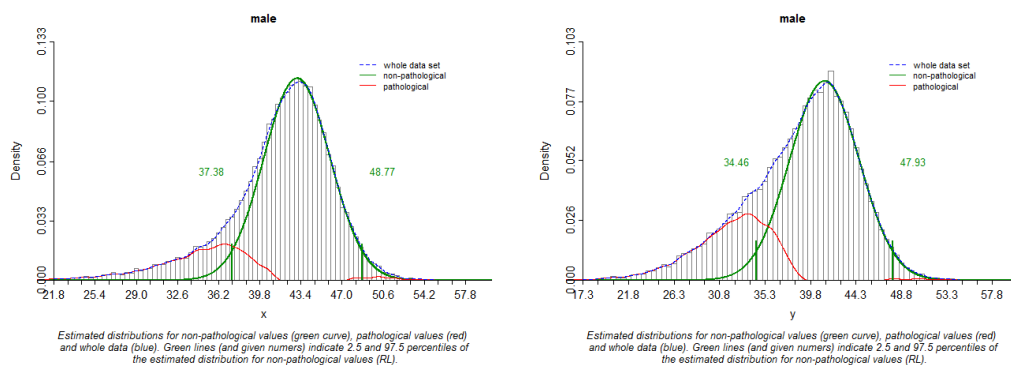


Abb. 26: Verteilungen des Hämatokrits (RLE) für die Altersklassen 41-60 und 61-80 Jahre für Männer.

Außerdem zeigt sich hier deutlich, dass die große Breite des Referenzintervalls in der Altersstufe 81-100 Jahre, die bei beiden Geschlechtern ermittelt wurde, durch die Verteilung bedingt ist, die der RLE berechnet (Abbildung 27). Dort kann man erkennen, dass im Vergleich der beiden Altersklassen die Stufe 81-100 Jahre eine deutlich breitere Verteilung zeigt und damit einen größeren Referenzbereich.

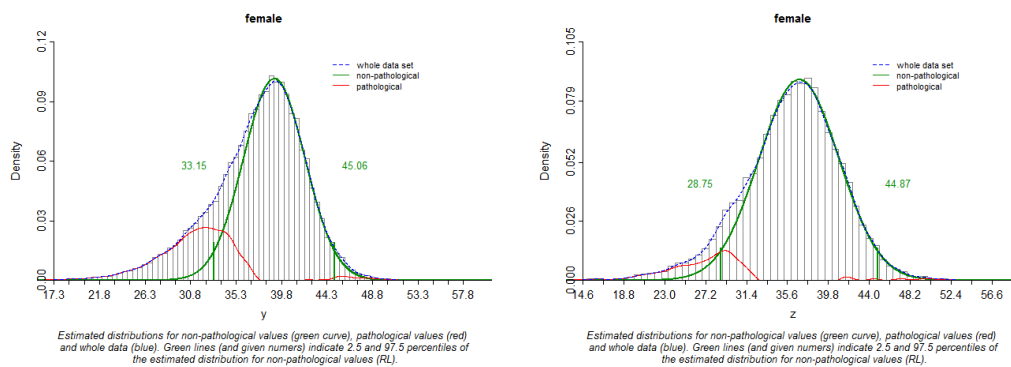


Abb. 27: Verteilungen des Hämatokrits (RLE) für die Altersklassen 61-80 und 81-100 Jahre für Frauen.

Beim Vergleich mit den Literaturangaben aus Thomas (9) konnten für den Hämatokrit-Wert Abweichungen bei allen Altersstufen ermittelt werden, sowohl für Männer als auch für Frauen. Sowohl das untere als auch das obere Referenzlimit müssten nach den Ergebnissen des RLE nach unten korrigiert werden, da sich die Werte unterhalb der Literaturgrenzen von Thomas (9) befinden. Der Hämatokrit-Wert ist der erste Wert in der bisherigen Darstellung, für den durchgängig für alle oberen Referenzgrenzen Anpassungen vorgeschlagen werden. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass die im Kollektiv vorhandenen Patienten große Schwankungen bei diesem Wert zeigen. So kann der Hämatokrit-Wert schon durch den Übergang vom Liegen zum Stehen durch die bedingte Orthostase um bis zu 13 %, beim Übergang vom Sitzen zum Stehen um 5 % erhöht werden. Zudem können Tagesschwankungen von bis zu 20 % auftreten. Weitere Einflussfaktoren sind Übergewicht, Trainingszustand, Höhenlage, Alkohol- und Nikotinkonsum, Venenstauung, Temperatur und akute physische als auch psychische Belastungen (65).

Betrachtet man anschließend die im UKSH genutzten Referenzgrenzen, liegen hierfür überwiegend die unteren Referenzgrenzen außerhalb der berechneten Konfidenzintervalle. Dabei fielen die berechneten Werte des RLE ebenfalls niedriger aus, wobei die Differenz dabei insgesamt moderat ist. Die oberen Referenzgrenzen hingegen müssten nur beim männlichen Geschlecht für die Altersklassen 18-50 und 50-65 Jahre

angepasst werden (die Werte liegen aber nur sehr knapp außerhalb der berechneten Intervalle). Alle anderen Referenzgrenzen, insbesondere die der Frauen, liegen innerhalb des Konfidenzintervalls.

Insgesamt zeigte sich in den Diagrammen (Abbildung 12), dass die Referenzbereiche im Vergleich zu den abgebildeten Medianen zu höheren Werten verschoben sind. Bei Betrachtung der exakten Referenzgrenzen und dem Vergleich mit den Literaturwerten fiel aber auf, dass die untere als auch die obere Grenze nach unten verschoben sind und außerhalb der Konfidenzintervalle angesiedelt sind. Damit berechnen sich für den Hämatokrit für alle Altersstufen und beide Geschlechter statistisch relevante Unterschiede. Besonders in der Bewertung von Anämien bei chronischen Blutverlusten ist die untere Referenzgrenze des Hämatokrits bedeutend. Im Vergleich zu den anderen Parametern des roten Blutbildes ist jedoch auch die obere Referenzgrenze von Bedeutung, da einige Krankheiten durch einen erhöhten Hämatokrit-Wert charakterisiert sind wie z. B. die Polycythämia vera oder die weit verbreitete Stoffwechselerkrankung Diabetes Mellitus Typ 2. Eine Verschiebung könnte damit zu anderen Interpretationen der Laborergebnisse führen.

Zusammenfassend kann man erneut feststellen, dass die Referenzgrenzen für den Hämatokrit mit dem RLE wie bei den Erythrozyten und beim Hämoglobin problemlos berechnet werden konnten. Die Unterschiede zeigen sich aber im Bereich der unteren und der oberen Referenzgrenzen und zeigen die größten Abweichungen erneut in den höheren Altersklassen im Vergleich zu den etablierten Referenzgrenzen, was durch die breiteren Verteilungen erklärt werden kann. Die Berechnungen zeigen aber auch, dass für spezielle Altersklassen noch genauere Referenzgrenzen errechnet werden können: hier besonders für die oberen Referenzgrenzen. Für alle Altersklassen unterscheiden sich die etablierten Literaturwerte wesentlich deutlicher als man es bei den Erythrozyten und beim Hämoglobin sehen konnte. Damit ließen sich für den Hämatokrit eventuell noch genauere Referenzgrenzen für die klinische Praxis ableiten. Für zukünftige Untersuchungen ist die Datenselektion - wie auch bei den anderen Erythrozytenparametern - von großer Bedeutung. Für die ersten drei diskutierten Parameter ist darum eventuell eine Datenelimination für hämatologische Patienten sinnvoll, die signifikanten Einfluss auf das rote Blutbild erwarten lassen.

4.5 Erythrozytenindizes

4.5.1 Altersabhängigkeit der Erythrozytenindizes

Die Erythrozytenindizes spielen eine bedeutsame Rolle in der Differentialdiagnostik von Anämien. Die Diskussion zu den drei Erythrozytenindizes MCH, MCV und MCHC soll ebenfalls gemeinsam erfolgen, da im Ergebnisteil gezeigt werden konnte, dass besonders die altersabhängigen Mediane des MCHs und des MCVs sehr ähnliche Charakteristika zeigen (Abbildungen 13, 16). Das MCH wird dabei als der Quotient von Hämoglobin- und Erythrozyten-Wert berechnet, das MCV ist der Quotient aus Hämatokrit- und Erythrozyten-Wert, das MCHC berechnet sich als Quotient von Hämoglobin- und Hämatokrit-Wert.

Bei der Betrachtung des MCHs und des MCVs (Abbildungen 13, 16) fiel zunächst der Anstieg der Werte bis zum Alter von ca. 50 Lebensjahren auf, dann blieben die Werte konstant auf einem Niveau. Auch bei der Betrachtung der altersabhängigen Mediane für Männer und Frauen getrennt fiel der zunehmende Trend sowohl für das MCH als auch das MCV auf (Abbildungen 14, 17). Die Erhöhung der altersabhängigen Mediane des MCHs und MCVs weisen auf vergrößerte Zellen hin, so wie es bei einer makrozytär-hyperchromen Anämie bekannt ist. Dies bedeutet, dass Erythrozyten im Blut zirkulieren, die wiederum einen erhöhten Anteil an Hämoglobin enthalten. Für diese Überlegung spricht auch, dass sich die Erythrozyten vom 18. bis zum 100. Lebensjahr stetig reduziert gezeigt haben (Abbildungen 4, 7, 10) und möglicherweise mehr Hämoglobin enthalten könnten.

Bei der Betrachtung der Altersmediane für das weibliche Geschlecht zeigten sich für die Indizes MCH, MCV ähnliche Altersabhängigkeiten wie beim Hämoglobin und Hämatokrit: Die altersabhängigen Altersmediane nehmen zu und zeigen etwa ab dem 50. bis 60. Lebensjahr einen Knick. Wie bei den vorherigen Parametern (Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit) bereits beschrieben, ist diese Veränderung möglicherweise auf das Klimakterium und die Menopause des weiblichen Geschlechts zurückzuführen aufgrund einer Abnahme der physiologischen Östrogenproduktion (70). Jedoch muss an dieser Stelle erneut auch die automatische Skalierung des RLE berücksichtigt werden, der eine unterschiedliche Skalierung der Y-Achse für die Darstellungen der Messwerte des männlichen und weiblichen Geschlechts vornimmt. Dabei wird die Y-Achse für das weibliche Geschlecht wieder deutlich gröber skaliert, womit auch kleine Unterschiede in den Werten der altersabhängigen Mediane sichtbar werden und man

insgesamt konstatieren kann, dass sich die Darstellungen der Männer und Frauen nicht wesentlich voneinander unterscheiden. Die Absolutwerte sind sich sogar relativ ähnlich, wie z.B. am MCV deutlich wird: Hier liegen die altersabhängigen Mediane der Männer als auch der Frauen zu Beginn des Graphen bei ca. 84 fl.

Für den MCHC-Wert wird der Quotient aus Hämoglobin und Hämatokrit gebildet. Während sich das MCH und MCV auf einen einzelnen Erythrozyten beziehen und dementsprechend in proportionaler Beziehung zueinander stehen, wird die MCHC auf die Gesamtmasse aller Erythrozyten bezogen und ist damit unabhängig von der Größe der Erythrozyten. Die MCHC kann in der Diagnostik von Eisen-, Kupfer- und Vitamin-B6-Mangel herangezogen werden. Die Altersabhängigkeiten des MCHC zeigten sowohl für das männliche als auch das weibliche Geschlecht abnehmende Werte im höheren Alter (Abbildung 20). Dabei zeigte sich ein nahezu stetiger Abfall der Mediane im Verlauf. Diese Ergebnisse erscheinen plausibel, da die Messwerte des Hämoglobins und des Hämatokrits weitgehend ähnliche Altersabhängigkeiten zeigten. Für das weibliche Geschlecht zeigt der Kurvenverlauf des MCHCs im höheren Alter eine stärkere Abnahme der Werte als bei den Männern, was auch auf die individuell gewählte Achsenskalierung des RLE zurückzuführen ist, die die Darstellung des Kurvenverlaufs beeinflusst und manuell im Programm des RLE nicht verändert werden kann. Für die Erythrozytenindizes MCH, MCV und MCHC leitet sich aus den altersabhängigen Medianen ab, dass es sinnvoll zu sein scheint, altersabhängige Referenzgrenzen zu berechnen. Eine geschlechtsspezifische Differenzierung erscheint hingegen nicht ange raten.

Wie auch bei den Erythrozyten, dem Hämoglobin und dem Hämatokrit fallen für die Erythrozytenindizes die großen Schwankungen zum Ende hin auf, was wieder auf die geringere Anzahl an Messwerten zurückzuführen und als statistisches Rauschen zu werten ist. Für das MCV, das zusammen aus der Erythrozytenzahl und dem Hämatokrit errechnet wird, könnte der Hämatokrit auch für die großen Schwankungen am Kurvenende mitverantwortlich gemacht werden, da dieser z. B. bei exsikkierten Patienten schnell verändert sein kann (41).

Zu den drei Erythrozytenindizes wurden ebenfalls Spearman-Rangkorrelationen mit weiteren Parametern aus der klinischen Chemie berechnet, die auch hier signifikante Korrelationskoeffizienten zeigten, die aber erneut teilweise äußerst gering sind. Dabei ergaben sich positive Koeffizienten für das Retikulozyten-Hämoglobin sowohl für das

MCH ($r = 0,528$), das MCV ($r = 0,144$) und die MCHC ($r = 0,307$). Das Retikulozyten-Hämoglobin ist ein früher Marker einer Eisenmangelanämie. Bei einem funktionellen Eisenmangel sind die Eisenreserven des Körpers zwar nicht erschöpft, das Eisen kann aber in der Erythropoese nicht vollständig verwertet werden. Der Vorteil des Retikulozyten-Hämoglobins liegt in der relativ zeitnahen Detektion des Eisenmangels, da die Reifungszeit der Retikulozyten nur wenige Tage beträgt und sie nur 1-3 Tage im peripheren Blut zirkulieren (51). Die Ergebnisse könnten für einen funktionellen Eisenmangel oder eine Eisenmangelanämie sprechen, die bei den Patienten vorliegen könnten. Jedoch sind die Koeffizienten, mit Ausnahme vom MCH ($r = 0,528$), äußerst gering. Eine Eisenmangelanämie könnte durch das Akute-Phase-Protein Ferritin verifiziert werden, jedoch ließen sich auch hier keine aussagekräftigen Korrelationen berechnen ($r = 0,042$). Für das MCHC zeigt sich außerdem ein negativer Korrelationskoeffizient zum löslichen Transferrinrezeptor ($r = -0,281$). Dies würde ebenso für eine Eisenmangelanämie sprechen, jedoch ist der Koeffizient ebenfalls zu gering.

