Aus der Klinik für Anästhesiologie
(Prof. Dr. med. M. Quintel)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Methodenvergleich zur Erfassung einer Restheparinisierung nach kardiochirurgischen Eingriffen mit Herz-Lungen-Maschine

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Nadine Hillmann (geb. Gilster)

aus

Nienburg/Weser

Göttingen 2016

Dekan:	Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer
Referent:	Prof. Dr. Anselm Bräuer
Ko-Referent:	PD Dr. Joachim Riggert
Drittreferentin:	Prof. Dr. Margarete Schön

Datum der mündlichen Prüfung: 14.12.2016

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "**Methodenvergleich zur Erfassung einer Restheparinisierung nach kardiochirurgischen Eingriffen mit Herz-Lungen-Maschine**" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den 06.12.2016

(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

I. Abbildungsverzeichnis

II. Tabellenverzeichnis

III. Abkürzungsverzeichnis

1 Einleitung 7

1.1 Behandlung von Herzerkrankungen mittels moderner Kardiochirurgie 7
1.1.1 Aufbau einer HLM 7
1.1.2 Vorteile einer HLM 8
1.1.3 Probleme bei Operationen unter Einsatz einer HLM 9
1.2 Blutgerinnung 10
1.2.1 Medikamentöse Therapie kardiochirurgischer Patienten 12
1.2.1.1 Acetylsalicylsäure (ASS) 12
1.2.1.2 ADP-Rezeptorantagonisten 12
1.2.1.3 Phenprocoumon und NOA (neue orale Antikoagulantien) 13
1.2.2 Medikamente, die die Blutgerinnung unter HLM beeinflussen 14
1.2.2.1 Heparin 14
1.2.2.2 Protamin 15
1.3 Ziel der vorliegenden Arbeit 15

2 Material und Methoden 17

2.1 Patienten 17
2.1.1 Studieneinschluss 18
2.2 Blutentnahmen 18
2.2.1 Messzeitpunkte (MZP) 18
2.2.1.1 Vor der Operation = MZP 1 18
2.2.1.2 Nach der Operation = MZP 2 19
2.2.1.3 Nach Gabe des Maschinenblutes (MB) = MZP 3 19
2.3 Durchgeführte Tests 20
2.3.1 aPTT 20
2.3.2 Thrombinzeit (TZ) 21
2.3.3 Anti-Xa-Aktivität 22
2.3.4 Activated Clotting Time (ACT) und Protamintitration 24
2.3.4.1 Haemochron® 24
2.3.4.2 Hepcon® 25
2.3.5 Rotationsthromboelastometrie/ ROTEM® 26
2.3.5.1 INTEM 30
2.3.5.2 HEPTEM 30
2.4 Statistik und Datenspeicherung 31

3 Ergebnisse 32

3.1 Patientenkollektiv 32

3.2 Verlauf von Standard- und POC-Gerinnungsdiagnostik 32
3.3 Anti-Xa-Aktivität und Gabe von Maschinenblut 33
3.4 ROC-Analysen 33
3.4.1 Standardgerinnungstests 33
3.4.2 Thrombelastometrie (ROTEM®) 35
3.4.3 ACT-Methode 36
3.4.4 Protamintitration im Hepcon® 36
3.5 Vergleichbarkeit unterschiedlicher ACT-Messmethoden 37

4 Diskussion 39
4.1 Inzidenz einer residuellen Heparinisierung und Einflüsse durch die Gabe von Maschinenblut 39
4.2 Möglichkeiten der regulären Gerinnungsdiagnostik in der Kardiochirurgie 41
4.3 ACT-Messung 41
4.4 Protamintitration mittels Hepcon® 43
4.5 Thrombelastometrie/ROTEM® 43
4.6 Limitationen und Vorzüge der Studie 45

5 Zusammenfassung 47

6 Anhang 48
6.1 Ethikkommission 48
6.2 Patienteninformation 58
6.3 Einwilligungserklärung des Patienten 61

7 Literaturverzeichnis 63

I. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung der Funktionsweise einer Herz-Lungen-Maschine. (http://www.biomed.ruhr-uni-bochum.de/forschun g/pic/9801p08a01.gif) 8

Abb. 2: Gerinnungskaskade (modifiziert nach Karow und Lang-Roth 2013) 10

Abb. 3: Die drei Phasen des Zell-basierten Gerinnungsmodels, modifiziert nach Smith 2009 11

Abb. 4: Strukturformel von Heparin. (http://www.thromboseportal.at/_images/patienteninfos/13_Heparin_Strukturformel.jpg) 14

Abb. 5: Phasen der Gerinnung und der jeweilige übliche Gerinnungstest (modifiziert nach Lang und von Depka 2006). 26

Abb. 6: Typische graphische Auftragung der ROTEM-Methode. (http://www.gerinnung-igs.at/pic-buch/paramerter_Thrombelastometr.gif) 27

Abb. 7: Geräte zur Thrombelastometrie: Modell nach Hartert: (a); Neues Modell nach Calatzis (c) (modifiziert nach Lang und von Depka 2006) 28

Abb. 8: Vergleich INTEM/HEPTEM bzgl. einer residuellen Heparinwirkung (modifiziert nach Lang und von Depka 2006). 29

Abb. 9: ROC-Analyse für die aPTT, um eine Heparinmenge von ≥ 0,4 IE/ml zu erkennen. Es zeigte sich eine Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) von 0,852 (p-Wert 0,0004). 34

Abb. 10: ROC-Analyse für die TZ, um eine Heparinmenge von ≥ 0,4 IE/ml zu erkennen. Es zeigte sich eine Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) von 0,854 (p-Wert < 0,0001) 35

Abb. 11: ROC-Analyse der Protamintitration, um eine Heparinmenge ≥ 0,4 IE/ml zu erkennen. Es zeigte sich eine Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) von 0,743 (p-Wert 0,030) 37

Abb. 12: Regressionsgerade zur Unterscheidung der beiden angewendeten Messmethoden zur Bestimmung der ACT. Die Messwerte wurden gegeneinander aufgetragen. 38

II. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Bestandteile des angewendeten aPTT-Reagenzes 21

Tab. 2: Bestandteile des angewendeten Thrombinzeit-Reagenzes 22

Tab. 3: Bestandteile des angewendeten Anti-Xa-Reagenzes 23

Tab. 4: Bestandteile des angewendeten INTEM-Reagenzes 30

Tab. 5: Bestandteile des angewendeten HEPTEM-Reagenzes 31

Tab. 6: Demographische Daten des Patientenkollektivs 32

Tab. 7 Mediane mit Interquartilsabstand (inter quartile range; IQR) der konventionellen Gerinnungsparameter sowie der POC-Diagnostik zu den verschiedenen Messzeitpunkten. 33

Tab. 8: Daten der ROC-Analyse für die aPTT. Gezeigt ist der beste Cut-off-Punkt. 34

Tab. 9: Daten der ROC-Analyse für die TZ. Gezeigt sind der beste Cut-off-Punkt und die Überschreitung des oberen Normwerts. 35

Tab. 10: Daten der ROC-Analyse für die Protamintitration. Gezeigt sind der beste Cut-off-Punkt und die Überschreitung des oberen Normwerts. 36

III. Abkürzungsverzeichnis

ACT	Activated Clotting Time
ADP	Adenosindiphosphat
aPTT	aktivierte partielle Thrompoplastinzeit
ASA	American Society of Anesthesiologists
ASS	Acetylsalicylsäure
AT III	Anti-Thrombin III
ATPase	Adenosintriphosphatasen
AUC	Area under the Curve
BVAD	Biventricular Assist Device
CaCl2	Calciumchlorid
CFT	Clotting Formation Time
COX	Cyclooxygenase
CYP	Cytochrom-Pigment
CT	Clotting Time
ECMO	extrakorporale Membranoxygenierung
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
Extem	extrinsische Gerinnungsaktivierung
F I	Fibrinogen
F II	Prothrombin
F IIa	Thrombin
F III	Gewebsthromboplastin (Tissue Factor)
F IV	ionales Kalzium
ICR	Interquartilsabstand (Interquartile Range)
MCF	Maximum Clot Firmess
ML	Maximum-Lyse
Std	Standardabweichung

1 Einleitung

1.1 Behandlung von Herzerkrankungen mittels moderner Kardiochirurgie

Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems wie beispielsweise Arteriosklerose der Herzkranzgefäße gehören zu den häufigsten Todesursachen in den Industrienationen (Leitlinie Chronische KHK 2013). Als Therapiemöglichkeiten stehen konservative und interventionelle Methoden zur Verfügung wie z.B. Medikamente oder eine Koronarangiographie mit Stent-Implantation. Sind diese Verfahren bei fortgeschrittenen Veränderungen erschöpft, kommen chirurgische Verfahren zum Einsatz (Braunwald et al. 2002, Ruß et al. 2009, Werdan et al. 2012). Hierzu zählen neben Bypassoperationen auch Eingriffe wie der Herzklappenersatz oder Herzklappenrekonstruktionen. Auch Doppel- und Mehrfacheingriffe sind möglich (Eagle et al. 2004). Der Großteil dieser Operationen wird am offenen, nicht-schlagenden Herzen mittels extrakorporaler Zirkulation durchgeführt. Hierfür ist der Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine (HLM) erforderlich (Bojar 2011).

Im Folgenden soll die Funktionsweise einer HLM und auch mögliche Probleme durch die Anwendung dieses Verfahrens näher erläutert werden.

1.1.1 Aufbau einer HLM

Mit einer Herz-Lungen-Maschine ist es möglich, für die Dauer des Eingriffes die Funktionen des Herzens und der Lunge zu übernehmen (Pretzsch et al. 2007). Vereinfacht gesagt, wird dabei das Blut über ein Schlauchsystem geleitet, von Kohlendioxid befreit, mit Sauerstoff gesättigt und zurück in den Körper überführt (s. Abb. 1) (Born et al. 2010, Bojar 2011).

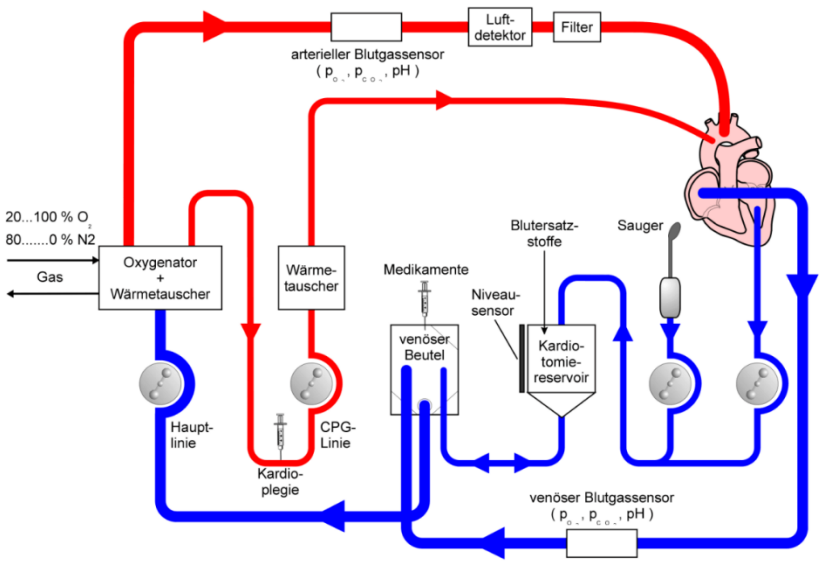


Abb. 1: Schematische Darstellung der Funktionsweise einer Herz-Lungen-Maschine. (http://www.biomed.ruhr-uni-bochum.de/forschun g/pic/9801p08a01.gif)

Nicht organische Oberflächen wie das Schlauchsystem der HLM aktivieren bei Kontakt des Blutes das Gerinnungssystem des Patienten. Es besteht die Gefahr, dass sich Blutgerinnsel bilden, die zu Makro- und Mikroembolien im gesamten Organsystem führen können (Hartmann et al. 2005, Striebel 2005, Schulte am Esch et al. 2011).