Auch für die Erythrozytenindizes kann festgestellt werden, dass sich keine nennenswerten Zusammenhänge ergeben. Lediglich der moderate Zusammenhang zwischen MCH und dem Retikulozyten-Hämoglobin ($r = 0,528$) könnte Hinweise für eine Eisenmangelanämie oder einen funktionellen Eisenmangel geben. Damit kann insgesamt der Rückschluss gezogen werden, dass die Messwerte wenig pathologisch beeinflusst zu sein scheinen und damit gut für die Berechnungen mit dem RLE geeignet sind. Es zeigt sich aber auch erneut, dass es sinnvoll ist, altersspezifische Referenzgrenzen zu berechnen, da sich die altersabhängigen Mediane im Altersverlauf unterscheiden.

4.5.2 Referenzgrenzen der Erythrozytenindizes

Auch für das MCH können für die Altersklassen, in denen der Referenzbereich breiter ausfällt, entsprechende breitere Verteilungen (Histogramme) des RLE gezeigt werden. Für das männliche Geschlecht zeigte sich dies für die Altersgruppe 61-80 Jahre (Abbildung 15), wo der Referenzbereich breiter ausfällt als für die Altersstufe 81-100 Jahre, was in Abbildung 28 deutlich wird. Für beide Altersklassen hatte der Median aber den gleichen Wert (30,30 pg; Tabelle 16). Interessant dabei ist, dass der RLE für die Altersklasse 81-100 mehr pathologische Werte detektiert als in der Altersstufe 61-80, was wieder in der Fläche unter der roten Linie zum Ausdruck kommt.

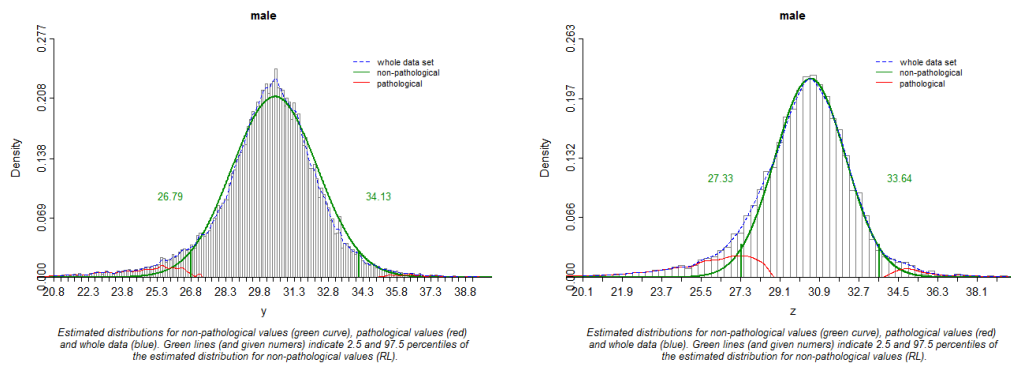


Abb. 28: Verteilungen des MCHs (RLE) für die Altersklassen 61-80 und 81-100 Jahre (Männer).

Genauso konnte man es auch bei den Frauen feststellen: Der Referenzbereich für 61-80 Jahre fällt auch hier breiter aus und die Verteilungen zeigen die gleiche Charakteristik wie für die Männer (die Histogramme finden sich im Anhang der Arbeit). Somit scheint der Anteil an pathologischen Werten, der vom RLE berechnet wird, nicht zwangsläufig Einfluss auf die Lage einer Referenzgrenze zu haben. Diese Beobachtung hatte man aber bei Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit machen können, wo sich durch vermehrte pathologische Werte Einflüsse auf die Referenzgrenzen, zu höheren oder niedrigeren Werten, ergaben. Außerdem scheint die Anzahl der Messwerte nicht mehr ganz so entscheidend zu sein, da für die bisher diskutierten Erythrozytenparameter (Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit) eigentlich die Altersklasse 81-100 Jahre mit den wenigsten Werten auch die breitesten Referenzbereiche ergab. Für die Berechnungen mit dem RLE könnte das bedeuten, dass auch mit einer geringeren Anzahl an Messwerten zuverlässige Referenzgrenzen berechnet werden können.

Die Referenzgrenzen nach Thomas (9) liegen für das MCH nur für einige Altersklassen der unteren Referenzgrenzen außerhalb der berechneten Konfidenzintervalle. Für die Referenzgrenzen von Herklotz et al. (65) liegen alle innerhalb der Intervalle. Für das MCV und das MCHC ergeben sich auch nur einzelne Werte außerhalb. Dabei kann insgesamt konstatiert werden, dass die bisherigen Referenzgrenzen aus der Literatur nur sehr knapp außerhalb der berechneten Intervalle lokalisiert sind und damit insgesamt nur geringe statistisch relevante Unterschiede bestehen. Es ist in Frage zu stellen, ob diese geringen Unterschiede zu den bisherigen Referenzgrenzen in der klinischen Anwendung überhaupt ins Gewicht fallen, da eine Therapieentscheidung nur zusammen mit weiteren klinischen Befunden erfolgen sollte.

Außerdem gestaltet sich die Interpretation für die Referenzgrenzenanpassungen der

Erythrozytenindizes schwierig, da es für sie keine einheitliche Charakteristik zu geben scheint, an der sich die berechneten Referenzgrenzen orientieren: Im Vergleich dazu konnten für Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit speziell die unteren Referenzgrenzen als anpassungsrelevant detektiert werden, für die Indizes ist dies nicht der Fall. Dies lässt darauf schließen, dass der verwendete Patientenpool mögliche Variationen innerhalb der Parameter aufweist, was zu unterschiedlichen Messwerten und Streuungen führt. Dies ist erstaunlich, da die Erythrozytenindizes aus den ersten drei Parametern (Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit) rechnerisch ermittelt werden und man darum das gleiche Verhalten für die Referenzgrenzen erwarten würde. Eine noch präzisere Filterung der Daten könnte möglicherweise qualitativ noch bessere Ergebnisse erbringen, die noch präzisere Referenzbereiche für bestimmte Patienten- und Altersgruppen hervorbringen würden. Auf der anderen Seite muss berücksichtigt werden, dass die Angaben aus der Fachliteratur wie Thomas (9) sehr etablierte Werte sind, die anhand gesunder Probandenpopulation ermittelt worden sind. Somit zeigt der Vergleich, dass die Berechnungen des RLE insgesamt sehr nahe an diesen Werten zu finden sind und damit der RLE eine sehr hohe Genauigkeit aufweist. Dies fällt besonders beim Vergleich mit den Referenzgrenzen nach Herklotz (65) auf: Mit dem RLE können die Berechnungen der Referenzgrenzen für genau diese Altersstufen manuell eingestellt und anschließend mit den etablierten Werten verglichen werden. Auf der anderen Seite bietet der RLE die Möglichkeit, Referenzgrenzen für eigens definierte Altersstufen zu berechnen und dies bietet für die Zukunft möglicherweise noch präzisere Angaben zu verschiedenen Patienten- und Altersgruppen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die etablierten Referenzgrenzen aus der Literatur für die Erythrozytenindizes insgesamt mit den Berechnungen des RLE vergleichbar sind und weniger außerhalb der Konfidenzintervalle liegen, als man es für die Erythrozyten, das Hämoglobin und den Hämatokrit beobachten konnte. Die Breite der Messwerte und die Menge an pathologischen Werten in den Histogrammen machen aber deutlich, dass für zukünftige Berechnungen eine noch präzisere Datenauswahl erfolgen sollte.

4.6 Vergleich zwischen dem RLE und der IFCC-Methode

Bei der Berechnung von Referenzbereichen hat die IFCC-Methode gegenüber dem RLE den Vorteil, dass zuvor exakte Ein- und Ausschlusskriterien bei der Auswahl der

Referenzindividuen definiert werden. Somit können für Parameter wie die Erythrozyten bestimmte „Zielerkrankungen“ wie beispielsweise eine Polyglobulie, die bei einer Polycythaemia vera vorliegen kann und zu erhöhten Erythrozytenzahlen führt, ausgeschlossen werden. Die Nachteile dieser Methode zeigen sich aber bei der Rekrutierung von geeigneten Referenzindividuen: Diese ist mit einem hohen administrativen und experimentellen Aufwand und entsprechenden Kosten verbunden, die nicht für jedes Labor und jeden Analyten mit angemessenem Aufwand durchführbar ist. Es bedarf außerdem einer statistischen Aufarbeitung der Messwerte, da diese mit dem Kolmogorov-Smirnov- oder dem Anderson-Darling-Test auf Normalverteilung getestet und gegebenenfalls durch Logarithmierung in eine Normalverteilung transformiert werden müssen. Eine altersspezifische Stratifizierung gestaltet sich weiterhin schwierig, da u. a. Kinder und Senioren von einer Blutspende ausgeschlossen sind, oder nicht ausreichend Referenzindividuen rekrutiert werden können.

Mit dem RLE lassen sich hingegen definierte Altersgruppen auswählen und spezifische Referenzgrenzen berechnen, wobei auf laboreigene Messwerte des ansässigen Krankenhauses bzw. Labors zugegriffen wird. Damit kann auch ein laborübergreifender Transfer von Referenzbereichen zu anderen Kliniken vermieden werden. Diese könnten möglicherweise Referenzbereiche beinhalten, die nicht regions- oder labor-spezifisch sind. Zusätzliche Untersuchungen von Patienten zum Ausschluss von definierten Krankheiten, die die Blutparameter beeinflussen könnten, entfallen. Jedoch liegen pathologische Messwerte in den laboreigenen Kollektiven vor. Der RLE kann über mathematische Verfahren die pathologischen von den physiologischen Werten abgrenzen und Referenzgrenzen für definierte Altersabschnitte berechnen. Dies ist ein wesentlicher Vorteil des RLE gegenüber der IFCC-Methode. Kritisch anzumerken ist jedoch die Tatsache, dass der RLE voraussetzt, dass der Hauptteil der Daten (mindestens 95 %) physiologisch ist. Aus diesem Grund wurden für die Berechnungen intensivmedizinische und gynäkologische Stationen aus den Kollektiven eliminiert, da diese einen hohen Anteil an pathologischen Werten vermuten lassen. Dennoch zeigten die Verteilungen des RLE, dass vermehrt im Bereich der unteren Referenzgrenzen pathologische Werte vorliegen und diese möglicherweise die Abweichungen zu etablierten Referenzgrenzen erklären. Für zukünftige Anwendungen des RLE könnte darum eine vorherige Datenselektion von Bedeutung sein: Für das Beispiel der Erythrozytenparameter sollten deshalb Messwerte von Patienten mit hämatologischen Krankheitsbildern wie Anämien, Polyglobulien, Leukämien, etc. von den Berechnungen

ausgeschlossen werden. Dies könnte auch auf Basis von Krankenhausabteilungen passieren, indem z. B. internistische Fachbereiche ausgeschlossen werden. Es könnten auch Klinikbereiche gewählt werden, die für die zu untersuchenden Parameter nur wenige pathologische Messwerte vermuten lassen. Zum Beispiel wären für hämatologische Parameter Messwerte einer orthopädischen Klinik zu bevorzugen. Dadurch würde man sich dem IFCC-Verfahren annähern, da vorab ebenfalls Ein- und Ausschlusskriterien definiert werden würden. Maßgeblich ist dabei nicht, dass eine gesunde Patientenkohorte rekrutiert wird, sondern dass für den zu untersuchenden Parameter die beeinflussenden Erkrankungen herausgefiltert werden. Dank des großen Datenkollektivs des UKSHs würden trotzdem genug Messwerte zur Verfügung stehen, um valide Referenzgrenzen berechnen zu können. Bei Laboratorien mit kleineren Kollektiven könnten nach Selektion für die Berechnungen mit dem RLE jedoch zu wenige Messwerte zur Verfügung stehen, was die Qualität der Referenzgrenzenberechnungen beeinflusst.

Des Weiteren wurden für die Berechnungen mit dem RLE nur die ersten Messwerte eines Patienten verwendet. Jedoch sind diese tendenziell „pathologischer“, da der Patient erkrankt im Krankenhaus aufgenommen wird. Daher wäre eventuell die letzte Messung eines Patienten zu wählen, die vielleicht eher eine abschließende Kontrollmessung vor der Entlassung ist und somit eher einem physiologischen Wert entspricht. Anknüpfend an diese Überlegung könnte auch die Auswahl der Messzeitpunkte Einfluss auf die Berechnungen mit dem RLE haben: An Wochenenden und Feiertagen werden in der Regel nur Notfallpatienten und dringende Untersuchungen durchgeführt. Dadurch muss mit potentiell mehr pathologischen Fällen gerechnet werden. Für zukünftige Berechnungen wäre dies ebenfalls eine Möglichkeit, die Menge an pathologischen Werten zu reduzieren.

5 Zusammenfassung

Der Reference Limit Estimator bietet die Möglichkeit, mit einer indirekten, mathematischen Methode aus laboreigenen Messwerten Referenzgrenzen zu berechnen. Diese Methode wurde auf die im Zentrallabor des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein und dessen Laborverbund zur Verfügung stehenden Daten angewandt.

Zunächst wurden die Daten selektiert, indem fünf große Laborstandorte ausgewählt wurden. Außerdem wurden gynäkologische Kliniken und Intensivstationen aufgrund von anzunehmenden höheren Anteilen an pathologischen Blutveränderungen ausgeschlossen. Weiterhin wurden Mehrfachmessungen eines Falles für die Datenauswahl eliminiert. Da Daten von zwei unterschiedlichen Analysegeräten von verschiedenen Standorten vorlagen, erfolgte zunächst eine Prüfung auf Äquivalenz der Geräte, die durch den Two-One-sided-T-Test (TOST) bestätigt werden konnte. Am Ende standen für die Berechnungen pro Parameter ca. 200.000 Werte zur Verfügung. Untersucht wurden sechs unterschiedliche Erythrozytenparameter: Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit sowie die Erythrozytenindizes MCH, MCV und MCHC, aus denen schließlich geschlechtsspezifische Referenzgrenzen für fünf verschiedene Altersklassen zwischen 18 und 100 Jahren erfolgreich berechnet werden konnten. Diese wurden anschließend mit etablierten Referenzgrenzen aus der Literatur (9,65) verglichen und auf statistisch relevante Abweichungen begutachtet. Für diese wurde geprüft, ob sie sich innerhalb der zulässigen Konfidenzintervalle befinden. Die berechneten Referenzbereiche fielen im Vergleich zu den in der Literatur publizierten Werten etwas breiter aus. Die Abweichungen zeigen sich insbesondere im Bereich der unteren Referenzgrenzen sowohl für das weibliche als auch das männliche Geschlecht bei einzelnen Altersstufen. Für den oberen Referenzbereich errechnen sich nur dezente Abweichungen für den Hämatokrit und das MCV bei einzelnen Altersstufen. Die Abweichungen fallen meist für die höheren Altersstufen größer aus, was durch die geringere Anzahl an Messwerten und dem prozentual höheren Anteil an pathologischen Werten erklärt werden könnte, die in den grafischen Darstellungen des Reference Limit Estimators sichtbar wurden. Für zukünftige Analysen mit dem Reference Limit Estimator sollten daher noch präzisere Datenselektionen vorgenommen werden. Für die Referenzgrenzenbestimmung der Erythrozytenparameter können diesbezüglich Patienten aus dem hämatologisch-onkologischen Spektrum Einfluss auf die Berechnungen haben. Um diese

Einflüsse zu überprüfen, müssten aber noch weitere Vergleiche mit Referenzgrenzen erfolgen, z. B. durch den Vergleich mit Blutspendern, die gesunde Blutwerte ohne pathologische Einflüsse liefern würden.