Sofern keine Kontraindikationen bestehen, wird zur Prophylaxe eines thrombembolischen Geschehens Heparin eingesetzt. Die Dosierung erfolgt gewichtsadaptiert mit 300 bis 400 IE/kg Körpergewicht (KG) (Fischlein 2000). Kurz vor dem Beginn der extrakorporalen Zirkulation wird das Heparin intravenös verabreicht. Nach Ende der extrakorporalen Zirkulation wird das vorhandene Heparin im Blut mit Protamin antagonisiert, so dass wieder physiologische Gerinnungsabläufe im Körper des Patienten erfolgen können (s. 1.2.2.2) (Hartmann et al. 2005, Thiel und Roewer 2013, Bojar 2011).

1.1.2 Vorteile einer HLM

Bei den in dieser Arbeit zugrunde liegenden Eingriffen muss das Herz während der Anlage eines oder mehrerer Bypässe und/oder des Einsetzens einer neuen Herzklappe kontrolliert aufhören zu schlagen. Dies wird mit Hilfe einer kardioplegen Lösung erreicht, die eine hohe Konzentration an Kalium enthält. Den Operierenden wird dadurch ein sicherer Zugang zum Herzen ermöglicht (Ruß et al. 2009, Menasché 2001).

Das Blut aus dem Operationsgebiet wird nicht verworfen, sondern über spezielle Sauger aufgefangen und dem Patienten über die HLM erneut zugeführt. Dabei handelt es sich um

eine wichtige patienteneigene Ressource. Viele Studien haben bereits präsentiert, dass es zu einer höheren Mortalität und Morbidität kommt, wenn vermehrt Fremdblut transfundiert wird (Leal-Noval et al. 2001, Avidan et al. 2004, Murphy und Pamphilon 2009, Kashuk et al. 2010, Johansson 2010, Haas 2012, Weber et al. 2012).

Nach Ende der extrakorporalen Zirkulation kann das restliche Blut aus dem System der Maschine gewonnen werden und dem Patienten als sogenanntes Maschinenblut zurückgegeben werden (Flom-Halvorsen et al. 2003, Zisman et al. 2009). Diese autologe Transfusion enthält jedoch Heparin. Somit kann nicht ausgeschlossen werden, dass es hierdurch zu einer Beeinflussung des Gerinnungssystems kommt. Dies soll im Rahmen dieser Arbeit näher untersucht werden.

1.1.3 Probleme bei Operationen unter Einsatz einer HLM

Der dargestellte Mechanismus stellt einen gravierenden Eingriff in die menschliche Physiologie dar. Eine Reihe von Komplikationen kann während, aber auch nach der Operation auftreten. Eine unerwünschte Folge sind Nachblutungen (Fischlein 2000, Bojar 2011).

Postoperative Blutungskomplikationen auf der Intensivstation sind gefürchtet, da der Patient hierdurch vital bedroht sein kann. Die Ursachen können vielseitig sein. Zum einen sind die Blutungskomplikationen chirurgischer Natur, die durch eine erneute operative Intervention behandelt werden müssen. Zum anderen kann die Ursache auch in der Blutgerinnung selbst liegen. Es können sowohl die plasmatische als auch die zelluläre Gerinnung betroffen sein. Hierbei können ein Mangel an Gerinnungsfaktoren oder ein Mangel bzw. eine gestörte Funktion der Thrombozyten ursächlich sein. Thrombozyten tragen wesentlich zur Blutgerinnung bei (Hartmann et al. 2005). Bei Operationen mit einer HLM kann es zum Verlust oder zur eingeschränkten Funktion der Blutplättchen kommen. Beispielsweise können mechanischer Stress oder Hypothermie während des Eingriffs zu Veränderungen der Oberflächenrezeptoren mit konsekutiven Funktionseinschränkungen führen (Fischlein 2000, Paparella et al. 2004, Tanaka et al. 2009).

Trotz erfolgter Antikoagulation zeigt sich eine Aktivierung von Gerinnungsfaktoren, die auch über das Operationsende hinaus andauern kann (Zisman et al. 2009). Der Verbrauch von Gerinnungsfaktoren mit reaktiver Hyperfibrinolyse stellt einen weiteren Auslöser postoperativer Blutungen dar (Luxembourg et al. 2007). Standardisiert werden daher intraoperativ Antifibrinolytika intravenös verabreicht (Fischlein 2000, von Heymann et al. 2006, Lancé et al. 2010).

Auch wenn vor Beendigung der Operation eine Antagonisierung mit Protamin erfolgt, kann trotzdem ein Heparinüberschuss eine mögliche Ursache für ein postoperatives Blutungsereignis darstellen (Gravlee et al. 1992, Khuri et al. 1995, Griffin et al. 2001, Mittermayr et al. 2009, Karow und Lang-Roth 2013). Der letztgenannte Punkt soll im Rahmen dieser Arbeit eingehender betrachtet werden.

1.2 Blutgerinnung

Sobald es im Körper des Menschen zu Verletzungen kommt, werden automatisch Mechanismen in Gang gesetzt, die der Blutstillung dienen.

In den meisten Lehrbüchern wird auch heute noch zwischen primärer und sekundärer Hämostase unterschieden sowie bei letzterer zwischen einem exogenen (extrinsischen) und endogenen (intrinsischen) Weg (s. Abb. 2) (McFarlane 1964, Lang und von Depka 2006, Burgis 2008, Kochs et al. 2008, Karow und Lang-Roth 2013). Dieses Modell, das die Aktivierung einer spezifischen Enzymkaskade unter Beteiligung verschiedener Cofaktoren beinhaltet, ist jedoch abgelöst worden durch ein neueres Verständnis für die Zusammenhänge von plasmatischer und zellulärer Gerinnung (Hoffman und Monroe 2001, Kochs et al. 2008, Karow und Lang-Roth 2013).

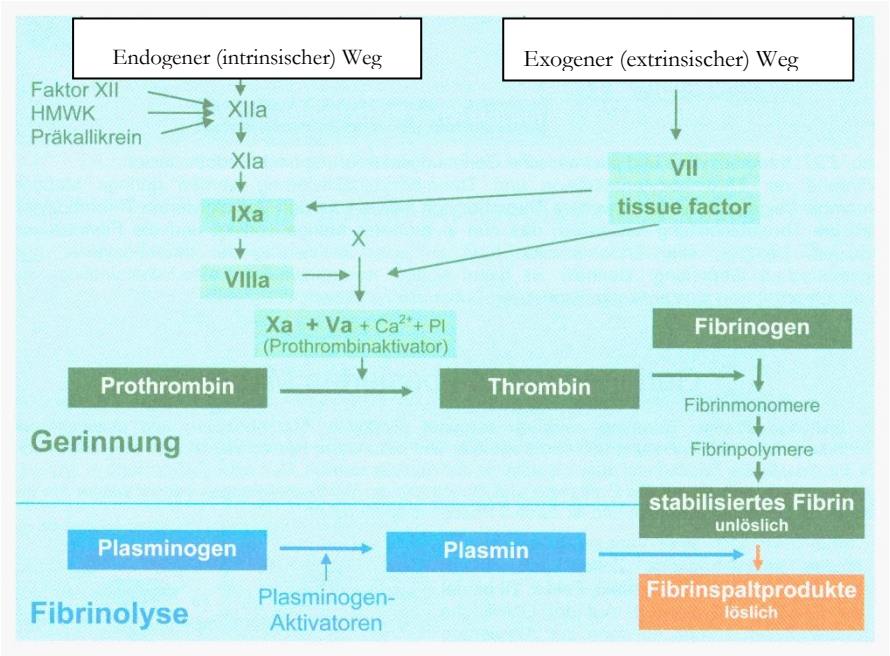


Abb. 2: Gerinnungskaskade (modifiziert nach Karow und Lang-Roth 2013)

Ende der neunziger Jahre zeigten Untersuchungen, dass das bisherige Verständnis über das Gerinnungssystem revidiert werden musste. Hoffman und Monroe prägten den Begriff eines

Zell-basierten Gerinnungsmodels (Hoffman und Monroe 2001). Hierbei spielt die Interaktion zwischen einem Faktor-VIIa-Tissue-Factor-Komplex (F-VIIa-TF-Komplex) und der Zelloberfläche aktivierter Thrombozyten eine entscheidende Rolle. Hieraus wird ersichtlich, dass ein Mangel oder eine Fehlfunktion der Blutplättchen einer effizienten Fibrinbildung entgegensteht (Monroe und Hoffman 2006, Kochs et al. 2008). Im Zell-basierten Gerinnungsmodel werden drei Phasen unterschieden (s. Abb. 3) (Smith 2009).

Während der sogenannten Initiation kommt das Blut nach einer Verletzung mit TF (Tissue Factor), welcher beispielsweise auf Fibroblasten exprimiert wird, in Berührung. Hierbei kommt es zur Bildung eines Komplexes aus TF und aktivierten Faktor VII (F VIIa), der im Blut zirkuliert. Jetzt werden F X und IX sowie in der Folge auch F V aktiviert. Dies bewirkt die Bildung einer zunächst geringen Menge an Prothrombinase und Thrombin (F IIa).

Während der 2. Phase, der Amplifikation verstärkt das gebildete Thrombin die Adhäsion und Aktivierung der Thrombozyten. Auf der Oberfläche der Blutplättchen kommt es nun zu weiteren wichtigen Schritten der Gerinnung. F V, F VIII sowie F XI werden aktiviert. Dies ermöglicht in der Folge die dritte Phase der Gerinnung, die Propagation.

Vermehrt wird auf der Plättchenoberfläche Tenase und Prothrombinase gebildet. Dabei handelt es sich um verschiedene spezifische emzymatische Komponenten der plasmatischen Gerinnung. Hierdurch wird eine enorme Menge an Thrombin produziert, dies wird auch als Thrombinburst bezeichnet. Anteil an weiterer Stabilität des Clots hat durch Thrombin aktivierter F XIII. Als Ergebnis kommt es zur Entstehung eines stabilen Fibringerinnsels (Monroe und Hoffman 2006), (Roberts et al. 2006), (Smith 2009), das die Integrität des Gefäßsystems wieder herstellt.

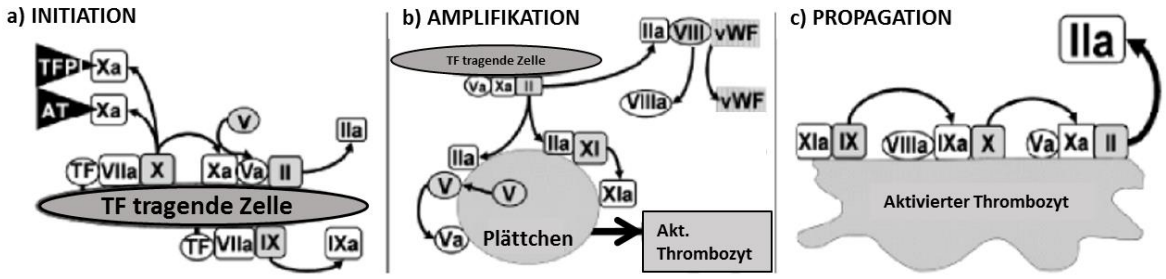


Abb. 3: Die drei Phasen des Zell-basierten Gerinnungsmodels, modifiziert nach Smith 2009

1.2.1 Medikamentöse Therapie kardiochirurgischer Patienten

Ansatzpunkte für eine medikamentöse Beeinflussung des Gerinnungssystems bieten sich an verschiedenen Stellen. Insbesondere Patienten, die an einer koronaren Herzkrankheit (KHK) leiden oder bereits einen Herzinfarkt erlitten haben, werden Thrombozytenaggregationshemmer als Sekundärprophylaxe empfohlen. Auch nach Intervention sowie Stentimplantation sind sie angezeigt (van Es et al. 2002, Leitlinie Chronische KHK 2013, Karow und Lang-Roth 2013). Die perioperative Anpassung der antiaggregativen Medikation erfolgt nach individueller Risikoabwägung.

Die Wirkmechanismen der unterschiedlichen Substanzgruppen sollen im Folgenden kurz erläutert werden.

1.2.1.1 Acetylsalicylsäure (ASS)

ASS hemmt die Cyclooxygenase (COX) irreversibel. Dieses Enzym bildet aus Arachidonsäure zum einen in den Endothelzellen Prostazyklin, zum anderen in den Thrombozyten den Gegenspieler Thromboxan. Prostazyklin zirkuliert im Blut und vermittelt eine Vasodilatation sowie eine Hemmung der Thrombozytenaggregation. Thromboxan hingegen bewirkt eine Vasokonstriktion und fördert die Aggregation der Thrombozyten. Obwohl ASS an den Endothelzellen und an den Thrombozyten angreift, hebt sich die Wirkung nicht etwa auf, sondern der aggregationshemmende Effekt überwiegt. Blutplättchen besitzen keinen Zellkern. Somit ist die Wirkung von ASS erst mit Ende ihrer Lebensdauer, etwa nach 7-10 Tagen, aufgehoben. Endothelzellen hingegen synthetisieren die COX innerhalb einiger Stunden nach (Burgis 2008, Miceli et al. 2013, Karow und Lang-Roth 2013).

ASS stellt den Thrombozytenaggregationshemmer der ersten Wahl dar (Karow und Lang-Roth 2013).

1.2.1.2 ADP-Rezeptorantagonisten

Clopidogrelhydrogensulfat ist ein irreversibler thrombozytärer ADP-Rezeptorantagonist. Adenosindiphosphat (ADP) hat eine aggregationsfördernde Wirkung und ist an der Bindung von Fibrinogen an die Blutplättchen mitbeteiligt. Bei dem Medikament handelt es sich um ein Prodrug. Der aktive Metabolit entsteht durch Hydrolyse und Oxidation unter Beteiligung von CYP2B6, CYP3A4 sowie CYP2C19 in der Leber. Die Wirkdauer beträgt 3-10 Tage. Indiziert ist es neben ASS bei akutem Koronarsyndrom oder auch nach Herzkathetereingriffen mit Stent-Implantation (Yusuf et al. 2001, van Es et al. 2002, Burgis 2008, Wallentin et al. 2009, Darius 2010, Mehta et al. 2010, Miceli et al. 2013, Karow und Lang-Roth 2013).

Prasugrel und Ticagrelor zählen zu den neueren ADP-Rezeptorantagonisten und können beim akuten Koronarsyndrom alternativ zu Clopidogrel in Kombination mit ASS verabreicht werden. Beide Substanzen wirken bereits nach 30 Minuten. Hierunter traten allerdings auch signifikant mehr Blutungsereignisse auf als unter Clopidogrel (Wiviott et al. 2007). Im Falle des Prasugrels bindet der aktive Metabolit irreversibel und spezifisch am Oberflächenprotein des ADP-Rezeptors der Blutplättchen. Die Metabolisierung erfolgt mittels CYP3A4 und CYP2B6. Die Wirkdauer beträgt 5-10 Tage. Bei Ticagrelor hingegen handelt es sich um eine aktive Substanz, die Bindung erfolgt ebenfalls spezifisch am ADP-Rezeptor, unter Beteiligung von CYP3A4 kann das Medikament letztlich über die Niere abgebaut werden. Die Wirkdauer beträgt 3-4 Tage (Wiviott et al. 2007, Wallentin et al. 2009, Karow und Lang-Roth 2013).

1.2.1.3 Phenprocoumon und NOA (neue orale Antikoagulantien)

Phenprocoumon ist ein Vitamin-K-Antagonist, durch den die Vitamin-K-Epoxidreduktase sowie die Vitamin-K-Chinon-Reduktase gehemmt werden. Diese Enzyme sind an der Carboxylierung von Glutaminsäure beteiligt. Fehlt diese Funktion, so entstehen unvollständige Vorstufen der Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X in der Leber. Die Wirkung tritt aufgrund noch intakter Vitamin K-abhängiger Gerinnungsfaktoren verzögert ein, etwa ab dem dritten Tag nach Therapiebeginn. Indiziert ist dieses Medikament beispielsweise bei chronischem Vorhofflimmern, als Thrombemboliepropphylaxe bei mechanischen Herzklappen oder bei erworbenen Herzklappenvitien nach einem thrombembolischen Ereignis (Burgis 2008, Kemkes-Matthes 2008, Karow und Lang-Roth 2013).

Inzwischen werden auch die zugelassenen Indikationen für die neuen oralen Antikoagulantien wie Dabigatran und Rivaroxaban immer breiter. Diese Medikamente hemmen direkt den Faktor II bzw. X der Blutgerinnung. Hierbei besteht der Vorteil, dass anders als beim Phenprocoumon keine engmaschigen Laborkontrollen erfolgen müssen. Es werden dennoch vergleichbare Wirkungen erzielt. Der therapeutische Nutzen setzt bereits nach der ersten Einnahme ein. Die Wirkung ist bei Auslassen der Einnahme entsprechend der jeweiligen Halbwertzeit von ca. 13 bzw. 9 Stunden rascher aufgehoben. Dadurch besteht dann erneut ein Schlaganfall- oder Embolierisiko. Andererseits wird ein operativer Eingriff zeitnah möglich, da lange Umstellungsphasen wegfallen (Heindl und Spannagl 2009, Lancé et al. 2010, Völler et al. 2010, Karow und Lang-Roth 2013).

1.2.2 Medikamente, die die Blutgerinnung unter HLM beeinflussen

Im Folgenden soll mehr auf die Medikamente eingegangen werden, die für die vorliegende Arbeit von Bedeutung sind. Während einer Operation unter Zuhilfenahme einer HLM werden bezogen auf die Blutgerinnung besondere Voraussetzungen benötigt.

1.2.2.1 Heparin

Heparin ist ein Mucopolysaccharid (s. Abb. 4) und gehört zu den Glukosaminoglykanen. Zu therapeutischen Zwecken eingesetztes Heparin wird aus Rinderlungen oder aus der Darmmukosa von Schweinen extrahiert (Karow und Lang-Roth 2013).

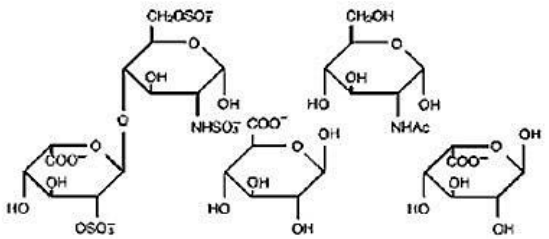


Abb. 4: Strukturformel von Heparin. (http://www.thromboseportal.at/_images/patienteninfos/13_Heparin_Strukturformel.jpg)

Der Abbau von Heparin erfolgt in der Leber mittels Hydrolyse durch Heparinasen, die Metabolite werden renal ausgeschieden (Mahnel et al. 2009, Karow und Lang-Roth 2013).

Heparin geht eine Verbindung mit Plasmaproteinen, insbesondere dem Antithrombin III (ATIII), ein und verstärkt dabei dessen Wirkung um den Faktor 700 bis 1000. Als Cofaktor bewirkt Heparin eine Konformationsänderung des Antithrombins. Dieser Komplex inaktiviert den sogenannten Prothrombinasekomplex, bestehend aus Faktor X, V, Calciumionen und Phospholipiden. Auch Faktor II (Thrombin), IX, XI und XII sowie Kallikrein, eine Serinprotease, werden gehemmt. Die Wirkung ist erheblich von der Plasmaeiweißbindungskapazität abhängig. Bei einem Mangel an ATIII ist der Effekt von Heparin folglich vermindert (Preissner 2008), (Mahnel et al. 2009), (Karow und Lang-Roth 2013). Die HWZ wird bei einer Dosierung von 400 IE/kg KG intravenös (i.v.) zwischen zwei und drei Stunden angenommen (Burgis 2008).

Für eine Operation mit extrakorporaler Zirkulation wird standardisiert unfraktioniertes Heparin (UFH) verwendet. Dabei kann das Medikament fast vollständig mit Protamin antagonisiert werden (Mahnel et al. 2009, Lancé et al. 2010, Karow und Lang-Roth 2013).

1.2.2.2 Protamin

Protamin ist ein Heparinantagonist und wird aus dem Samen des Onchorhynchus keta (Lachs) gewonnen. Verwendet wird das Salz des gewonnenen Proteins, dabei gibt es zwei Formen, die sich in der Wirkung nicht unterscheiden, zum einen das Protaminsulfat und zum anderen das Protaminhydrochlorid. Das Medikament wird im Blut enzymatisch metabolisiert, zum größten Teil über die Niere und im geringen Maße auch hepatisch ausgeschieden (Karow und Lang-Roth 2013).

Es findet Anwendung bei einer Überdosierung von Heparin und wie oben bereits beschrieben als Antidot nach der extrakorporalen Zirkulation (Griffin et al. 2001, Hartmann et al. 2005, Karow und Lang-Roth 2013).

Aufgrund der speziellen ionischen Komplexbildung kann lediglich UFH in vollem Umfang neutralisiert werden, der Effekt auf niedermolekulares Heparin (NMH) wird als gering beschrieben (Burgis 2008, Mahnel et al. 2009, Karow und Lang-Roth 2013). Protamin selbst zeigt im ungebundenen Zustand etwa bei einer Überdosierung gerinnungshemmende Eigenschaften und kann dann zu einer aPTT-Verlängerung führen (Mochizuki et al. 1998, Griffin et al. 2001, Hartmann et al. 2005, Khan et al. 2010, Karow und Lang-Roth 2013). Auch ein Mangel an Thrombozyten oder Faktorenmangel kann zu einer Überdosierung beitragen (Nielsen 2006, Bolliger et al. 2010).

1.3 Ziel der vorliegenden Arbeit

Postoperative Blutungen nach kardiochirurgischen Eingriffen, die unter Einsatz einer HLM durchgeführt werden müssen, können auch heute noch eine vitale Bedrohung für die betroffenen Patienten darstellen. In solchen Fällen muss zügig entschieden werden, welche Therapie am besten zum Sistieren der Blutung führen wird.

Eine mögliche Ursache stellt eine zu hohe Restkonzentration von Heparin im Blut des Patienten nach Ende der Operation dar. Ziel dieser Arbeit soll es sein, herauszufinden, wie häufig solch ein Überschuss zu beobachten ist und mit welcher laborchemischen Methode er zuverlässig erkannt werden kann.

Ein weiterer Aspekt ist die Tatsache, dass dem Patienten durch die Gabe des „Maschinenblutes“ auch Heparin zugeführt wird. Dieses Blut wird nach Beenden der extrakorporalen Zirkulation aus der HLM gewonnen. Ziel war die Klärung, ob die hierdurch zugeführte Heparinmenge einen relevanten Effekt auf die Blutgerinnung hervorruft.