Den berechneten Referenzgrenzen des Referenz Limit Estimators zufolge kann es für die klinische Anwendung von Laborbefunden sinnvoll sein, alters- und geschlechtsspezifische Referenzgrenzen für Patientinnen und Patienten zu nutzen, was eine individuellere Einordnung und Interpretation besonders in der klinischen Diagnostik von Anämien und hämatologischen Erkrankungen ermöglicht.

6 Literaturverzeichnis

1. Solberg HE. Approved recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. Clin Chim Acta. 1987;165(1): 111–8.
2. PetitClerc C, Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. Clin Chim Acta. 1987;170(2–3):1–11.
3. Solberg HE, PetitClerc C. Approved recommendation (1988) on the theory of reference values. Part 3. Preparation of individuals and collection of specimens for the production of reference values. Clin Chim Acta. 1988;177(3):3–11.
4. Solberg HE, Stamm D. IFCC recommendation: The theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfer and application of reference values. J Automat Chem. 1991;13(5):231–4.
5. Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. Clin Chim Acta. 1987;170(2–3):13–32.
6. Dybkær R, Solberg HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 6. Presentation of observed values related to reference values. Clin Chim Acta. 1987;170(2–3):33–41.
7. Arndt T. Normalwerte und Referenzintervalle – zur Transversalbeurteilung in der Labordiagnostik. Toxichem Krimtech. 2016;83(1):29–34.
8. Deutsches Rotes Kreuz. Alles für Neuspender - Was Sie vor der ersten Blutspende wissen sollten. [Internet]. 2018 [zitiert 17. März 2018]. Verfügbar unter: <https://www.blutspende-nordost.de/blutspende/alles-fuer-neuspender-spenderinformationen/vor-ersten-blutspende-wissen-sollten.php>
9. Thomas L. Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. elek. Aufl. Frankfurt am Main: TH-Books Verl.-Ges; 2016.
10. Nebe T, Bentzien F, Bruegel M, Fiedler GM, Gutensohn K, Heimpel H, u. a. Multizentrische Ermittlung von Referenzbereichen für Parameter des maschinellen Blutbildes. LaboratoriumsMedizin. 2011;35(1):3–28.

11. Fairbanks VF, Tefferi A. Normal ranges for packed cell volume and hemoglobin concentration in adults: Relevance to „apparent polycythemia“. *Eur J Haematol.* 2000;65(5):285–96.
12. Klinken SP. Regulation of hemopoietic system. *Int J Biochem Cell Biol.* 1999; 31(10):983–9.
13. Ashman LK. The biology of stem cell factor and its receptor c-kit. *Int J Biochem Cell Biol.* 1999;31(10):1037–51.
14. Schmidt RF, Lang F, Heckmann M. *Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie.* 31. Aufl. Heidelberg: Springer-Medizin-Verl; 2010.
15. Hoyer J, Kuhlmann U. *Nephrologie: Pathophysiologie, Klinik, Nierenersatzverfahren.* 6. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2015.
16. Jelkmann W. Regulation of erythropoietin production. *J Physiol.* 2011;589(Pt 6): 1251–8.
17. Gulati GL, Hyun BH. The automated cbc. A current perspective. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1994;8(4):593–603.
18. Kulozik AE. Beta thalassemia: molecular pathogenesis and clinical variability. *Klin Pädiatr.* 1991;203(4):276–83.
19. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Erythropoese. In: *Klinik und Labor Eisenstoffwechsel und Anämien.* Vienna: Springer; 2002. S. 17–22.
20. Beutler E, Waalen J. The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? *Blood.* 2006;107(5):1747–50.
21. Renz-Polster H, Krautzig S. *Basislehrbuch Innere Medizin: kompakt, greifbar, verständlich.* 5. Aufl. München: Urban & Fischer; 2013.
22. Huber AR, Ottiger C, Risch L, Regenass S, Hergersberg M, Herklotz R. Anomale Hämoglobine: Erscheinungsbilder und Abklärung. *Schweiz Med Forum.* 2004; 4:921–6.
23. Bull BS, Koepke JA, Simson E, van Assendelft OW. Procedure for determining packed cell volume by the microhematocrit method; approved standard - third edition procedure for determining packed cell volume by the microhematocrit method. *Nccls document H7-A3.* 2000;20(18).
24. Sawka MN, Convertino VA, Eichner ER, Schnieder SM, Young AJ. Blood volume: importance and adaptations to exercise training, environmental stresses, and trauma/sickness. *Med Sci Sport Exerc.* 2000;32(2):332–48.

25. Gaston RS, Julian BA, Curtis JJ. Posttransplant erythrocytosis: an enigma revisited. *Am J Kidney Dis.* 1994;24(1):1–11.
26. Bruhn HD, Junker R, Schäfer H, Schreiber S. *LaborMedizin: Indikationen, Methodik und Laborwerte, Pathophysiologie und Klinik.* 3. Aufl. Stuttgart: Schattauer; 2011.
27. Wisser H. Störungen der Messgrößen des kleinen Blutbildes durch Antikörper. *Labor Medizin.* 1995;18(1):83–6.
28. Fandrey J, Hallek M. Erythropoese: Physiologie, Pathophysiologie und Algorithmus zur Abklärung von Anämien. *Internist.* 2015;56(9):970–7.
29. Hicks JM, Cook J, Godwin ID, Soldin SJ. Vitamin B12 and folate. Pediatric reference ranges. *Arch Pathol Lab Med.* 1993;117(7):704–6.
30. Pfeiffer CM, Johnson CL, Jain RB, Yetley EA, Picciano MF, Rader JI, u. a. Trends in blood folate and vitamin B-12 concentrations in the United States, 1988-2004. *Am J Clin Nutr.* 2007;86(3):718–27.
31. Leischker AH, Kolb GF. Vitamin-B12-Mangel im Alter. *Z Gerontol Geriatr.* 2015; 48(1):73–90.
32. Campbell AK, Miller JW, Green R, Haan MN, Allen LH. Plasma Vitamin B-12 Concentrations in an Elderly Latino Population Are Predicted by Serum Gastrin Concentrations and Crystalline Vitamin B-12 Intake. *J Nutr.* 2003;133(9):2770–6.
33. Mézière A, Audureau E, Vairalles S, Krypciak S, Dicko M, Monié M, u. a. B12 deficiency increases with age in hospitalized patients: A study on 14,904 samples. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 2014;69(12):1576–85.
34. Krasinski SD, Russell RM, Samloff IM, Jacob RA, Dallal GE, McGandy RB, u. a. Fundic Atrophic Gastritis in an Elderly Population: Effect on Hemoglobin and Several Serum Nutritional Indicators. *J Am Geriatr Soc.* 1986;34(11):800–6.
35. Halsted CH, Griggs RC, Harris JW. The effect of alcoholism on the absorption of folic acid (H3-PGA) evaluated by plasma levels and urine excretion. *J Lab Clin Med.* 1967;69(1):116–31.
36. Joosten E, Van den Berg A, Riezler R, Naurath HJ, Lindenbaum J, Stabler SP, u. a. Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B-12 (cobalamin), folate, and vitamin B-6 occur commonly in elderly people. *Am J Clin Nutr.* 1993;58(4): 468–76.

37. Elwood PC, Shinton NK, Wilson CID, Sweetnam P, Frazer AC. Haemoglobin, Vitamin B 12 and Folate Levels in the Elderly. *Br J Haematol.* 1971;21(5):557–63.
38. Cotter PD, May A, Fitzsimons EJ, Houston T, Woodcock BE, Al-Sabah AI, u. a. Late-onset X-linked sideroblastic anemia missense mutations in the erythroid δ -aminolevulinate synthase (ALAS2) gene in two pyridoxine- responsive patients initially diagnosed with acquired refractory anemia and ringed sideroblasts. *J Clin Invest.* 1995;96(4):2090–6.
39. Thieme VG, Peter A. C-reaktives Protein bei rheumatischen Erkrankungen. Bd. 39, *Z. Physiother. Jg.* 1987.
40. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2004;10(5):661–5.
41. Herold G. *Innere Medizin: Eine vorlesungsorientierte Darstellung.* Köln: Herold, Gerd; 2018.
42. Hamer M, Molloy GJ. Cross-sectional and longitudinal associations between anemia and depressive symptoms in the English Longitudinal Study of Ageing. *J Am Geriatr Soc.* 2009;57(5):948–949.
43. Zaider E, Bickers DR. Clinical laboratory methods for diagnosis of the porphyrias. *Clin Dermatol.* 1998;16(2):277–93.
44. Kolyvanos Naumann U, Krayenbühl AP, Käser L, Vetter W. Mikrozytose/ Mikrozytäre Anämie. *Praxis (Bern 1994).* 2005;94(32):1191–7.
45. Milman N, Andersen HC, Strandberg Pedersen N. Serum ferritin and iron status in „healthy“ elderly individuals. *Scand J Clin Lab Invest.* 1986;46(1):19–26.
46. Casale G, Bonora C, Migliavacca A, Zurita IE, De Nicola P. Serum ferritin and ageing. *Age Ageing.* 1981;10(2):119–22.
47. Milman N, Pedersen NS, Visfeldt J. Serum ferritin in healthy Danes: relation to marrow haemosiderin iron stores. *Dan Med Bull.* 1983;30(2):115–20.
48. Qvist I, Nordén Å, Olofsson T. Serum ferritin in the elderly. *Scand J Clin Lab Invest.* 1980;40(7):609–13.
49. Cook JD, Flowers CH, Skikne BS. The quantitative assessment of body iron. *Blood.* 1. Mai 2003;101(9):3359–64.
50. Bowman BH, Yang F, Adrian GS. Transferrin: Evolution and Genetic Regulation of Expression. *Adv Genet.* 1988;25(C):1–38.

51. Thomas L, Thomas C, Heimpel H. Neue Parameter zur Diagnostik von Eisenmangelzuständen: Retikulozytenhämoglobin und löslicher Transferrinrezeptor. *Dtsch Arztebl Int.* 2005;102(9):A-580.
52. Brugnara C. Use of reticulocyte cellular indices in the diagnosis and treatment of hematological disorders. *Int J Clin Lab Res.* 1998;28(1):1–11.
53. Sysmex Austria GmbH. Fluoreszenz-Durchflusszytometrie in der Hämatologie: XT-Serie [Internet]. 2008 [zitiert 24. Juni 2018]. Verfügbar unter: https://www.sysmex.de/fileadmin/media/f101/Xtra/Themenblaetter/12.1.02_Fluoreszenz_Durchflusszytometrie_RZ_Web.pdf
54. Sysmex Austria GmbH. Fluoreszenz-Durchflusszytometrie in der Hämatologie: XE-5000 [Internet]. 2009 [zitiert 24. Juni 2018]. Verfügbar unter: https://www.sysmex.ch/fileadmin/media/f114/Xtra/Themenblaetter/Messprinzipien_XE-5000_Case_Manager_-_Xtra_Schweiz_September_2009.pdf
55. Lung KR, Gorko MA, Llewelyn J, Wiggins N. Statistical method for the determination of equivalence of automated test procedures. *J Autom Methods Manag Chem.* 2003;25(6):123–7.
56. Bundesärztekammer. Neufassung der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen - Rili-BÄK. *Dtsch Arztebl Int.* 2014;111(38):A-1583.
57. Haeckel R, Wosniok W, Arzideh F. A plea for intra-laboratory reference limits. Part 1. General considerations and concepts for determination. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45(8):1033–42.
58. Arzideh F, Wosniok W, Gurr E, Hinsch W, Schumann G, Weinstock N, u. a. A plea for intra-laboratory reference limits. Part 2. A bimodal retrospective concept for determining reference limits from intra-laboratory databases demonstrated by catalytic activity concentrations of enzymes. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45(8):1043–57.
59. Ihaka R, Gentleman R. R: A Language for Data Analysis and Graphics. *J Comput Graph Stat.* 1996;5(3):299–314.
60. Arzideh F. Estimation of medical reference limits by truncated gaussian and truncated power normal distributions. Diss. Bremen; 2008.
61. Haeckel R, Wosniok W, Arzideh F. Equivalence limits of reference intervals for partitioning of population data. Relevant differences of reference limits. *LaboratoriumsMedizin.* 2016;40(3):199–205.

62. Haeckel R, Wosniok W, Gurr E, Peil B. Permissible limits for uncertainty of measurement in laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(8):1161–71.
63. Field A. *Discovering Statistics using IBM SPSS Statistics.* 5th ed. Los Angeles: Sage; 2018.
64. Hintze JL, Nelson RD. Violin Plots: A box plot-density trace synergism statistical computing and graphics violin plots: a box plot-density trace synergism. *Am Stat.* 1998;52(2):181–4.
65. Herklotz R, Lüthi U, Ottiger C, Huber AR. Referenzbereiche in der Hämatologie. *Ther Umschau.* 2006;63(1):5–24.
66. Jimenez K, Gasche C. Eisenmangel bei gastrointestinalen Erkrankungen [Internet]. 2016. Verfügbar unter: http://www.lohafortlife.at/pdf/KompGastro_2016_Gasche_Eisenmangel.pdf
67. Heimpel H, Diem H, Nebe T. Die Bestimmung der Retikulozytenzahl: Eine alte Methode gewinnt neue Bedeutung. *Med Klin.* 2010;105(8):538–43.
68. Augustin H, Kapoun W, Kötter C. Der Einfluß von Testosteron auf die Anämie bei terminaler Niereninsuffizienz. *Dtsch Medizinische Wochenschrift.* 1973; 98(45):2119–22.
69. Öhl S. Diagnostik und Therapie von Anämien bei geriatrischen Patienten. *Der Onkol.* 1998;4(1):30–5.
70. Seifert-Klauss V. Klimawandel – Wenn Frauen in die Wechseljahre kommen. *XX Die Zeitschrift für Frauen der Medizin.* 2013;1(05):304–9.
71. Hadji P, Rabe T, Ortmann O, Mueck AO, Von Holst T, Emons G, u. a. The possible role of estrogens and progestagens in the prevention of osteoporosis. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 18. Mai 2002;62(5):436–45.
72. Löning T, Reusch U, Thomssen C. Algorithmus der Klinik und Pathologie des Endometriumkarzinoms. *Pathologe.* 1999;20(1):63–71.
73. Karow T, Lang-Roth R. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie: vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden für Studium und Praxis.* 25. Auflag. Pulheim: Thomas Karow; 2016.
74. Ortmann O, Weiss JM, Diedrich K. Nutzen und Risiken der Hormonersatztherapie im Klimakterium und in der Postmenopause. *Gynäkologische Endokrinol.* 1. Januar 2003;1(1):6–9.
75. Bundesärztekammer. Querschnitts-Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. *Dtsch Arztebl.* 2014;105(40):22–37.