2 Material und Methoden

2.1 Patienten

Das Studienprotokoll wurde unter der Antragsnummer 8/6/12 durch die zuständige örtliche Ethikkommission am 08.07.2010 nach zwei Revisionen (s. Anhang) genehmigt. Daraufhin begann das Screening der Patienten. Folgende Einschlusskriterien wurden für die Studienteilnehmer festgelegt:

- Alter: zwischen 18 und 90 Jahren;
- Geschlecht: männlich/weiblich;
- Risikogruppe: ASA II bis IV;
- Geplante Operation mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine

Folgende Ausschlusskriterien wurden festgelegt:

- Risikogruppe: ASA V
- Patienten, die postoperativ ein Assist-System benötigen, welches eine kontinuierliche Heparintherapie erfordert (ECMO, LVAD, RVAD, BVAD)
- Patienten mit einer allergischen Reaktion auf Protamin
- Patienten mit bekannter HIT Typ II
- Es wurden von August 2010 bis September 2011 ca. 250 Patienten gescreent, davon wurden 100 Patienten eingeschlossen.

Da es sich um eine prospektive, beobachtende Studie handelte, wurde kein Einfluss auf die Behandlung der Patienten genommen.

Dokumentiert wurden alle Medikamente mit Einfluss auf die Blutgerinnung wie Acetylsalicylsäure, Clopidogrel, Prasugrel oder Ticagrelor sowie der Zeitpunkt der letzten Einnahme präoperativ.

Auch Probanden, die Cumarine eingenommen haben, wurden dokumentiert, in aller Regel wurde das Medikament bereits vor Klinikeinweisung pausiert.

2.1.1 Studieneinschluss

Die Patienten wurden einen Tag präoperativ mündlich sowie schriftlich (s. Anhang) über die Studie, den Studienablauf und die erforderlichen Blutentnahmen aufgeklärt und willigten schriftlich in die Untersuchung ein.

2.2 Blutentnahmen

Die Blutproben wurden über einen liegenden arteriellen Zugang gewonnen. Um eine Verdünnung zu vermeiden, wurde zunächst eine ausreichende Menge Blut (ca. 3-faches Totraumvolumen der Zuleitung) abgezogen und verworfen. Lediglich die Ausgangswerte konnten über einen zentralen Venenkatheter (ZVK) entnommen werden. Auch hierbei wurde eine ausreichende Menge Blut verworfen, um einer Verdünnung vorzubeugen. Am Abnahmeschenkel liefen keinerlei andere Medikamente wie etwa Heparin, um Verfälschungen der Werte auszuschließen.

2.2.1 Messzeitpunkte (MZP)

Die Blutentnahmen wurden zu drei Messzeitpunkten durchgeführt bzw. dokumentiert.

2.2.1.1 Vor der Operation = MZP 1

Am Aufnahmetag wurde durch die Station der aktuelle Gerinnungsstatus des Patienten durch die Bestimmung der Thromboplastinzeit nach Quick, die aPTT und die Bestimmung der Thrombozytenzahl ermittelt. In den meisten Fällen wurde zusätzlich auch die Fibrinogenkonzentration bestimmt. Diese Daten wurden der Patientenakte entnommen.

Zusätzlich zu den genannten Routineuntersuchungen wurde präoperativ die Anti-Xa-Aktivität bestimmt. Dazu wurde unmittelbar vor Beginn der Operation eine Monovette mit Citratblut abgenommen. Aus dieser Blutprobe wurde neben der Anti-Xa-Aktivität auch erneut die aPTT und TZ ermittelt, so dass alle drei Werte zum gleichen Zeitpunkt bestimmt werden konnten.

Die Blutprobe wurde bei 3000 Umdrehungen pro Minute (U/min) für zehn Minuten zentrifugiert (Labofuge 400R-Function Line, Heraeus instruments). Der Überstand wurde unter Schonung des Buffy Coats (Leukozytenfilm zwischen Plasma und Erythrozyten) in ein kleineres Röhrchen überführt. Dieses wurde mit einer Nummer versehen und sofort bei -20°C eingefroren. Die Bestimmung der Anti-Xa-Aktivität erfolgte gesammelt durch die Abteilung Klinische Chemie im Universitätsklinikum Göttingen.

2.2.1.2 Nach der Operation = MZP 2

Um einen einheitlichen Messzeitpunkt zu haben, wurden die nächsten Proben im OP durch Mitarbeiter der Anästhesie abgenommen. Die Blutentnahme erfolgte mit den sogenannten „15-nach-Werten“. 15 Minuten nach Antagonisierung des Heparins mit Protamin wird routinemäßig die ACT mit Hilfe des Haemochron®-Gerätes bestimmt. Für diese Studie wurden zusätzlich drei Monovetten mit Citratblut abgenommen, die dann auf der Intensivstation entgegengenommen wurden. Zeitnah und vor Gabe des Maschinenblutes wurde über den liegenden arteriellen Zugang des Patienten Nativblut mit einer Monoject-Spritze ohne Zusätze abgenommen. Mit Hilfe des Hepcon® und Haemochron®-Gerätes wurde jeweils die ACT bestimmt.

Die erste Monovette Citratblut wurde zur erneuten Anti-Xa-Bestimmung bei 3000 U/min für zehn Minuten zentrifugiert, der Überstand in ein neues Röhrchen überführt und eingefroren. Auch hiervon wurden neben der Anti-Xa-Aktivität, aPTT und TZ ermittelt.

Die zweite Monovette wurde zur Ermittlung des Fibrinogens in das Zentrallabor geschickt.

Die dritte Monovette wurde für die Rotationsthromboelastometrie (ROTEM®) verwendet. Diese Messung wurde zeitnah nach Aufnahme des Patienten auf der Intensivstation durchgeführt. Das Nativblut aus der Monoject-Spritze wurde unmittelbar nach der Blutentnahme für die Messung der ACT und semi-quantitativen Bestimmung der Heparinkonzentration durch eine Protamintitration im Hepcon® verwendet. Nach Eingabe von Größe, Gewicht und Geschlecht des Patienten konnte die Messung gestartet werden. In den ersten zwei Kanälen wurde standardisiert die ACT bestimmt. In weiteren vier Kanälen wurde automatisiert mittels Protamintitration die Heparinkonzentration in der Vollblutprobe bestimmt. Wenn ein Heparinüberschuss detektiert wurde, konnte die notwendige Menge an Protamin ebenfalls errechnet werden.

Ein Teil des Blutes aus dieser Monovette wurde für die Bestimmung der ACT im Haemochron®-Gerät verwendet. Nach Applikation des Blutes in die dafür vorgesehene Katusche wurde auch hier automatisiert die ACT ermittelt.

2.2.1.3 Nach Gabe des Maschinenblutes (MB) = MZP 3

Während der Operation wird kontinuierlich patienteneigenes Blut aus dem Operationsgebiet gesammelt und wieder aufbereitet. Nach Beenden der extrakorporalen Zirkulation wird das restliche Blut, das im System verblieben ist, in einem Beutel zur Retransfusion bereitgestellt. Umgangssprachlich wird dieses autologe Blut als Maschinenblut bezeichnet.

In der Regel wurden zwischen 500 und 1000 ml autologes Patientenblut auf der Intensivstation transfundiert. Teilweise war es aus medizinischer Indikationsstellung notwendig, dass bereits auf der Fahrt vom Operationssaal zur Überwachungsstation Teile des MB verabreicht wurden. In diesen Fällen konnte keine ACT mittels Hepcon® vor MB ermittelt werden. Die ACT mittels Haemochron® konnten dem Anästhesieprotokoll entnommen werden.

Nach der Transfusion des Maschinenblutes wurden erneut drei Citratmonovetten und ein Nativröhrchen zur Bestimmung von aPTT, Thrombinzeit, Anti-Xa-Aktivität, ACT und Rotationsthromboelastometrie abgenommen und wie unter 2.2.1.1 bereits beschrieben, untersucht.

2.3 Durchgeführte Tests

Die verwendeten Tests sollen an dieser Stelle ausführlicher erklärt werden.

2.3.1 aPTT

Mit Hilfe der aPTT ist es möglich, Aussagen über das intrinsische Gerinnungssystem zu erhalten. Damit lässt sich eine Heparintherapie überwachen, aber auch ein Mangel an verschiedenen Gerinnungsfaktoren erkennen, die durch Heparin beeinflusst werden (s. Abb. 2). Es gibt eine Reihe von Faktoren, die unabhängig von einer Heparintherapie zu Veränderungen führen können. Bei einer zu langen venösen Stauung vor Abnahme des Blutes oder zu schneller Aspiration kann es zu Verfälschungen der aPTT kommen. Vermehrte Ansammlungen von Fibrinspaltprodukten im Blut, wie sie z.B. nach einer extrakorporalen Zirkulation vorkommen, können zu einer Verlängerung führen. Protamin selbst zeigt bei Überdosierung einen gerinnungshemmenden Effekt (Karow und Lang-Roth 2013). Bei Entzündungen im Körper oder nach Operationen kann dieser Test hingegen verkürzt sein (Mochizuki et al 1998, Griffin et al. 2001, Hartmann et al. 2005, Kochs et al. 2008, Khan et al. 2010, Schulte am Esch et al. 2011).

Im Folgenden soll die Durchführung dieser Methode näher beschrieben werden.

Das Citratblut wurde bei 3000 U/min für zehn Minuten zentrifugiert, der Überstand unter Schonung des Leukozytenfilms in ein neues, verschließbares Röhrchen überführt und sofort bei -20°C eingefroren. Die weitere Bestimmung der aPTT erfolgte gesammelt durch Mitarbeiter der klinischen Chemie.

Hierfür wurde Dade® Actin® FSL Reagenz (Produktnummer: B4219-2) von der Firma Dade Behring Marburg GmbH verwendet. Zunächst werden in ein Kunststoffröhrchen

0,1 ml Dade® Actin® FSL Reagenz und 0,1 ml Plasma pipettiert und vermischt. Es folgt für 180 Sekunden eine Inkubation bei 37°C. Als nächstes wird zum Starten der Messung 0,1 ml vorgewärmtes Calciumchlorid (0,2 M) gegeben.

Die Zeit bis zum Einsetzten der Gerinnung wird in Sekunden wiedergegeben. Die Norm bei einem Erwachsenen liegt zwischen 26 und 37 Sekunden.

Reagenz	***Zusammensetzung***
Dade® Actin® FSL Reagenz	Gereinigte Sojabohnen- und Kaninchen-hirnphospholipide in 1,0 x 10^{-4} M Ellag-säure, gepuffert, stabilisiert und konserviert

Tab. 1: Bestandteile des angewendeten aPTT-Reagenzes

2.3.2 Thrombinzeit (TZ)

Eine Verlängerung der TZ kann erfasst werden, wenn die Thrombinbildung gehemmt ist. Etwa bei Anwesenheit von Heparin im Blut, bei Überdosierung von Protamin oder bei Vorliegen von Fibrinspaltprodukten. Auch bei einem Mangel an Fibrinogen ist die TZ verlängert (Kochs et al. 2008), (Barthels 2013).

Der Test stellt in der heutigen Praxis jedoch keinen Standard mehr dar. Zum einen ist die Methode störanfällig gegenüber einer Reihe von Variablen, wie z.B. pH-Wert oder verwendete Reagenzien, zum anderen kann das Fibrinogen heute laborchemisch direkt bestimmt werden (Schulte am Esch et al. 2011).

Im Folgenden soll die Durchführung dieser Methode näher beschrieben werden.