76. Salama A. Immunreaktionen gegen Erythrozyten. In: V. K, M. M-E, Herausgeber. Transfusionsmedizin und Immunhämatologie. 4. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2010. S. 79–89.

7 Anhang

7.1 Äquivalenztests der einzelnen Geräte untereinander (Erythrozyten)

Epsilon: 0.2
 95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
 -0.1807272 -0.1533163
 Null hypothesis of statistical difference is: **rejected**
 TOST p-value: 3.803173e-05
 > tost(total.geraete\$Ergebnis [total.geraete\$GH=="10210"],
 total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="58211"],
 + conf.int = T,conf.level = 0.95,paired = F,exact = T,correct = T,epsilon=e)
 Welch Two Sample TOST:
 data: total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "10210"]
 and total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "58211"]
 df = 80420
 sample estimates:
 mean of x mean of y
 4.087574 4.146720

Epsilon: 0.2
 95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
 -0.06489265 -0.05339933
 Null hypothesis of statistical difference is: **rejected**
 TOST p-value: 0
 > tost(total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="10210"],
 total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="60211"],
 + conf.int = T,conf.level = 0.95,paired = F,exact = T,correct = T,epsilon=e)
 Welch Two Sample TOST:
 data: total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "10210"]
 and total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "60211"]
 df = 45352
 sample estimates:
 mean of x mean of y
 4.087574 4.150755

Epsilon: 0.2
 95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
 -0.07041167 -0.05595022
 Null hypothesis of statistical difference is: **rejected**
 TOST p-value: 9.344183e-21
 > tost(total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="10210"],
 total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="71201"],
 + conf.int = T,conf.level = 0.95,paired = F,exact = T,correct = T,epsilon=e)
 Welch Two Sample TOST:
 data: total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "10210"]
 and total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "71201"]
 df = 160030
 sample estimates:
 mean of x mean of y
 4.087574 4.196825

Epsilon: 0.2
 95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
 -0.1139669 -0.1045335

Null hypothesis of statistical difference is: **rejected**
 TOST p-value: 1.978998e-219
 > tost(total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="57211"],
 total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="58211"],
 + conf.int = T,conf.level = 0.95,paired = F,exact = T,correct = T,epsilon=e)
 Welch Two Sample TOST:
 data: total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "57211"]
 and total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "58211"]
 df = 11282
 sample estimates:
 mean of x mean of y
 4.254596 4.146720

Epsilon: 0.2
 95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
 0.09342321 0.12232822
 Null hypothesis of statistical difference is: **rejected**
 TOST p-value: 6.594788e-26
 > tost(total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="57211"],
 total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="60211"],
 + conf.int = T,conf.level = 0.95,paired = F,exact = T,correct = T,epsilon=e)
 Welch Two Sample TOST:
 data: total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "57211"]
 and total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "60211"]
 df = 13298
 sample estimates:
 mean of x mean of y
 4.254596 4.150755

Epsilon: 0.2
 95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
 0.08873678 0.11894474
 Null hypothesis of statistical difference is: **rejected**
 TOST p-value: 7.25189e-26
 > tost(total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="57211"],
 total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="71201"],
 + conf.int = T,conf.level = 0.95,paired = F,exact = T,correct = T,epsilon=e)

Welch Two Sample TOST:
 data: total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "57211"]
 and total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "71201"]
 df = 10175
 sample estimates:
 mean of x mean of y
 4.254596 4.196825

Epsilon: 0.2
 95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
 0.04369670 0.07184634
 Null hypothesis of statistical difference is: **rejected**
 TOST p-value: 1.518441e-61
 > tost(total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="58211"],
 total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH=="60211"],
 + conf.int = T,conf.level = 0.95,paired = F,exact = T,correct = T,epsilon=e)
 Welch Two Sample TOST:
 data: total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "58211"]
 and total.geraete\$Ergebnis[total.geraete\$GH == "60211"]
 df = 73089
 sample estimates:
 mean of x mean of y
 4.146720 4.150755

```
Epsilon: 0.2
95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
-0.012597798 0.004527896
Null hypothesis of statistical difference is: rejected
TOST p-value: 1.839301e-307
> tost(total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH=="58211"],
total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH=="71201"],
+ conf.int = T,conf.level = 0.95,paired = F,exact = T,correct
= T,epsilon=e)
Welch Two Sample TOST:
data: total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH == "58211"]
and total.geraete
$Ergebnis[total.geraete$GH == "71201"]
df = 114420
sample estimates:
mean of x mean of y
4.146720 4.196825
```

```
Epsilon: 0.2
95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
-0.05668349 -0.04352490
Null hypothesis of statistical difference is: rejected
TOST p-value: 8.526304e-306
> tost(total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH=="60211"],
total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH=="71201"],
+ conf.int = T,conf.level = 0.95,paired = F,exact = T,correct
= T,epsilon=e)
Welch Two Sample TOST:
data: total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH == "60211"]
and total.geraete
$Ergebnis[total.geraete$GH == "71201"]
df = 62009
sample estimates:
mean of x mean of y
4.150755 4.196825
```

7.2 Äquivalenztests (SIS und XT1800i Geräte zusammengefasst)

Erythrozyten

```
e=0.05*mean(total.geraete$Ergebnis,na.rm=T)
> tost(total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH=="SIS_KI"],
total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH=="XT1800"],
+ conf.int = T,conf.level = 0.9 .... [TRUNCATED]
Welch Two Sample TOST
data: total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH == "SIS_KI"]
and total.geraete
$Ergebnis[total.geraete$GH == "XT1800"]
df = 408970
sample estimates:
mean of x mean of y
4.087574 4.176231
Epsilon: 0.2062435
95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
-0.09239604 -0.08491707
Null hypothesis of statistical difference is: rejected
TOST p-value: 0
```

Hämoglobin

```
e=0.05*mean(total.geraete$Ergebnis,na.rm=T)
> tost(total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH=="SIS_KI"],
total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH=="XT1800"],
+ conf.int = T,conf.level = 0.9 .... [TRUNCATED]
Welch Two Sample TOST
data: total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH == "SIS_KI"]
and total.geraete
$Ergebnis[total.geraete$GH == "XT1800"]
df = 407710
sample estimates:
mean of x mean of y
12.12680 12.20214
Epsilon: 0.6079246
95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
-0.08675641 -0.06392463
Null hypothesis of statistical difference is: rejected
TOST p-value: 0
```

Hämatokrit

```
> e=0.05*mean(total.geraete$Ergebnis,na.rm=T)
> tost(total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH=="SIS_KI"],
total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH=="XT1800"],
+ conf.int = T,conf.level = 0.9 .... [TRUNCATED]
Welch Two Sample TOST
data: total.geraete$Ergebnis[total.geraete$GH == "SIS_KI"]
and total.geraete
$Ergebnis[total.geraete$GH == "XT1800"]
df = 411740
sample estimates:
mean of x mean of y
35.34727 36.64255
Epsilon: 1.794607
95 percent two one-sided confidence interval (TOST interval):
-1.326211 -1.264346
Null hypothesis of statistical difference is: rejected
TOST p-value: 1.658404e-155
```

7.3 Korrelationsberechnungen

Korrelationen Erythrozyten

Parameter	Spearman-Rho Korrelationskoeffizient	Sig. (2-seitig)	N
Vitamin-B12 (1-Heparin)	.002	.917	3986
Vitamin-B12 (1-Serum)	-.007	.767	1916
Vitamin-B12 (Heparin)	-.003	.877	3395
Vitamin-B12 (Serum)	.015	.523	1769
CRP (Heparin)	-.046**	.000	100333
Eisen (4-Heparin)	.003	.638	20197
Eisen (4- Serum)	-.013	.606	1686
Ferritin (Heparin)	-.058**	.000	27135
Ferritin (Serum)	-.078**	.000	1984
Folsäure (Heparin)	-.014	.308	5689
Folsäure (Serum)	-.011	.544	3311
Pyridoxal (Serum)	-.047	.249	605
Retikulozyten-Hämoglobin	-.134**	.000	10355
Retikulozyten (%)	-.313**	.000	596
Retikulozyten /Erythrozyt	-.003	.954	471
Transferrin (4-Heparin)	.102**	.000	7545
Transferrin (4-Serum)	.110**	.001	953
lösl. Transferrin-Rez. (9-Serum)	-.018	.765	291
Transferrin (Serum)	.180	.378	26
Transferrin Sättigung (4-Heparin)	.008	.507	6128
Transferrin Sättigung (4-Serum)	.011	.748	815
Transferrin Sättigung (Serum)	-.013	.964	14

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

Korrelationen Hämoglobin

Parameter	Spearman-Rho Korrelationskoeffizient	Sig. (2-seitig)	N
Vitamin-B12 (1-Heparin)	.021	.188	3986
Vitamin-B12 (1-Serum)	.024	.579	518
Vitamin-B12 (Heparin)	.022	.196	3395
Vitamin-B12 (Serum)	.045	.453	284
CRP (Heparin)	-.037**	.000	100333
Eisen (4-Heparin)	.020**	.004	20197
Eisen (4- Serum)	.010	.738	1063
Ferritin (Heparin)	.033**	.000	27135
Ferritin (Serum)	.038	.172	1278
Folsäure (Heparin)	-.029*	.027	5689
Folsäure (Serum)	-.037	.429	459
Pyridoxal (Serum)	-.055	.183	579

Retikulozyten-Hämoglobin	.036**	.000	10355
Retikulozyten (%)	-	-	0
Retikulozyten /Erythrozyt	.052	.260	471
Transferrin (4-Heparin)	-.005	.688	7545
Transferrin (4-Serum)	-.083	.095	408
lösl. Transferrin-Rez. (9-Serum)	.032	.588	280
Transferrin (Serum)	.054	.807	23
Transferrin Sättigung (4-Heparin)	.077**	.000	6128
Transferrin Sättigung (4-Serum)	.107	.058	315
Transferrin Sättigung (Serum)	-.478	.084	14

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

Korrelationen Hämatokrit

Parameter	Spearman-Rho Korrelationskoeffizient	Sig. (2-seitig)	N
Vitamin-B12 (1-Heparin)	-.033*	.038	3986
Vitamin-B12 (1-Serum)	-.050	.258	518
Vitamin-B12 (Heparin)	-.059**	.001	3395
Vitamin-B12 (Serum)	-.014	.821	284
CRP (Heparin)	-.087**	.000	100332
Eisen (4-Heparin)	-.007	.325	20197
Eisen (4- Serum)	-.056	.070	1063
Ferritin (Heparin)	-.059**	.000	27135
Ferritin (Serum)	-.031	.267	1278
Folsäure (Heparin)	-.021	.111	5689
Folsäure (Serum)	.045	.340	459
Pyridoxal (Serum)	-.061	.141	579
Retikulozyten-Hämoglobin	.009	.350	10355
Retikulozyten (%)	-	-	0
Retikulozyten /Erythrozyt	.122**	.008	471
Transferrin (4-Heparin)	.081**	.000	7545
Transferrin (4-Serum)	-.004	.931	408
lösl. Transferrin-Rez. (9-Serum)	-.165**	.006	280
Transferrin (Serum)	-.147	.504	23
Transferrin Sättigung (4-Heparin)	.036**	.004	6128
Transferrin Sättigung (4-Serum)	-.087	.124	315
Transferrin Sättigung (Serum)	-.145	.620	14

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

Korrelationen MCH

Parameter	Spearman-Rho Korrelationskoeffizient	Sig. (2-seitig)	N
Vitamin-B12 (1-Heparin)	-.022	.167	3986
Vitamin-B12 (1-Serum)	-.049	.261	518
Vitamin-B12 (Heparin)	-.028	.107	3395
Vitamin-B12 (Serum)	-.098	.100	284
CRP (Heparin)	-.033 ^{**}	.000	100332
Eisen (4-Heparin)	.025 ^{**}	.000	20197
Eisen (4- Serum)	-.021	.499	1063
Ferritin (Heparin)	.088 ^{**}	.000	27135
Ferritin (Serum)	.061 [*]	.029	1278
Folsäure (Heparin)	.001	.918	5689
Folsäure (Serum)	-.054	.245	459
Pyridoxal (Serum)	.026	.539	579
Retikulozyten-Hämoglobin	.528 ^{**}	.000	10355
Retikulozyten (%)	-	-	0
Retikulozyten /Erythrozyt	.068	.138	471
Transferrin (4-Heparin)	-.092 ^{**}	.000	7545
Transferrin (4-Serum)	-.063	.202	408
lösl. Transferrin-Rez. (9-Serum)	-.165 ^{**}	.006	280
Transferrin (Serum)	-.241	.267	23
Transferrin Sättigung (4-Heparin)	.122 ^{**}	.000	6128
Transferrin Sättigung (4-Serum)	.119 [*]	.035	315
Transferrin Sättigung (Serum)	.229	.431	14

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

Korrelationen MCV

Parameter	Spearman-Rho Korrelationskoeffizient	Sig. (2-seitig)	N
Vitamin-B12 (1-Heparin)	-.012	.450	3986
Vitamin-B12 (1-Serum)	.021	.352	1916
Vitamin-B12 (Heparin)	-.023	.172	3395
Vitamin-B12 (Serum)	-.052 [*]	.028	1769
CRP (Heparin)	-.016 ^{**}	.000	100332
Eisen (4-Heparin)	-.017 [*]	.014	20197
Eisen (4- Serum)	.005	.837	1686
Ferritin (Heparin)	.022 ^{**}	.000	27135
Ferritin (Serum)	.027	.224	1984
Folsäure (Heparin)	-.009	.499	5689
Folsäure (Serum)	.003	.878	3311
Pyridoxal (Serum)	-.011	.787	605