Auch die Thrombinzeit wurde aus Citratblut bestimmt.

Hierfür wurde BC-Thrombin-Reagenz der Firma Siemens Healthcare Diagnostics GmbH (Produktnummer: OWNA 11) verwendet. Dieses Reagenz enthält Thrombin, welches den natürlichen Aktivator des Fibrins darstellt. Quantitativ wird die Zeit bis zur Bildung eines Gerinnsels gemessen.

In ein auf 37°C vorgewärmtes Röhrchen werden 0,1 ml Citratblut und 0,25 ml BC-Thrombin-Reagenz gegeben. Mit Zugabe des Reagenzes startet die Messung.

Der Wert wird in Sekunden angegeben. Die Norm liegt im Labor des Universitätsklinikums Göttingen bei 15 bis 22 Sekunden.

Reagenz	*Zusammensetzung*
BC-Thrombin-Reagenz	lyophilisiert: Thrombin vom Rind, Albumin vom Rind
Pufferlösung für BC-Thrombin-Reagenz	HEPES, pH 7,4 Konservierungsmittel: 5-Chlor-2-methyl-isothiazol-3-on (6 m g/l) und 2-Methyl-isothiazol-3-on (2m g/l)

Tab. 2: Bestandteile des angewendeten Thrombinzeit-Reagenzes

2.3.3 Anti-Xa-Aktivität

Ein direkter Test zur Erfassung von Heparin im Blut ist die Anti-Xa-Aktivität. Hierbei stehen die niedermolekularen Heparine (fraktionierte) im Vordergrund. Diese Gruppe hemmt den Faktor Xa der Blutgerinnung mehr als die unfraktionierten. Weshalb dieser Test zur Überwachung einer Therapie mit fraktionierten Heparinen dienen kann (Kochs et al. 2008).

Der Heparin-AT III-Komplex hemmt das Thrombin und den Faktor Xa im Blut des Patienten. Als Anti-Xa-Aktivität wird die Summe aller Substanzen in der Probe bezeichnet, die den Faktor Xa hemmen, in erster Linie alle niedermolekularen Heparine. Das wiederum bedeutet, je mehr Heparin in der Probe detektiert werden kann, desto höher ist die Anti-Xa-Aktivität und desto weniger freier Faktor Xa ist im Blut zu finden (Kochs et al. 2008, Bruhn et al. 2011).

In dieser Studie erfolgte die Bestimmung der Anti-Xa-Aktivität zum einen, um auszuschließen, dass bei den Studienpatienten präoperativ niedermolekulare Heparine verabreicht wurden. Zum anderen wurde die Anti-Xa-Aktivität als Referenzmethode zum Nachweis von Heparin benutzt.

Im Folgenden soll die Durchführung dieser Methode näher beschrieben werden, die nicht zur Routine zählt.

Hierfür wurde das Blut in der Citratmonovette bei 3000 U/min für zehn Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues verschließbares Röhrchen überführt und beschriftet. Dabei wurde konsequent der Buffy Coat geschont. Die Probe wurde im Anschluss sofort bei -20°C eingefroren. Die Bestimmung der Anti-Xa-Aktivität erfolgte durch Mitarbeiter der klinischen Chemie.

Verwendet wurde hierfür Berichrom®Heparin (Produkt Nummer: OWLD11) von Dade Behring Marburg GmbH. Hierbei wird mittels eines chromogenen Substrates die Extinktionszunahme des restlichen Faktor Xa‘s bei einer Wellenlänge von 405 Nanometern (nm) bestimmt.

Zunächst wird mit Hilfe von Dextransulfat gebundenes Heparin in der Blutprobe freigesetzt und somit messbar. 50 µl der Probe werden mit 50 µl ATIII-Reagenz und 500 µl Faktor Xa-Reagenz vermischt und für eine Minute bei 37°C inkubiert. Der Heparin-ATIII-Komplex inaktiviert den Faktor Xa. Je mehr Heparin im Blut des Patienten vorhanden ist, desto weniger freier Faktor Xa kann am Ende der Messung detektiert werden. Um diese Menge sichtbar zu machen, wird nun 100 µl Substrat-Reagenz hinzugegeben, die Probe gemischt und nochmals bei 37°C inkubiert. Freier Faktor Xa ist in der Lage, diesen Farbstoff zu spalten. Je mehr Farbstoff ermittelt werden kann, desto mehr freier Faktor Xa befindet sich in der Blutprobe. Die Extinktion kann nun bei 405 nm ermittelt werden.

Die Auswertung erfolgt anhand einer zuvor angefertigten Bezugskurve mit unfraktioniertem Heparin.

Die Anti-Xa-Aktivität wird in Internationalen Einheiten pro Milliliter (IE/ml) angegeben. Bei Werten kleiner 0,1 IE/ml ist kein Heparin in der Probe nachweisbar. Zwischen 0,1 und 0,4 IE/ml wird von einer Low-Dose- und bei Werten größer als 0,4 IE/ml von einer High-Dose-Konzentration im Blut des Patienten gesprochen.

Reagenz	***Zusammensetzung***
Faktor-Xa-Reagenz	Lyophilisiert; Plasma-Fraktion (human) mit Zusatz von Tris (6 g/l), Natriumchlorid (12 g/l) und EDTA (0,74 g/dl); Konservierungsmittel: Natriumazid (< 1 g/l)
Dextransulfat-Reagenz	Lyophilisiert; Konzentration in der Gebrauchslösung: 0,02 g/l
ATIII-Reagenz	(human), lyophilisiert; Konzentration in der Gebrauchslösung: 1 IU/ml; Konservierungsmittel: Natriumazid (< 0,1 g/l)
Substrat-Reagenz	Lyophilisiert; Konzentration in der Gebrauchslösung: Z-D-Leu-Gly-Arg-ANBA-methyl-amid 4 mmol/l

Tab. 3: Bestandteile des angewendeten Anti-Xa-Reagenzes

2.3.4 Activated Clotting Time (ACT) und Protamintitration

Die Bestimmung der ACT stellt ein wichtiges *Point-of-Care-* (POC-) Monitoringverfahren dar. Diese Methode ähnelt der aPTT, wobei hierfür Vollblut verwendet wird (Racioppi et al. 2009). Die ACT ist ein unspezifischer Test, der zum Monitoring verwendet werden kann, jedoch nicht für die Diagnostik geeignet ist (Despotis et al. 1994, Despotis et al. 1997, Murray et al. 1997, Spannagl und Calatzis 2002, Mittermayr et al. 2009).

Im Universitätsklinikum Göttingen kommen zwei verschiedene Methoden regelmäßig zum Einsatz. Zum einen wird die Messung mit Hilfe des Oberflächenaktivators Celite® (Kieselgur) gestartet. Bis zum Auftreten des ersten Fibrins (ACT) wird die Zeit in Sekunden gemessen. Zum anderen wird die ACT über den Kontaktaktivator Kaolin ermittelt. Bei letzterer kann zusätzlich die Heparinkonzentration mittels Protamintitration bestimmt werden.

Das Verfahren mit Hilfe des Oberflächenaktivators Celite® wird bei den herzchirurgischen Eingriffen angewendet, um die Heparinisierung und die Antagonisierung des Heparins zu überwachen. Auf der Intensivstation wird zusätzlich noch die ACT über den Kontaktaktivator Kaolin ermittelt und eventuell überschüssiges Heparin mittels Protamintitration bestimmt.

Im Folgenden soll die Durchführung dieser Methoden anhand der beiden verwendeten Geräte näher beschrieben werden.

2.3.4.1 Haemochron®

Die ACT-Bestimmung mit Hilfe des Oberflächenaktivators Celite® erfolgt mit dem Haemochron® Jr. Signature von der Firma Keller Medical. Dazu wurde die Küvette mit einem großen Tropfen Vollblut befüllt. Die Heparinkonzentration kann laut Hersteller bis zu einer Grenze von 2,5 IE/ml Blut bestimmt werden.

Die hierfür nötigen Einmalkartuschen wurden im Kühlschrank bei 2-8°C aufbewahrt. Erst kurz vor der Messung wurde die Kartusche aus ihrer Einzelverpackung entnommen und in die dafür vorgesehene Öffnung geschoben. Nach einer kurzen Aufwärmphase durch das Gerät selbst konnte eine definierte Vollblutprobe von 15 µl aspiriert werden. Überschüssiges Blut wurde automatisch in einen gesonderten Entsorgungskanal überführt. Standardisiert lief nach Drücken der Starttaste der Test ab.

Zur Aktivierung der intrinsischen Gerinnung über die Kontaktphase wird sogenanntes Celite® (Kieselgur) in den Küvetten verwendet. Kieselgur ist eine Substanz, die aus Silizi-

umdioxidschalen fossiler Kieselalgen hergestellt wird. Weitere Bestandteile der Trockensubstanz in der Testküvette waren Kartoffeldextrin, Stabilisierungsmittel und Puffer. Nach Starten der Messung wird das aspirierte Blut in die Testkammer verschoben. Nach Vermischen der Probe mit dem Startreagenz wird das Gemisch im Testkanal hin und her bewegt. Dorthin sind mehrere LED-Detektoren positioniert, die die Geschwindigkeit des Blutflusses messen. Bei Einsetzen der Gerinnung verlangsamt sich dieser. Fällt er unter ein definiertes Niveau ist das Ende der Messung erreicht und die Zeit wird auf dem Display in Sekunden angegeben. Der normale Bereich liegt zwischen 85 und 150 Sekunden.

2.3.4.2 Hepcon®

Die ACT-Bestimmung über den Kontaktaktivator Kaolin erfolgt mit dem Gerät Hepcon® HMS Plus von der Firma Medtronic. Auch hierbei läuft ein automatisierter Test ab. Die Gewinnung der Blutprobe erfolgt über eine mitgelieferte drei Milliliter Monoject-Spritze ohne Zusätze. Diese wird mit einer stumpfen Nadel (19 ga) versehen, entlüftet und sofort in das Gerät eingespannt.

Nun wird semi-quantitativ die Heparinkonzentration in der Vollblutprobe durch eine Protamintitration gemessen. Die Gerinnungszeit fällt in der Kammer am niedrigsten aus, in der die Heparinkonzentration der Protaminkonzentration am nächsten ist. Heparinkonzentrationen bis 8,2 IE/ml Blut können detektiert werden.

Insgesamt werden 2,5 ml Blut benötigt um alle sechs Kammern des Hepcons® zu bestücken. Zunächst werden vier sogenannte Heparin-Testkartuschen automatisiert mit einer Menge von je 0,24 ml Patientenblut gefüllt. Jede Kammer enthält unterschiedliche Konzentrationen an Protamin. Zusätzlich enthalten sind das Konservierungsmittel Natriumazid sowie als Aktivierungsmittel in gepufferter Lösung verdünntes Thromboplastin zur Verkürzung der Reaktionszeit. Der Gehalt an Reagenzien beruht auf einem Neutralisierungsverhältnis von ca. 1mg Protaminsulfat zu 110 IE Heparin.

Auch dieser Test stoppt, wenn das Gerät eine Gerinnselbildung erkennt, hierbei mittels eines Kolben-Hebemechanismus. Dieser Kolben senkt sich fortlaufend in die jeweilige Test-Kartusche ab. Bei einsetzender Gerinnung verlangsamt sich der Mechanismus. Ein fotoptisches Element im Gerät registriert dies und stoppt die Messung bei Unterschreiten einer definierten Geschwindigkeit. Mit Hilfe der bekannten Protaminmenge und des zuvor nach manueller Eingabe des Geschlechts, der Größe und des Gewichts errechneten Blutvolumens wird dann die benötigte Menge an Protamin angezeigt, die appliziert werden müsste, um den Heparinüberschuss zu antagonisieren.