Retikulozyten-Hämoglobin	.144 ^{**}	.000	10355
Retikulozyten (%)	-.058	.155	596
Retikulozyten /Erythrozyt	.085	.064	471
Transferrin (4-Heparin)	-.054 ^{**}	.000	7545
Transferrin (4-Serum)	-.068 [*]	.037	953
lösl. Transferrin-Rez. (9-Serum)	-.137 [*]	.020	291
Transferrin (Serum)	-.048	.816	26
Transferrin Sättigung (4-Heparin)	.055 ^{**}	.000	6128
Transferrin Sättigung (4-Serum)	.045	.204	815
Transferrin Sättigung (Serum)	.158	.589	14

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

Korrelationen MCHC

Parameter	Spearman-Rho Korrelationskoeffizient	Sig. (2-seitig)	N
Vitamin-B12 (1-Heparin)	-.007	.661	3986
Vitamin-B12 (1-Serum)	-.011	.808	518
Vitamin-B12 (Heparin)	.054 ^{**}	.001	3395
Vitamin-B12 (Serum)	-.014	.810	284
CRP (Heparin)	-.012 ^{**}	.000	100329
Eisen (4-Heparin)	.004	.530	20197
Eisen (4- Serum)	-.021	.496	1063
Ferritin (Heparin)	.042 ^{**}	.000	27135
Ferritin (Serum)	.033	.240	1278
Folsäure (Heparin)	.001	.940	5689
Folsäure (Serum)	-.039	.399	459
Pyridoxal (Serum)	.016	.696	579
Retikulozyten-Hämoglobin	.307 ^{**}	.000	10355
Retikulozyten (%)	-	-	0
Retikulozyten /Erythrozyt	-.050	.278	471
Transferrin (4-Heparin)	-.018	.113	7545
Transferrin (4-Serum)	-.079	.112	408
lösl. Transferrin-Rez. (9-Serum)	-.281 ^{**}	.000	280
Transferrin (Serum)	.064	.771	23
Transferrin Sättigung (4-Heparin)	.103 ^{**}	.000	6128
Transferrin Sättigung (4-Serum)	-.001	.990	315
Transferrin Sättigung (Serum)	.094	.750	14

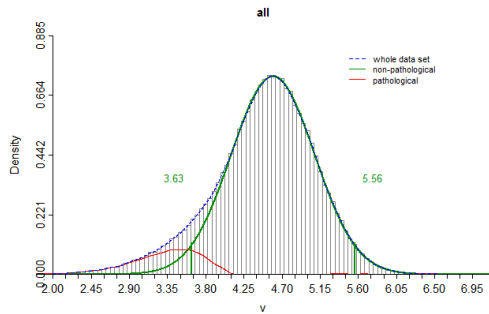
** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

* Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

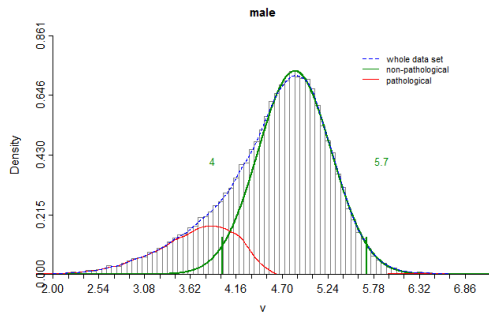
7.4 Verteilungen des RLE

Erythrozyten Verteilungen des RLE

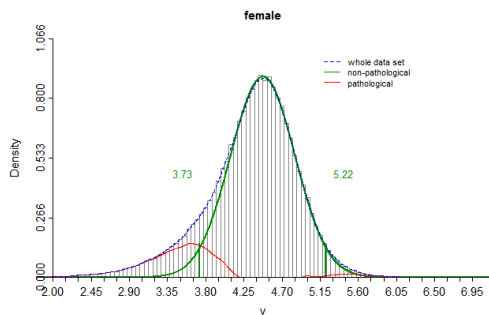
Erythrozyten, Altersklasse: 18-100 Jahre



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

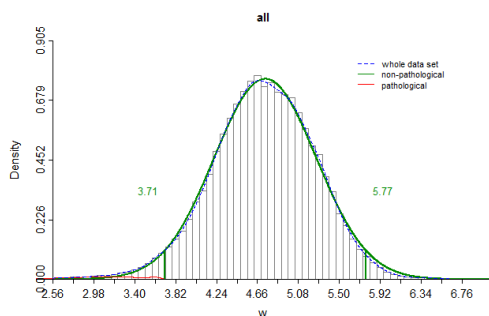


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

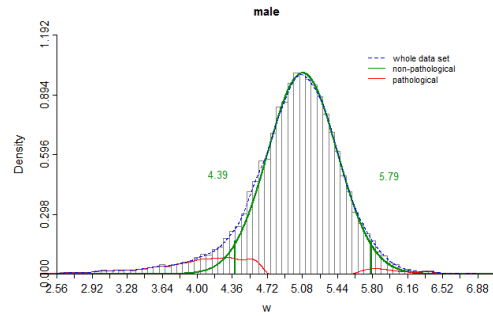


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

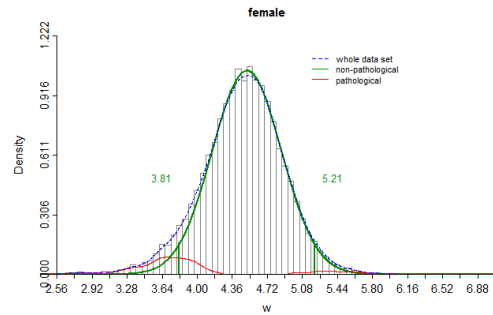
Erythrozyten, Altersklasse: 18-40 Jahre



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

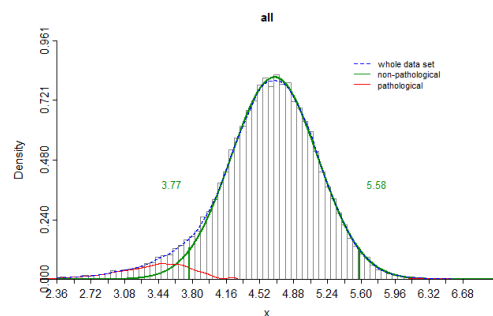


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

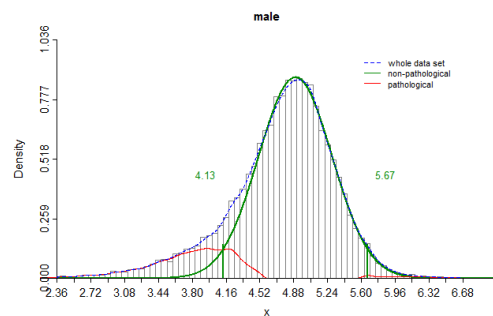


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

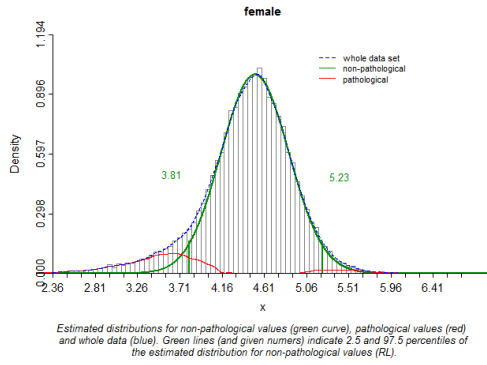
Erythrozyten, Altersklasse: 41-60 Jahre



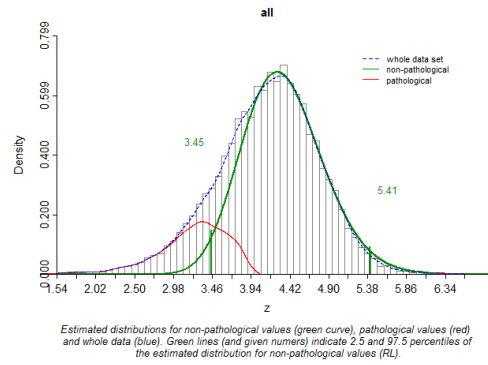
Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



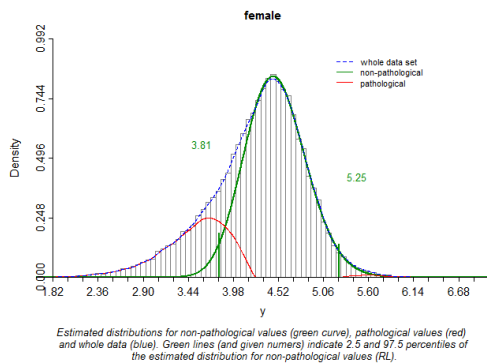
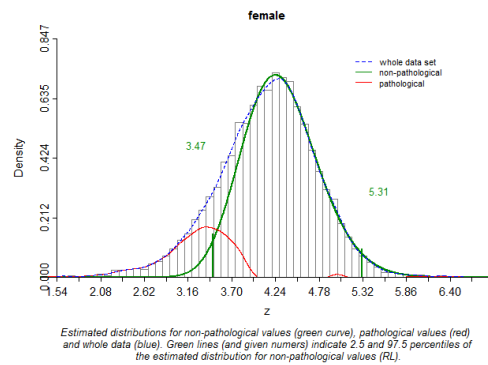
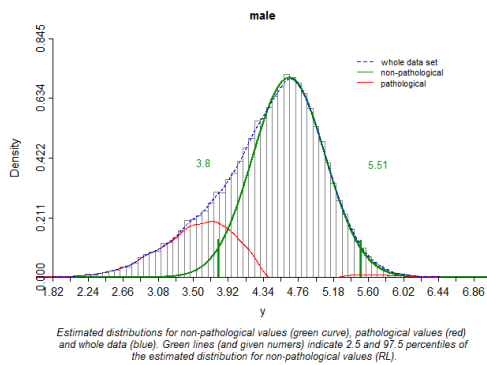
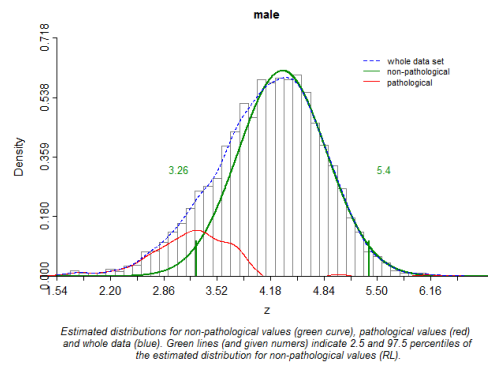
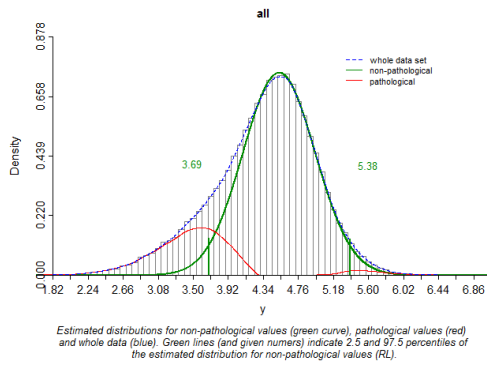
Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



Erythrozyten, Altersklasse: 81-100 Jahre

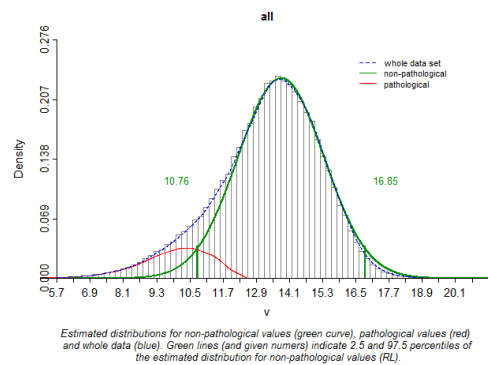


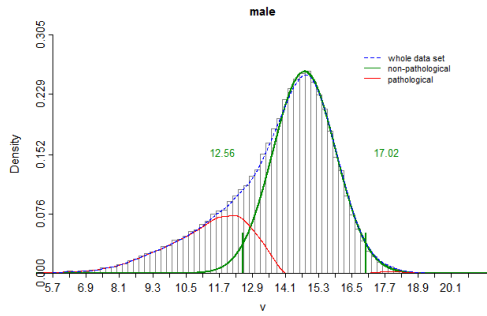
Erythrozyten, Altersklasse: 61-80 Jahre



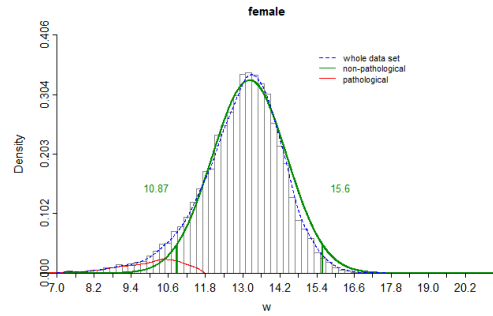
Hämoglobin (Hb) Verteilungen des RLE

Hb, Altersklasse: 18-100 Jahre

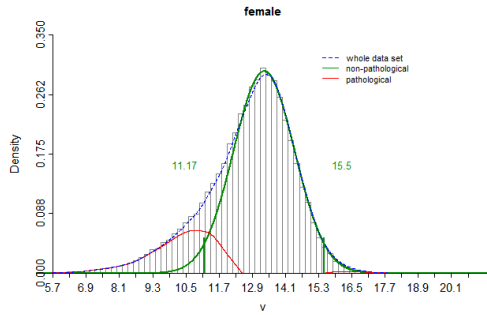




Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

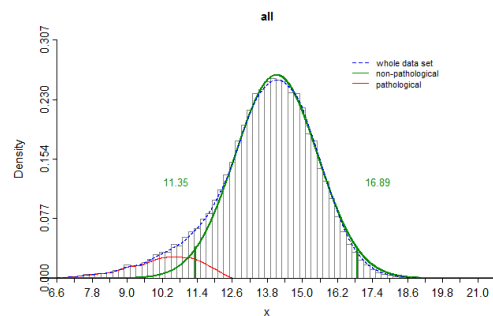


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



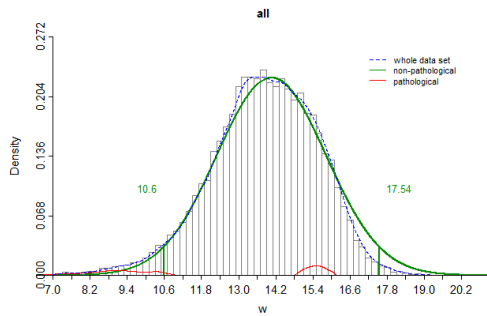
Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

Hb, Altersklasse: 41-60 Jahre

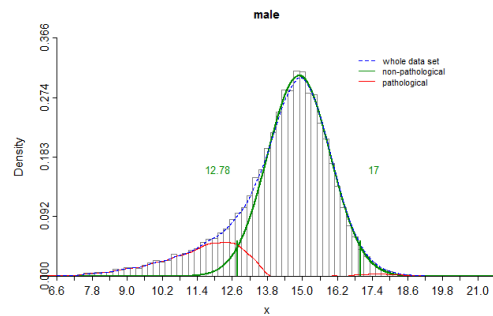


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

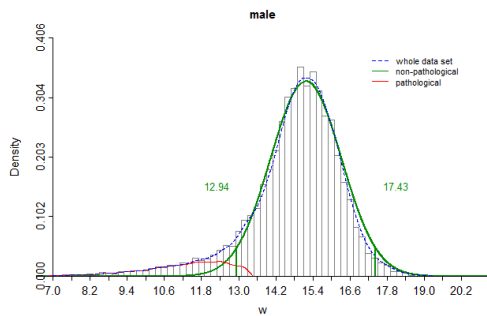
Hb, Altersklasse: 18-40 Jahre



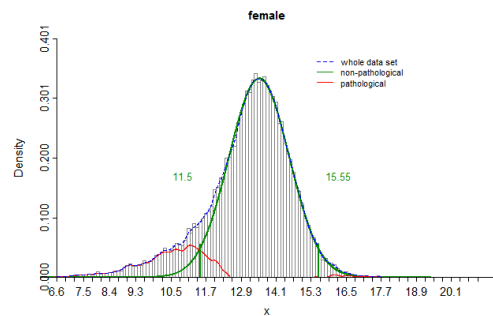
Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

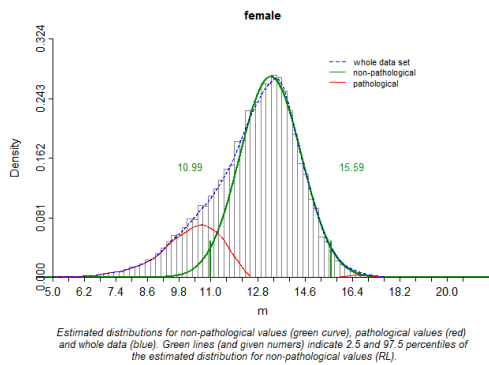
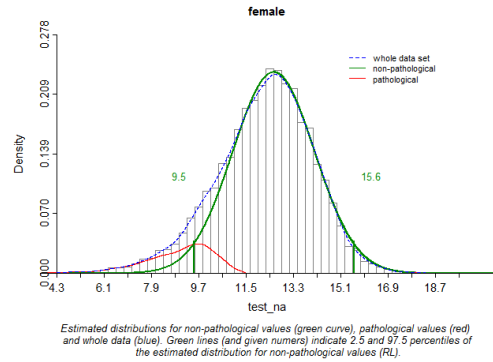
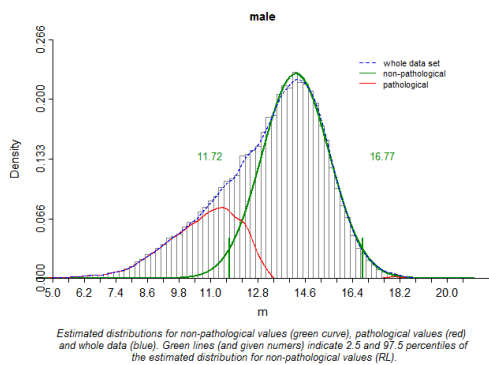
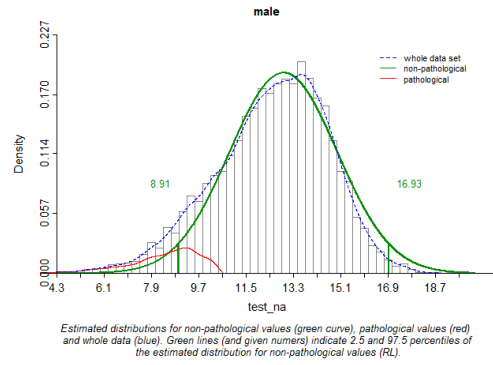
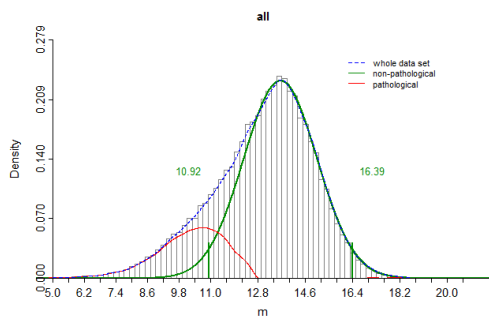


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



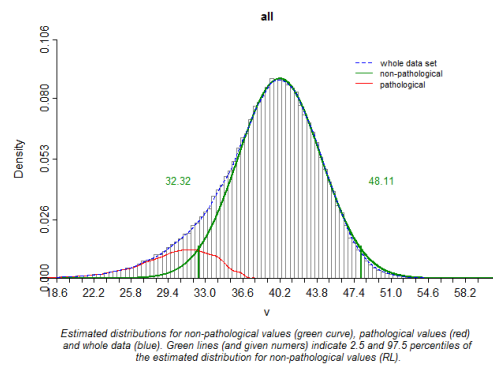
Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

Hb, Altersklasse: 61-80 Jahre

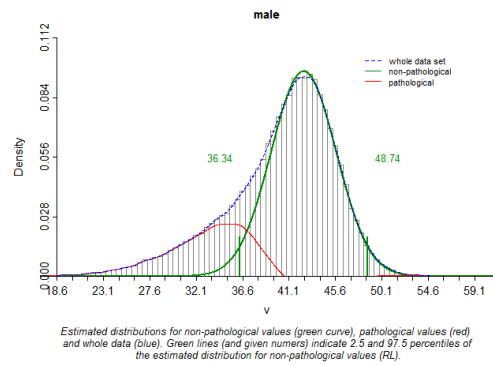
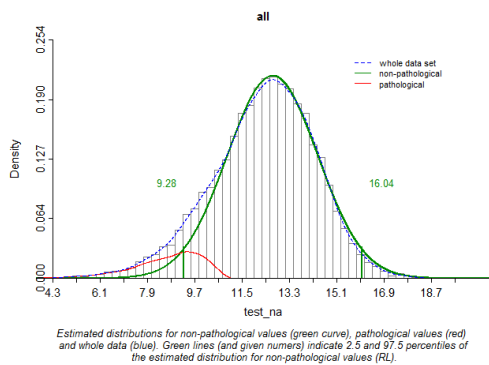


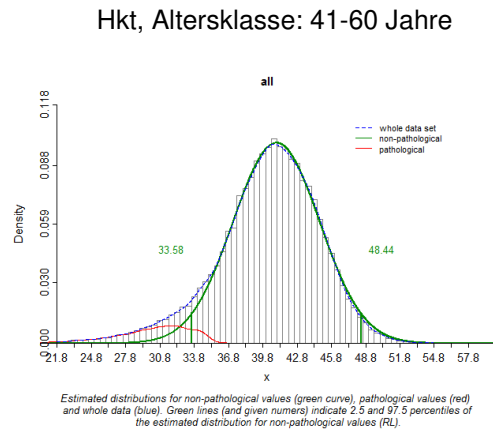
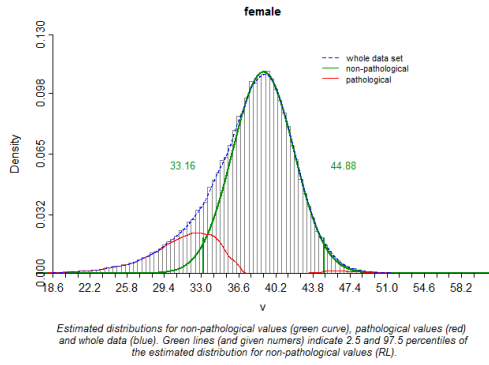
Hämatokrit (Hkt) Verteilungen des RLE

Hkt, Altersklasse: 18-100 Jahre

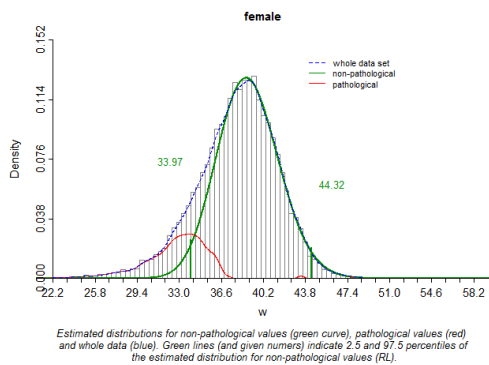
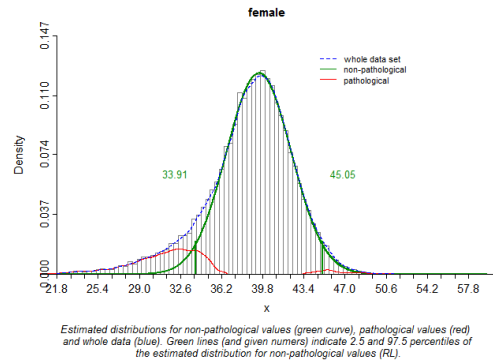
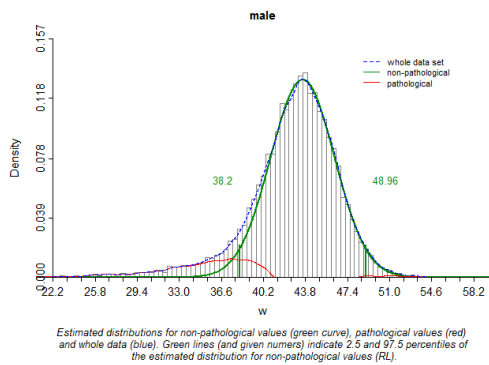
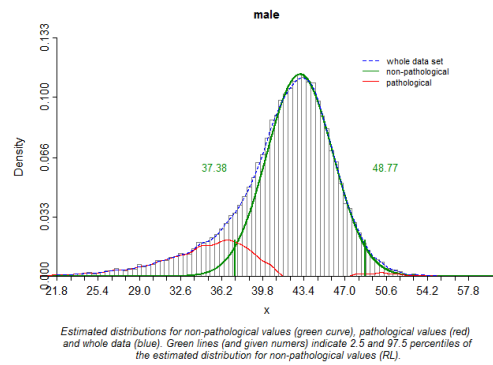
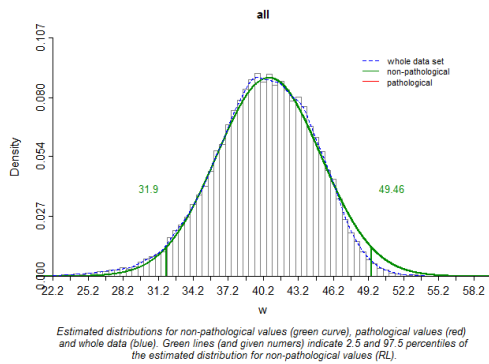


Hb, Altersklasse: 81-100 Jahre

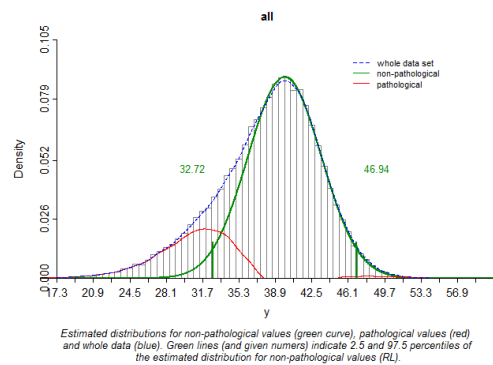


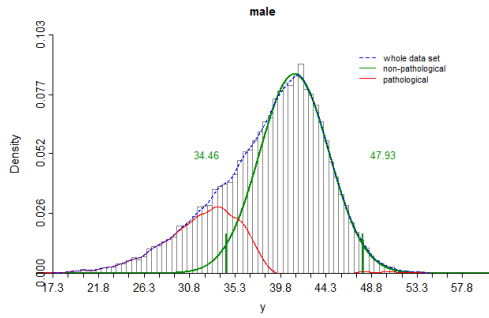


Hkt, Altersklasse: 18-40 Jahre

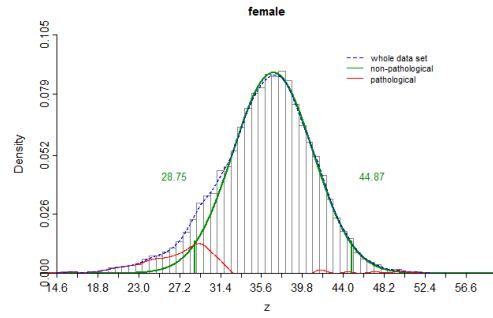


Hkt, Altersklasse: 61-80 Jahre

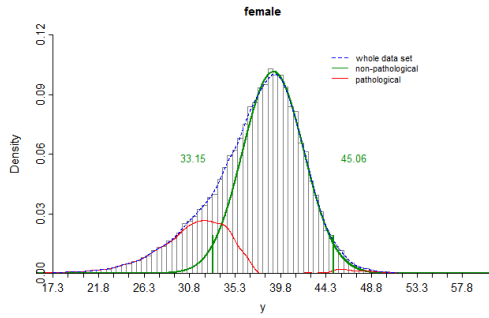




Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

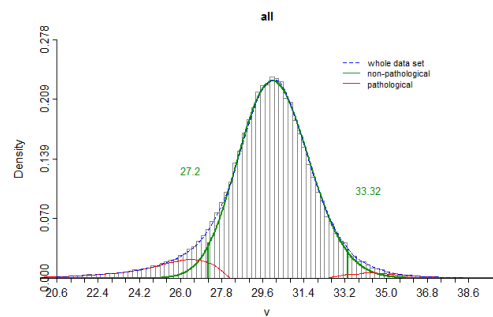


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



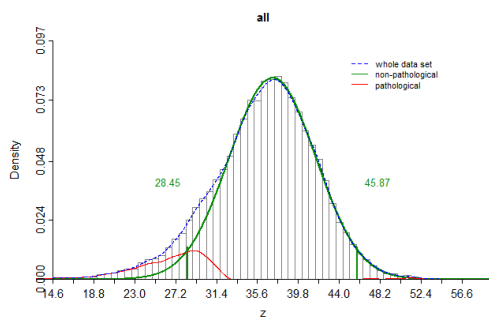
Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