Zusätzlich erfolgt in den restlichen zwei Kammern vom Typ „High Range Activated Clotting Time“ (HR-ACT) die Bestimmung der aktuellen ACT. Hierbei enthalten die Kartuschen Kaolin als Kontaktaktivator der endogenen Gerinnung über den Faktor XII. Die Messung verläuft linear zur Erhöhung der Heparinkonzentration in der Patientenprobe.

Jede Kammer enthält 0,1 ml Kaolin 12% als Suspension in HEPES-Pufferlösung (2-(4-(2-Hydroxyethyl)- 1-piperazinyl)-Ethansulfonsäure). Weitere Bestandteile sind Calcium und Natriumazid. Das mechanische Prinzip verläuft identisch wie oben beschrieben. In jede Kammer werden 0,4 ml Patientenblut appliziert. Nach Beendigung des Tests werden für jeden Kanal die Gerinnungszeit sowie die durchschnittliche ACT in Sekunden angegeben.

Im Universitätsklinikum Göttingen wird das Hepcon®-Gerät auf der Intensivstation eingesetzt, um festzustellen, ob eine postoperative Gabe von Protamin nötig ist.

2.3.5 Rotationsthromboelastometrie/ ROTEM®

Die Rotationsthromboelastometrie ist ein weiteres POC-Testverfahren, das bei akuten Blutungen ein wichtiges Instrument zur schnellen Beurteilung des aktuellen Blutgerinnungsstatus des Patienten darstellt.

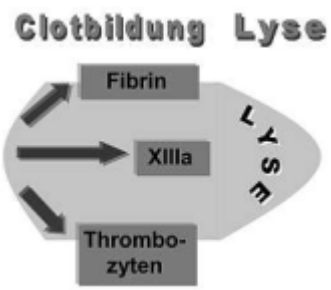
Thrombozyten	**Quick, aPTT, ACT und TZ**	**ROTEM®**
		

Abb. 5: Phasen der Gerinnung und der jeweilige übliche Gerinnungstest (modifiziert nach Lang und von Depka 2006).

Im Unterschied zu den bereits genannten Routine-Gerinnungstests stoppt die Messung nicht mit Beginn der Blutgerinnung, sondern ermöglicht eine Aussage zur Qualität des entstandenen Gerinnsels. Von der ersten Bildung des Fibrins über die größtmögliche Ausprägung des Clots bis hin zu dessen Auflösung (s. Abb. 5). Wichtige Parameter sind dabei die *Clotting Time*

(CT = Gerinnungszeit), die *Clot Formation Time* (CFT = Gerinnselbildungszeit), die *Maximum Clot Firmness* (MCF = Gerinnselfestigkeit) und die *Maximum Lysis* (ML = Maximale Lyse) (s. Abb. 5). Bei Vergleich der verschiedenen zur Verfügung stehenden Testverfahren ist es möglich, spezifische Informationen über einen Mangel an Gerinnungsfaktoren oder auch Hinweise auf eine Thrombozytenfunktionsstörung zu erhalten (Lang und von Depka 2006, Kochs et al. 2008).

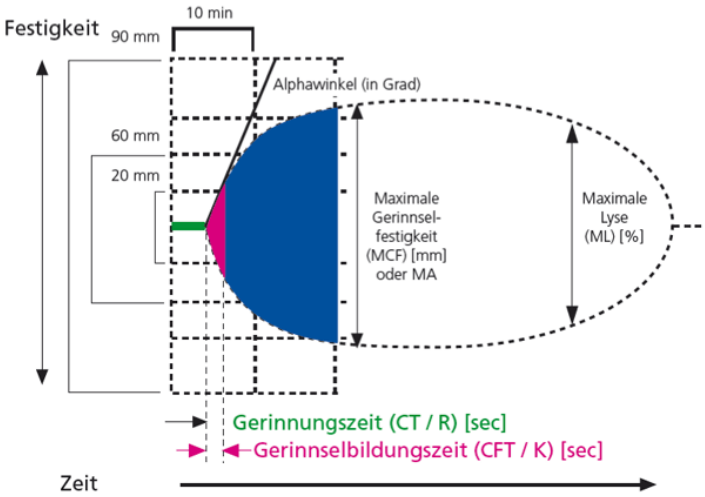


Abb. 6: Typische graphische Auftragung der ROTEM-Methode. (http://www.gerinnung-igs.at/pic-buch/parameter_Thrombelastometr.gif)

Die Thrombelastometrie ist ein Verfahren, das im Laufe der Jahre immer weiter verbessert worden ist. Entwickelt wurde es während des zweiten Weltkrieges durch den Heidelberger Professor Hellmut Hartert, erstmals stellte er sein Gerät 1948 vor (Hartert 1948).

Aufgrund seiner Bedienbarkeit und Störanfälligkeit war dieses Gerät jedoch nicht alltagstauglich. Außerdem arbeitete die Methode ohne Zusatzreagenzien, und eine genaue Aussage konnte erst nach ein bis zwei Stunden getroffen werden.

Eine weitere Problematik stellte die mechanische Instabilität dar. Während der Messung mussten unbedingt Erschütterungen vermieden werden, sonst wäre es zu verfälschten Ergebnissen gekommen. Das System bestand aus einer sich um 4,75° drehenden Küvette, in die das Blut appliziert wurde. Die Küvette wurde stetig bei 37°C gehalten. In diese Küvette tauchte ein zylindrischer Stempel ein, der an einem Torsionsdraht aufgehängt war (s. Abb. 7). Bei Start der Messung begann der Zylinder, um die Hochachse Drehpendelbewegungen auszuführen. Im Verlauf der Gerinnung bildeten sich Fibrinfäden zwischen Küvettenwand

und Stempel, die bei zunehmender Ausprägung in der Lage waren, den aufgehängten Stempel auszulenken. Mit Hilfe einer Lichtquelle und eines Spiegels, der an den Torsionsdraht angebracht war, wurde die zunehmende Auslenkung auf einen Photokymographen (Wellenschreiber) übertragen und konnte somit graphisch über die Zeit aufgezeichnet werden (Mallett und Cox 1992).

Eine Reihe von Verbesserungen wurde von Calatzis und Spannagl zwischen 1995 und 1997 in München durchgeführt (Calatzis et al. 1995). Hierbei wurden Reagenzien verwendet, die verschiedene spezifische Reaktion starten konnten, so dass schnell unterschiedliche Aspekte der Gerinnung beurteilt werden konnten. Vier Graphen können parallel aufgezeichnet werden. Bereits nach zehn Minuten ließen sich Aussagen über den Gerinnungsstatus treffen und eine entsprechende Therapie einleiten. Durch diese Verbesserungen wurde die Methode als POC Verfahren anwendbar (Spannagl und Calatzis 2002).

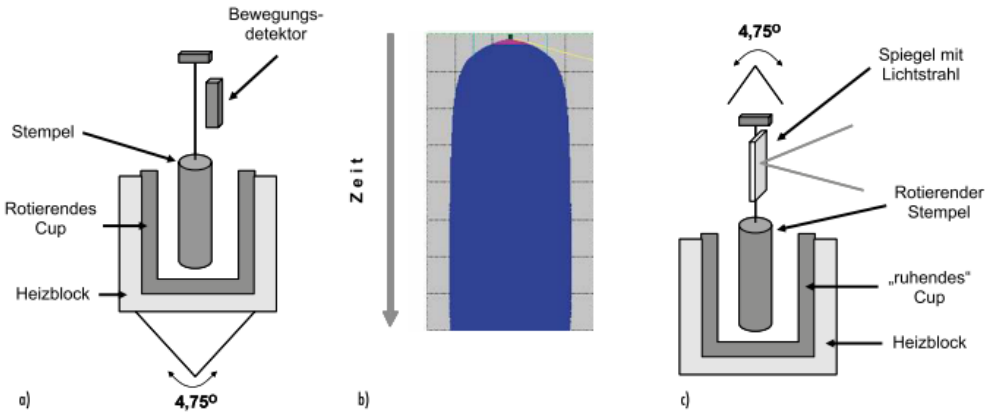


Abb. 7: Geräte zur Thrombelastometrie: Modell nach Hartert: (a); Neues Modell nach Calatzis (c) (modifiziert nach Lang und von Depka 2006).

Außerdem wurden einige bauliche Veränderungen vorgenommen. Jetzt rotiert nicht die Küvette, sondern der Stempel in der Blutprobe um 4,75°. Die Achse, an der der Stempel hängt, wird mechanisch durch ein Kugellager stabilisiert, so dass das System resistent gegenüber Erschütterungen wird. Eine eingeschaltete Feder überträgt an den Stempel Drehpendelbewegungen abwechselnd nach rechts und nach links (s. Abb. 7). Bei fortlaufender Gerinnung wird diese Bewegung zunehmend gehemmt. Auch hierbei wird die Veränderung durch eine Lichtquelle kontinuierlich abgetastet. Der an der Achse befestigte Spiegel verändert seine Position, dies wird mit Hilfe einer kleinen elektrischen Kamera aufgezeichnet und an einen Computer weitergeleitet, wo das Signal verrechnet wird und als Thrombelastographiekurve gegen die Zeit graphisch sichtbar wird (s. Abb. 6 und 7) (Calatzis et al. 2003).

In dieser Arbeit wurden insbesondere die Clotting Time in zwei Testansätzen näher betrachtet, im kontaktaktivierten INTEM und im HEPTEM, bei dem zusätzlich Heparinase hinzugefügt wird. Durch Vergleich dieser beiden Werte lassen sich Informationen über eine residuelle Heparin Menge im Blut des Patienten gewinnen (s. Abb. 8) (Lang und von Depka 2006).

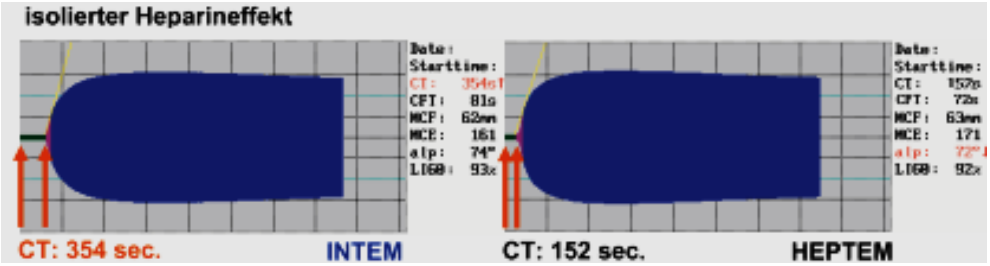


Abb. 8: Vergleich INTEM/HEPTEM bzgl. einer residuellen Heparinwirkung (modifiziert nach Lang und von Depka 2006).

Im Folgenden soll die Durchführung dieser Methode näher beschrieben werden.

Verwendet wurde auf der Intensivstation das ROTEM®-Gerät der Firma Tem International GmbH aus München.

Die Analyse wurde mit Citratblut durchgeführt.

Das Gerät besteht aus einem Messsystem mit vier Kanälen, das an einen Laptop angeschlossen ist. Jeder Kanal wird durch eine Kurve visualisiert. Eine angeschlossene automatische Pipette ermöglicht es, verschiedene Reagenzien zu dem Patientenblut hinzuzufügen. Je nach Fragestellung können verschiedene Tests ausgewählt werden.

Im Extem wird das extrinsische Gerinnungssystem wiedergegeben. Im INTEM wird das intrinsische System beurteilt (s.u.). Im FIBTEM kann ein Fibrinogen-Mangel detektiert werden. Hierbei wird die Thrombozytenfunktion durch Zugabe von Cytochalasin D ausgeschaltet. Im HEPTEM wird die Gerinnung wie im INTEM aktiviert, durch Zugabe von Heparinase, einem Heparin abbauendem Enzym, kann vorhandenes Heparin aus der Probe eliminiert werden.

Das Blut sowie die für den Test notwendigen Reagenzien wurden in die dafür vorgesehenen Küvetten (*Cup*) gegeben. Anschließend wurde das Gemisch zum Starten der Messung an den entsprechenden Stempel (*Pin*) geführt, dieser wurde zuvor manuell mit dem jeweiligen Kanal des Gerätes verbunden. Die verschiedenen Kanäle führten nun Drehpendelbewegungen aus.

Durch die Gerinnselbildung wurde der Stempel in seinen Rotationsbewegungen immer weiter eingeschränkt. Mechanooptisch konnten die daraus resultierenden Daten an den Laptop weitergeleitet werden. Es entstand für jeden Kanal eine charakteristische Kurve über die Zeit, die an spezifischen Punkten der Gerinnung Daten wiedergab und automatisch speicherte.

Im Folgenden sollen die für diese Arbeit entscheidenden Kanäle näher beschrieben werden.

2.3.5.1 INTEM

Zunächst werden 20 µl star-tem® Reagenz (grün) aspiriert, nach einem Luftpolster wird in dieselbe Pipettenspitze 20 µl in-tem® Reagenz (blau) aufgesogen und in den vorbereiteten Cup gegeben. Als nächstes werden mit einer neuen Pipettenspitze 300 µl Citratblut aufgenommen und zu der Messzelle hinzugefügt. Durch nochmaliges Repipettieren des Gemisches wird eine ausreichende Durchmischung erreicht. Nun wird der Küvettenhalter mit dem Probenansatz sofort über den Stempel des entsprechenden Kanals geführt und die Messung gestartet.

Reagenz	***Inhalt***	***REF (Referenznummer)***
star-tem®Reagenz (Rekalzifizierungsreagenz)	0,2 mol/l $CaCl_2$ in HEPES-Puffer pH 7,4; 0,1% Na-Azid	503-01
in-tem®Reagenz	Partielles Thromboplastin-Phospholipid aus Kaninchenhirn; Ellagsäure; Puffer; Konservierungsmittel	503-02

Tab. 4: Bestandteile des angewendeten INTEM-Reagenzes

2.3.5.2 HEPTEM

Hierbei werden zunächst 20 µl hep-tem® Reagenz aspiriert und in den vorbereiteten Cup gegeben. Mit einer neuen Pipettenspitze werden 20 µl in-tem® Reagenz hinzugefügt. Mit einer weiteren Spitze werden 300 µl Citratblut aufgenommen und zur Probe gegeben. Durch Repipettieren des Ansatzes wird eine ausreichende Durchmischung erzielt. Die Probe wird sofort über den Stempel des entsprechenden Kanals geführt und die Messung gestartet.

Reagenz	***Inhalt***	***REF (Referenznummer)***
hep-tem® Reagenz (Rekalzifizierungsreagenz + Heparinase)	Heparinase aus Flavobakterien; Konservierungsmittel (Natriumazid); Puffer; Calcium	503-08 800282
in-tem® Reagenz	s.o.	s.o.

Tab. 5: Bestandteile des angewendeten HEPTEM-Reagenzes

2.4 Statistik und Datenspeicherung

Die Speicherung der Daten erfolgte pseudonymisiert in Tabellenform mit dem Programm Excel (Microsoft Office 2010).

Alle statistischen Auswertungen wurden mittels MedCalc® (MedCalc Software, Mariakerke, Belgien) ausgeführt.

Ein Chi-Quadrat-Test wurde verwendet, um das Auftreten von residuellem Heparin mit Hilfe der Anti-Xa-Aktivität zu bewerten.

Sogenannte Receiver Operating Characteristic (ROC)-Kurven wurden für Standardgerinnungsparameter sowie für die verwendeten ROTEM-Variablen berechnet. Hieraus wurde die Sensitivität und Spezifität sowie negativer und positiver prädiktiver Wert der einzelnen Methoden errechnet, um eine restliche Konzentration an Heparin von 0,4 IE/ml vorherzusagen. Hierbei wurde ein p-Wert von kleiner 0,05 als signifikant angesehen.

Weiterhin wurde eine Regressionsanalyse zur Unterscheidung der beiden angewendeten Messmethoden zur Bestimmung der ACT erstellt. Die Messwerte wurden gegeneinander aufgetragen.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Im Zeitraum von Juli 2010 bis August 2011 wurden 100 konsekutive Patienten eingeschlossen, die sich einer elektiven kardiochirurgischen Operation unter Einsatz einer HLM unterziehen mussten. Aufgrund einer Anti-Xa-Aktivität von mehr als 0,2 IE/min zum MZP 1 und einer mutmaßlichen präoperativen Applikation von NMH wurden drei Patienten im Nachhinein von der Studie ausgeschlossen. Zwei Patienten wurden aufgrund einer fehlenden Ausgangsmessung der Anti-Xa-Aktivität, die als Referenzmethode diente, ausgeschlossen. Die demographischen Daten der verbliebenen 95 Teilnehmer sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Parameter	**Mittelwert (±Std)**
Alter (Jahre)	67 (+/-10)
Gewicht (kg)	83 (+/-16)
Größe (cm)	171 (+/-10)
	Relative Häufigkeiten
Weiblich/Männlich (%)	26,3/73,7
Bypass-Operationen (%)	64,2
Herzklappenersatz oder –rekonstruktion (%)	10,5
Kombinationseingriffe (%)	25,3
	Median (IQR)
Menge an retransfundiertem Maschinenblut (ml)	800 (600;1000)

Tab. 6: Demographische Daten des Patientenkollektivs.

3.2 Verlauf von Standard- und POC-Gerinnungsdiagnostik

Die die Mediane der Standard- und der POC-Gerinnungsdiagnostik zu den einzelnen Messzeitpunkten sind in Tabelle 7 aufgeführt. Da die extrakorporale Zirkulation einen massiven Eingriff in die Homöostase des Gerinnungssystems darstellt, wurde auf Gruppenvergleiche zwischen MZP 1 und den anderen Messzeitpunkten verzichtet. Zwischen MZP 2 und MZP 3 kam es zu einem signifikanten Anstieg der ACT sowohl bei Messungen mit dem Hemochron® Jr. Signature (126 (109; 142) vs. 145 (135; 158), p <0,0001), als auch bei Messungen mit dem Hepcon® HMS Plus (125 (112; 137) vs. 135 (122; 148), p 0,004) (Tab. 7).

Die CT HEPTEM war zum MZP 2 signifikant höher als zum MZP 3 (205 sec (182; 233) vs. 195 sec (174; 221), p 0,02) (Tab. 7).

Parameter	MZP 1	MZP 2	MZP 3	p-Wert
Thrombozyten (/nl)	241 (194;288)	146 (117;189)	149 (119;194)	0,67
aPTT (sec)	31 (29;35)	48 (42;56)	47 (39;58)	0,42
TZ (sec)	19 (18;20)	36 (28;52)	41 (31;63)	0,1
ACT Hemochron (sec)	-	126 (109;142)	145 (135;158)	**< 0,0001**
ACT Hepcon (sec)	-	125 (112;137)	135 (122;148)	**0,004**
CT INTEM (sec)	-	208 (189;242)	219 (191;236)	0,38
CT HEPTEM (sec)	-	205 (182;233)	195 (174;221)	**0,02**

Tab. 7 Mediane mit Interquartilsabstand (inter quartile range; IQR) der konventionellen Gerinnungsparameter sowie der POC-Diagnostik zu den verschiedenen Messzeitpunkten.

3.3 Anti-Xa-Aktivität und Gabe von Maschinenblut

Nach Beenden der extrakorporalen Zirkulation (MZP 2) wiesen sechs Patienten eine Anti-Xa-Aktivität größer 0,4 IE/ml (6,3%) auf. Die Anti-Xa-Aktivität dieser Patienten hatte sich zum MZP 3 wieder normalisiert. Die Patienten erhielten zwischen MZP 2 und MZP 3 im Median 800 ml (600; 1000) Maschinenblut. Nach der Gabe des Maschinenblutes (MZP 3) überschritten drei Patienten, die zuvor keine auffällige Anti-Xa-Aktivität gezeigt hatten, den festgelegten Schwellenwert von 0,4 IE/ml (3,2%).

3.4 ROC-Analysen

Im Folgenden werden die Ergebnisse der ROC-Analysen der untersuchten Methoden zur Detektierung einer residuellen Heparinkonzentration größer 0,4 IE/ml gezeigt. Soweit die Fläche unter der Kurve (*area under the curve*; AUC) signifikant von 0,5 verschieden war, sind der beste Cut-off-Punkt mit Sensitivität, Spezifität, negativem und positivem prädiktiven Wert angegeben. Wenn die Daten dies zuließen, wurden diese Werte ebenfalls für einen Punkt im Bereich der Überschreitung der klinisch festgelegten Grenzwerte des Parameters angegeben.

3.4.1 Standardgerinnungstests

In der ROC-Analyse unterschied sich die aPTT mit einer AUC von 0,85 signifikant von 0,5 (p-Wert 0,0004) (s. Tab. 8 und Abb. 9).

Für eine aPTT > 57s konnte eine Sensitivität von 88,9% und eine Spezifität von 80,3% ermittelt werden. Der positive prädiktive Wert (PPW) der Methode lag hierbei bei 18,6, der negative prädiktive Wert (NPW) bei 99,3 (s. Tab. 8). Da es kaum Daten im Bereich einer Überschreitung des klinisch festgelegten oberen Grenzwertes der aPTT gab, kann die Aussagekraft der aPTT in diesem Bereich anhand der erhobenen Daten nicht beurteilt werden.

aPTT (n=187), AUC=0,85; 95% KI (0,79-0,898); p=0,0004					
	aPTT [s]	**PPW**	**NPW**	**Sensitivität [%]**	**Spezifität [%]**
Bester Cut-off-Punkt	>57	18,6 (8,4-33,4)	99,3 (96,2-100)	88,9 (51,8-99,7)	80,3 (73,7-85,9)

Tab. 8: Daten der ROC-Analyse für die aPTT. Gezeigt ist der beste Cut-off-Punkt.