MCH Verteilungen des RLE MCH, Altersklasse: 18-100 Jahre

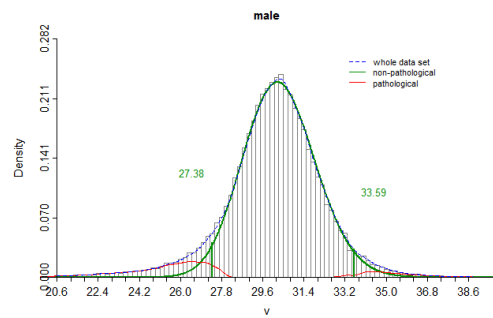


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

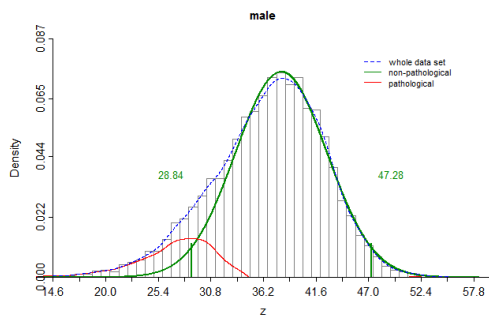
Hkt, Altersklasse: 81-100 Jahre



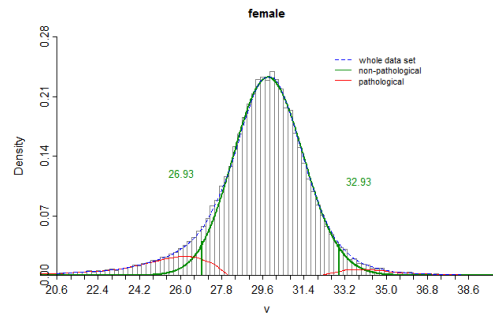
Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

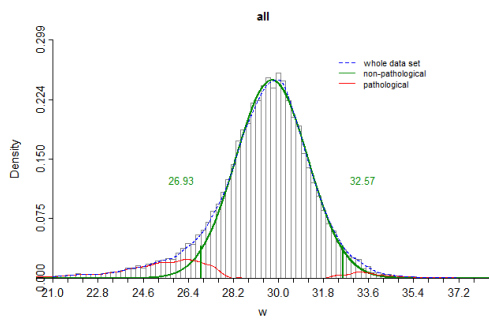


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

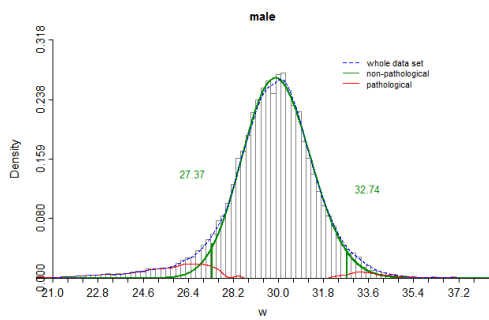


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

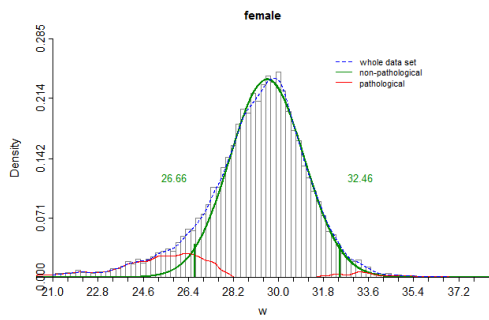
MCH, Altersklasse: 18-40 Jahre



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

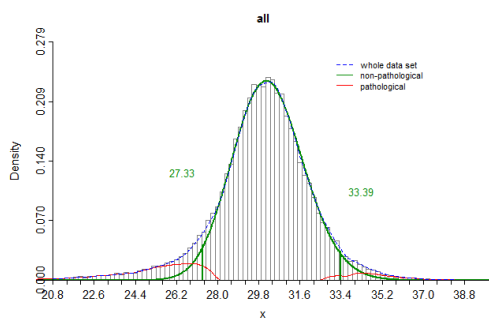


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

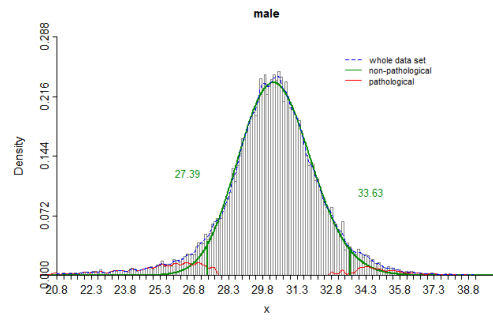


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

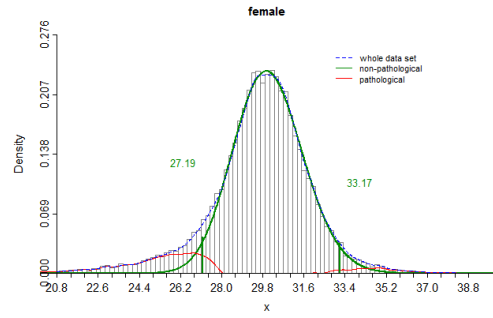
MCH, Altersklasse: 41-60 Jahre



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

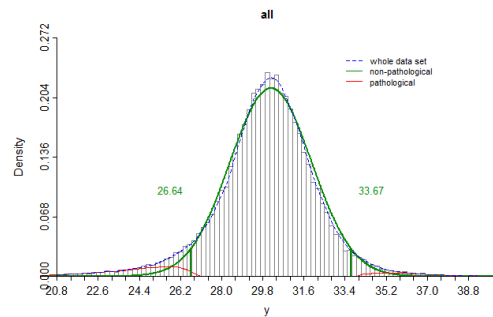


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

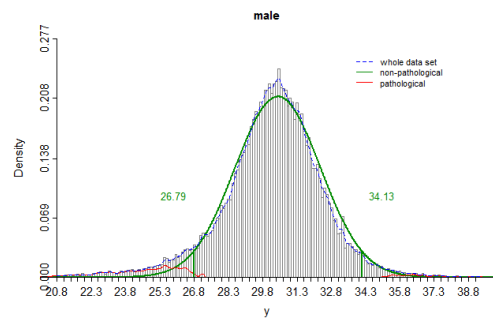


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

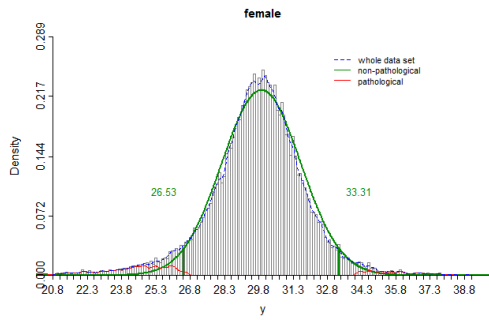
MCH, Altersklasse: 61-80 Jahre



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

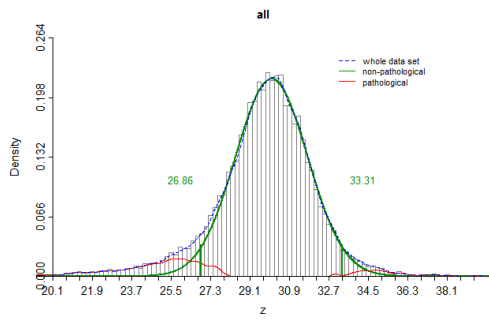


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

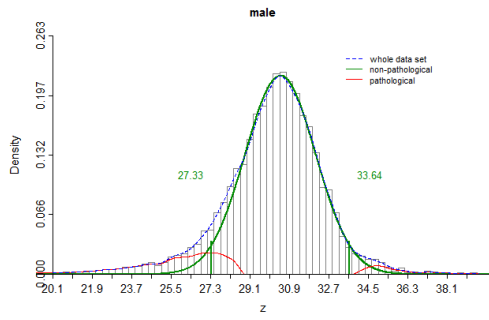


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

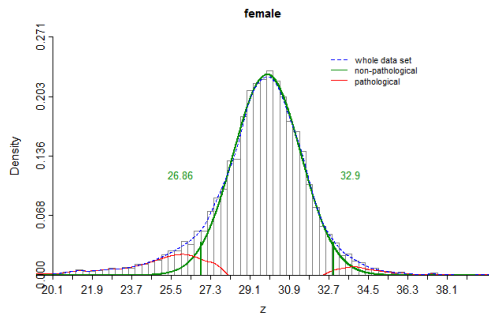
MCH, Altersklasse: 81-100 Jahre



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

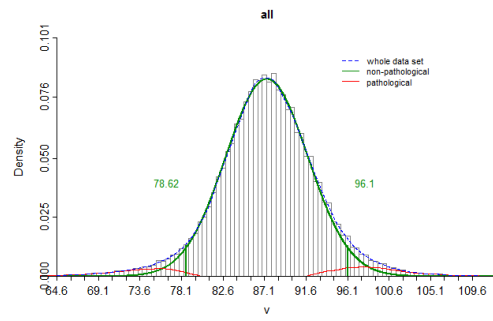


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

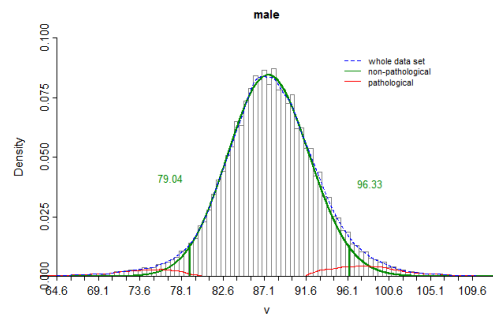


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

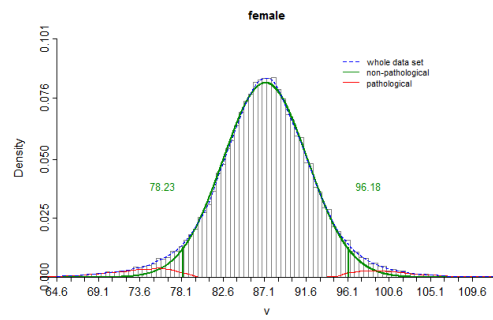
MCV Verteilungen des RLE
MCV, Altersklasse: 18-100 Jahre



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

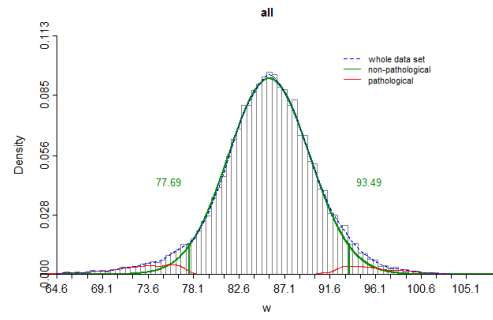


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

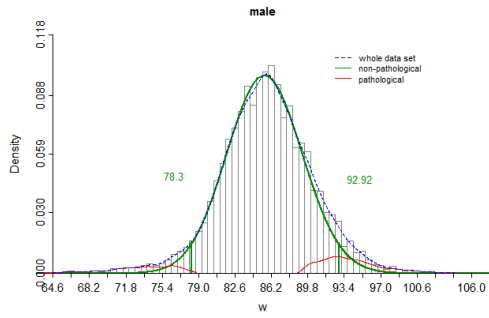


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

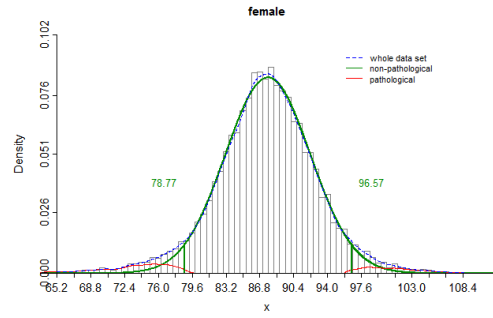
MCV, Altersklasse: 18-40 Jahre



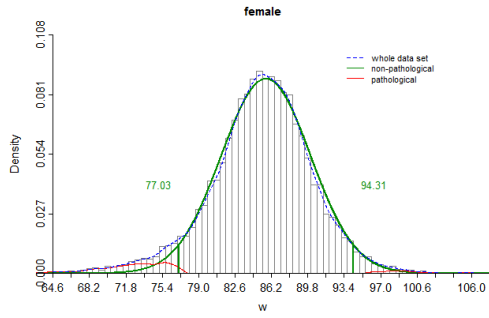
Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

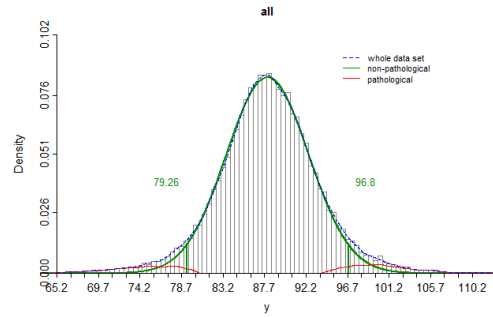


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



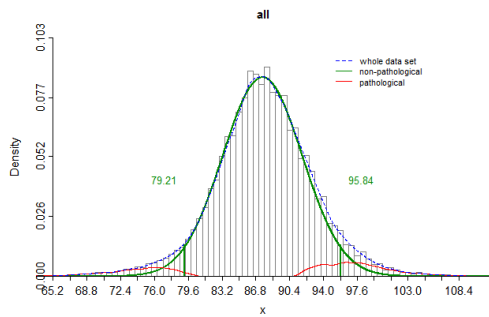
Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

MCV, Altersklasse: 61-80 Jahre

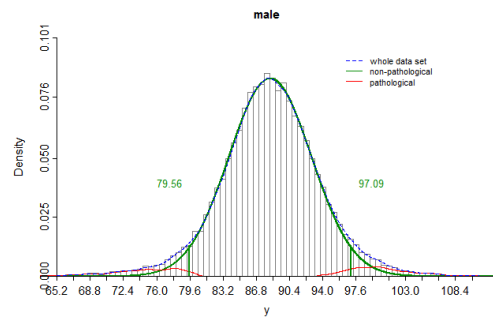


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

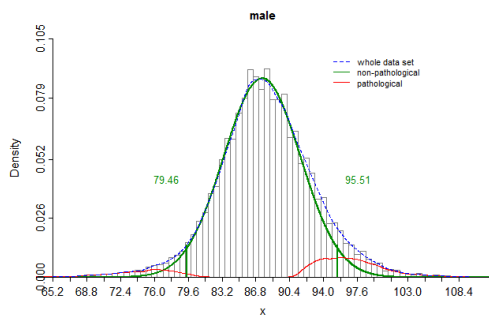
MCV, Altersklasse: 41-60 Jahre



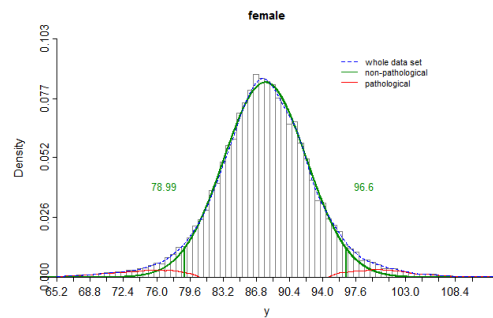
Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

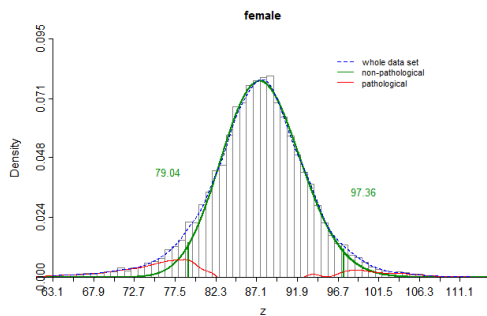
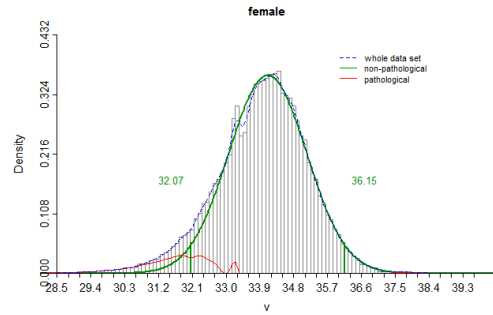
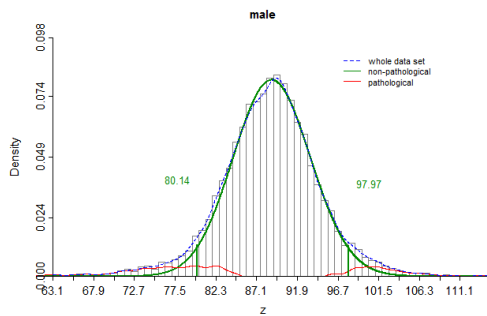
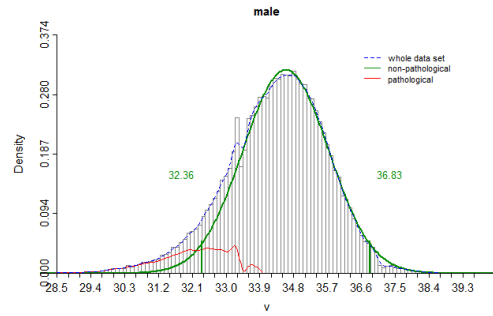
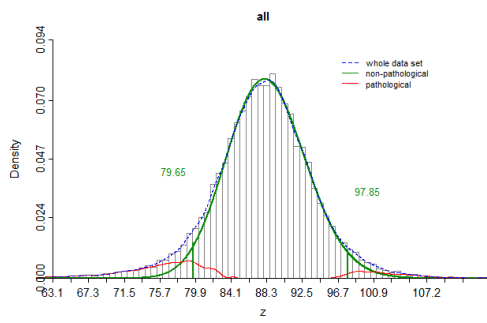


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

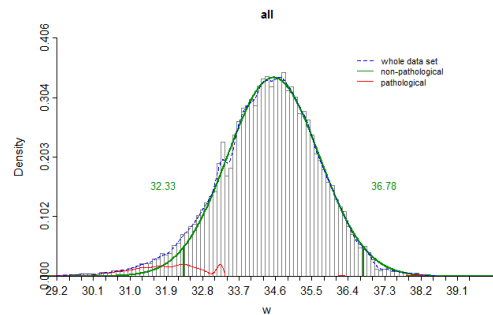


Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

MCV, Altersklasse: 81-100 Jahre

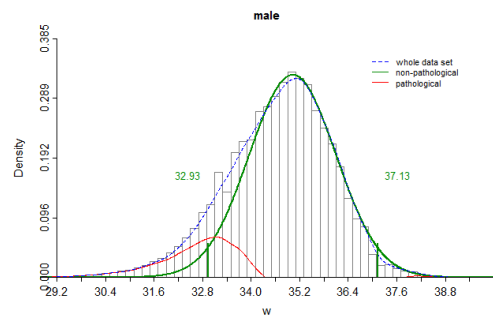
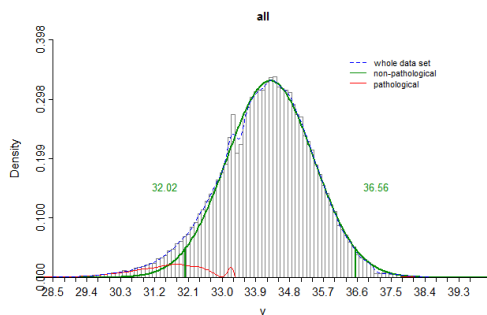


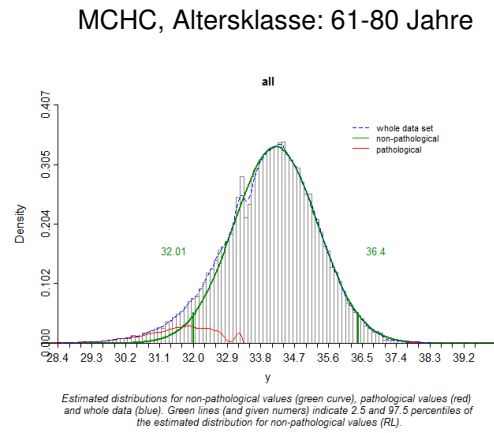
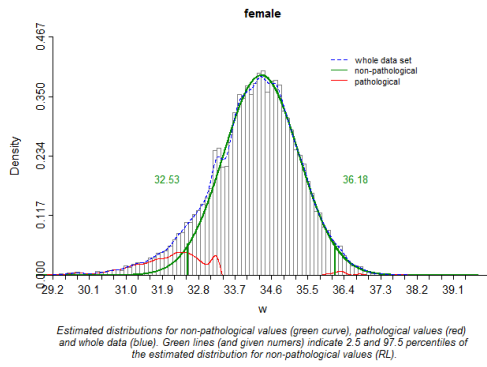
MCHC, Altersklasse: 18-40 Jahre



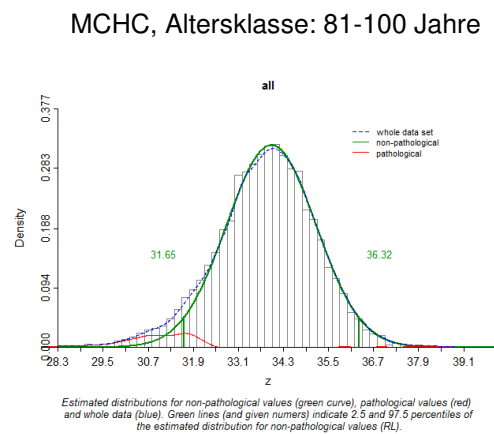
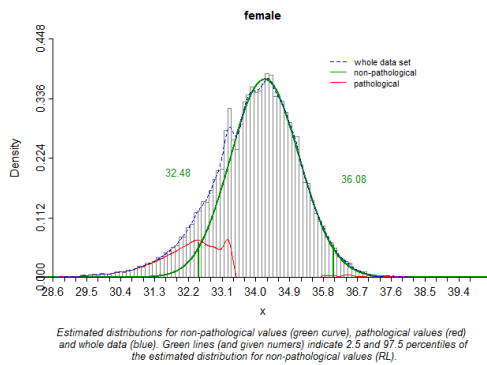
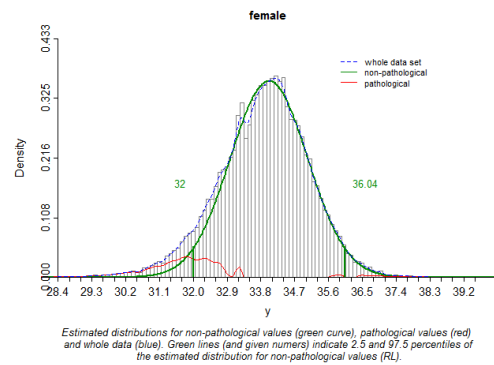
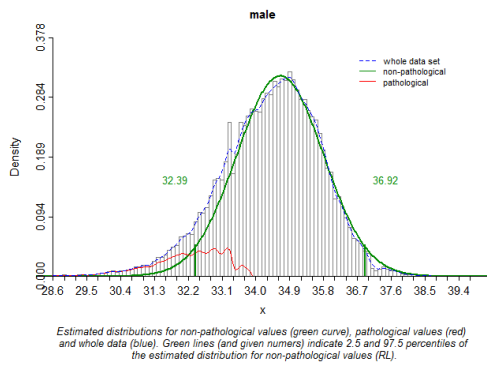
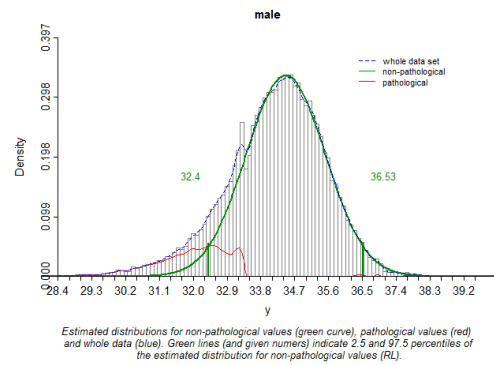
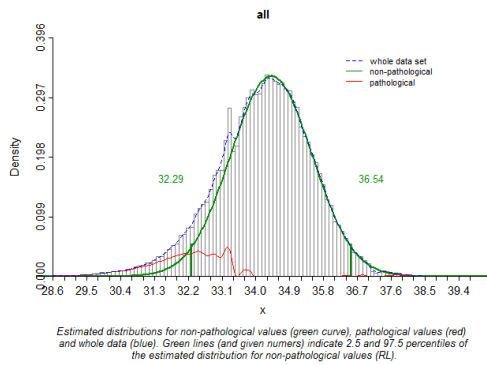
MCHC Verteilungen des RLE

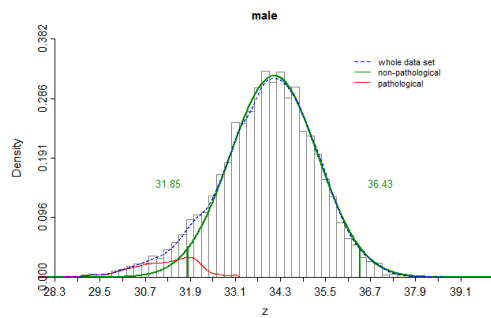
MCHC, Altersklasse: 18-100 Jahre



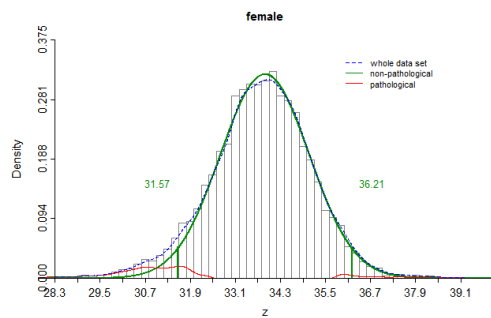


MHC, Altersklasse: 41-60 Jahre





Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).



Estimated distributions for non-pathological values (green curve), pathological values (red) and whole data (blue). Green lines (and given numbers) indicate 2.5 and 97.5 percentiles of the estimated distribution for non-pathological values (RL).

8 Danksagung

Ich bedanke mich ganz herzlich bei allen, die mich an der Entstehung dieser Arbeit unterstützt haben.

Herrn Prof. Dr. med. Ralf Junker danke ich für die Überlassung des Themas und die Bereitstellung der Labormesswerte. Außerdem bedanke ich mich für die zahlreichen anregenden Besprechungen und Diskussionen, die wegweisend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonders danke ich Frau Dr. rer. nat. Antje Torge, die mir als Mentorin immer zur Seite stand und durch ihre kontinuierliche Betreuung für viele Anregungen sorgte, die wesentlich die Qualität dieser Arbeit vorangebracht haben.

Wertvolle Impulse zu methodischen Vorgehensweisen erhielt ich durch Herrn Dr. rer. nat. Farhad Arzideh und Herrn Prof. Dr. med. Rainer Haeckel, denen ich für ihre Expertisen danke.

Ich danke Herrn Dr. rer. nat. Steve Kalke für seine Hilfsbereitschaft bei der Statistik. Großer Dank gilt Herrn PhD Dirk Schaudien und Herrn Dr. phil. Daniel Otto für ihre kritischen Durchsichten.

Bei Frau Dr. med. Sarah Brück und Herrn Max Brück bedanke ich mich für die anregenden Diskussionen und Interpretationen zu den Ergebnissen dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern Gudrun und Jörg Schade, die mich stets während des Medizinstudiums und bei der Entstehung dieser Arbeit unterstützt haben. Meinem Vater danke ich außerdem ganz herzlich für das Korrekturlesen.

Meine Schwester Juliane Mattes und ihr Mann Fabian Mattes haben mich auch in schwierigen Phasen allzeit motiviert, wofür ich ihnen sehr dankbar bin.

Zuletzt danke ich ganz besonders meiner geliebten Ehefrau Thekla Schade-Sielmann für ihre unermüdliche Geduld, ihr Verständnis und ihre stetige Unterstützung an den vielen Abenden und Wochenenden, die ich am Schreibtisch verbracht habe.

9 Publikationen

Schade J., Arzideh F., Haeckel R., Junker R. & Torge A. (2017). Validation of mathematical algorithm for the specific calculation of clinical reference limits using the example of erythrocyte parameters. Clin Chem Lab Med 55(11): Poster 56.

Baumeister J., Reinecke K., Schubert M., **Schade J.** & Weiss M. (2012). Effects of induced fatigue on brain activity during sensorimotor control. Eur J Appl Physiol 112(7), 2475-82.

Reinecke K., Schubert M., **Schade J.**, Weiss M. & Baumeister J. (2011). Brain activity during motor control is not influenced after exhaustive strength training. In Sellens M, Sandercock G, Taylor M & Micklewright D (Eds.): Fatigue: An Interdisciplinary approach. University of Essex, Essex, 60-61.

Koutsandreou F., Reinecke K., **Schade J.**, Cordes M., Schubert M., Kehne M., Kämpfe A. & Baumeister J. (2011). Effekte einer Jonglierintervention auf die kognitive Leistung und die Gehirnaktivität von Grundschulern. In Hottenrott K., Stoll O. & Wollny R. (Hrsg.). Kreativität – Innovation – Leistung, Feldhaus Verlag, 266.

Schubert M., Reinecke K., **Schade J.**, Weiss M. & Baumeister J. (2010). The required number of epochs for representing brain states from spontaneous EEG“. In D. Farina, D. Falla, D. Popovic, T. Sinkjaer (Eds.). ISEK 2010 – Scientific Program. Aalborg, 54.