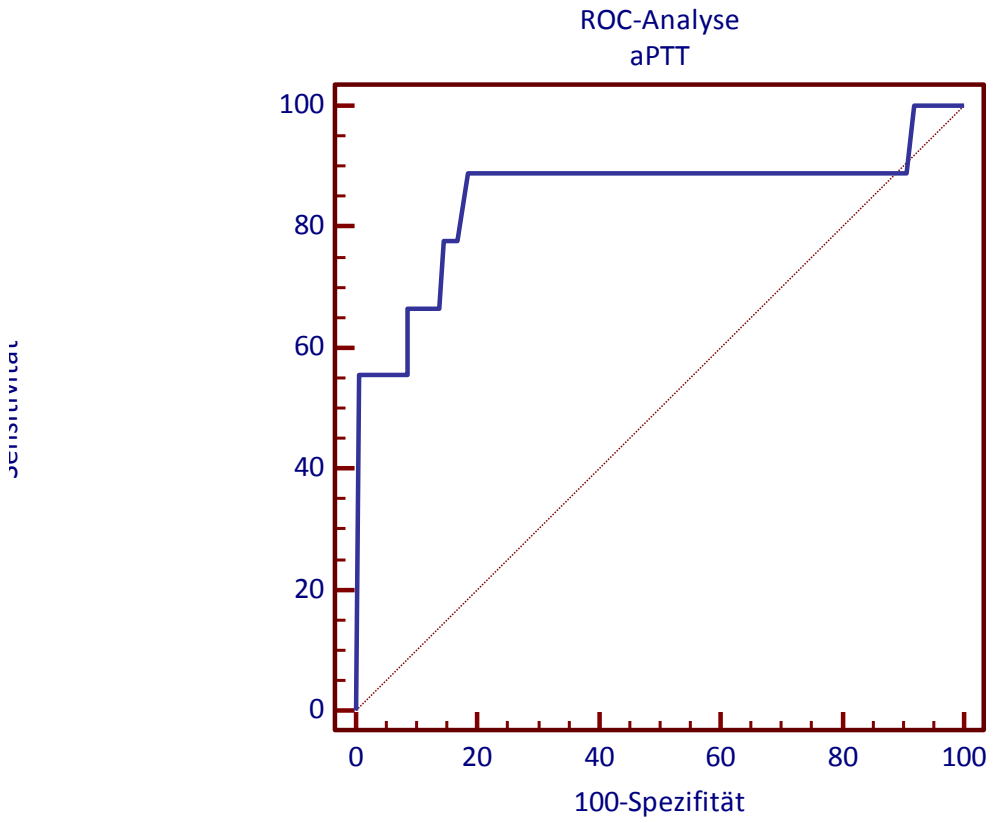


Abb. 9: ROC-Analyse für die aPTT, um eine Heparinmenge von ≥ 0,4 IE/ml zu erkennen. Es zeigte sich eine Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) von 0,852 (p-Wert 0,0004).

Für die Thrombinzeit unterschied sich die AUC mit 0,854 ebenfalls signifikant von 0,5 (p-Wert < 0,0001) (s. Tab. 9 und Abb. 10).

Für eine TZ > 66 s ergab sich eine Sensitivität von 77,8% und eine Spezifität von 85,4%. Der positive prädiktive Wert (PPW) lag bei 21,2, der negative prädiktive Wert (NPW) bei 98,7. Für den Bereich der Überschreitung des oberen Grenzwertes von 28 Sekunden steigt

die Sensitivität und der NPW auf 100, während die Spezifität und der PPW auf 25,3 bzw. 6,3 sinken (s. Tab. 9).

Thrombinzeit (n=187), AUC=0,854; 95% KI (0,795-0,901); p<0.0001					
	Thrombinzeit [s]	**PPW**	**NPW**	**Sensitivität [%]**	**Spezifität [%]**
Überschreiten des Normwerts	>28	6,3 (2,9-11,7)	100 (92,1-100)	100 (66,4-100)	25,3 (19,1-32,3)
Bester Cut-off-Punkt	>66	21,2 (9,0-38,9)	98,7 (95,4-99,8)	77,8 (40,0-97,2)	85,4 (79,3-90,2)

Tab. 9: Daten der ROC-Analyse für die TZ. Gezeigt sind der beste Cut-off-Punkt und die Überschreitung des oberen Normwerts.

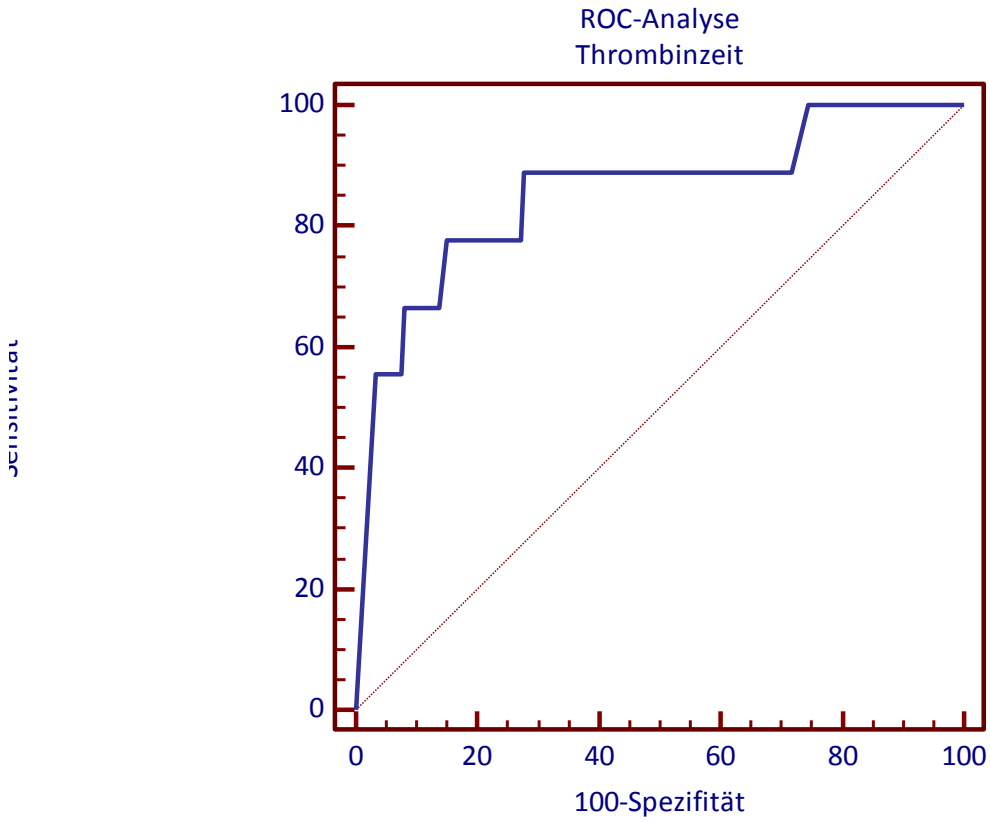


Abb. 10: ROC-Analyse für die TZ, um eine Heparinmenge von ≥ 0,4 IE/ml zu erkennen. Es zeigte sich eine Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) von 0,854 (p-Wert < 0,0001)

3.4.2 Thrombelastometrie (ROTEM®)

Für unsere Fragestellung waren die CT im INTEM sowie die Differenz der CT im INTEM und der CT im HEPTEM (DIFF INTEM/HEPTEM) ausschlaggebend. Bei beiden Parametern unterschied sich die AUC mit 0,546 für die CT INTEM und 0,584 für die DIFF

INTEM/HEPTEM statistisch nicht von 0,5. Daher können aus den in dieser Arbeit gewonnen Daten keine Aussagen zu Sensitivität, Spezifität, NPW oder PPW dieser Parameter getroffen werden.

3.4.3 ACT-Methode

Für die Überwachung der Heparinkonzentration im Blut mittels ACT wurden zwei verschiedene Geräte verwendet. Zum einen das Hemochron® Jr. Signature (ACT Hemochron®), zum anderen das Hepcon® HMS Plus (ACT Hepcon®). Die AUC unterschied sich bei beiden Methoden mit 0,517 beim Hemochron® Jr. Signature und 0,582 beim Hepcon® HMS Plus nicht signifikant von 0,5. Daher können auch für diese beiden Parameter keine Aussagen zu Sensitivität, Spezifität, NPW oder PPW getroffen werden.

3.4.4 Protamintitration im Hepcon®

Zusätzlich zur ACT-Bestimmung wurde mit dem Hepcon® HMS Plus eine Protamintitration durchgeführt. In der ROC-Analyse für diesen Parameter unterschied sich die AUC mit 0,743 signifikant von 0,5 (p 0,03). Als bester Cut-off-Punkt erwies sich eine erforderliche Dosis von 1500 IE Protamin. Für diesen Wert ergaben sich eine Sensitivität von 50% sowie eine Spezifität von 99%, mit einem PPW 75 und einem NPW von 98 (s. Tab. 10 und Abb. 11).

Da im Normalfall keine Gabe von Protamin erforderlich sein sollte, wurde als oberer Grenzwert für diesen Parameter eine Dosis von 0 IE Protamin angenommen. Dieser Wert zeigte vergleichbare Ergebnisse im Hinblick auf Sensitivität, Spezifität und NPW. Lediglich der PPW war mit 60 deutlich niedriger als beim besten Cut-off-Punkt. (s. Tab. 10).

Protamintitration (n=144), AUC=0,743; 95% KI (0,664-0,812); p=0,03					
	Protamindosis [IE]	**PPW**	**NPW**	**Sensitivität [%]**	**Spezifität [%]**
Überschreiten der Normwerte	>0	60,0 (11,0-96,5)	97,8 (93,8-99,6)	50,0 (11,8-88,2)	98,6 (94,9-99,8)
Bester Cut-off-Punkt	>1500	75,0 (19,4-99,4)	97,9 (93,9-99,6)	50,0 (11,8-88,2)	99,3 (96,0-100)

Tab. 10: Daten der ROC-Analyse für die Protamintitration. Gezeigt sind der beste Cut-off-Punkt und die Überschreitung des oberen Normwerts.

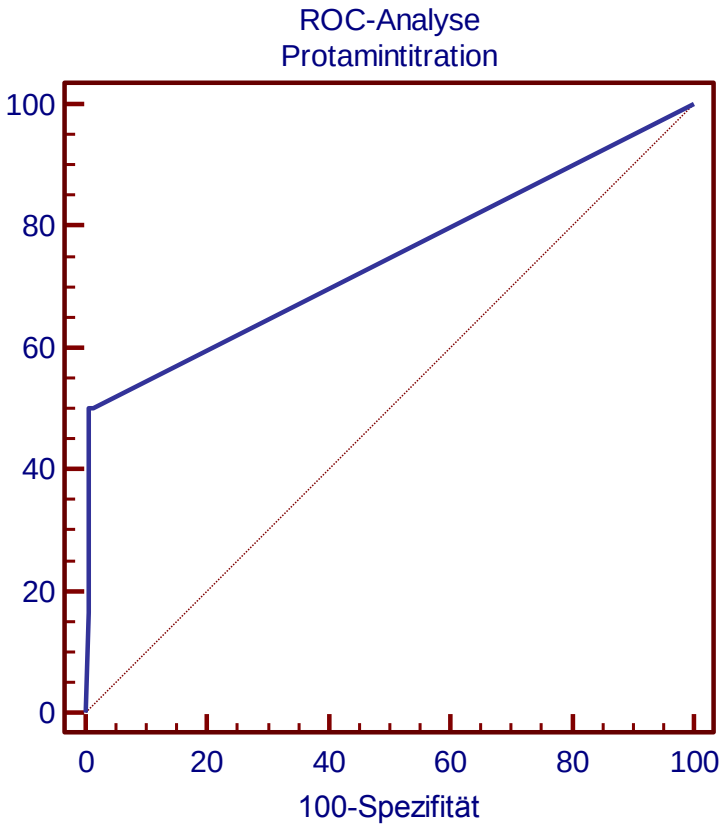


Abb. 11: ROC-Analyse der Protamintitration, um eine Heparinmenge ≥ 0,4 IE/ml zu erkennen. Es zeigte sich eine Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) von 0,743 (p-Wert 0,030)

3.5 Vergleichbarkeit unterschiedlicher ACT-Messmethoden

Die Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Messmethoden für die ACT wurde mit einer linearen Regression untersucht. Die Steigung der erstellten Regressionsgerade lag bei 0,621. Der Schnittpunkt mit der Y-Achse zeigte eine deutlich längere ACT für Messungen mit dem Hemochron® Jr. Signature im Vergleich zu Messungen mit dem Hepcon® HMS Plus (s. Abb. 12). Die Bestimmung der ACT für jedes Datenpaar erfolgte hierbei aus derselben Blutprobe.

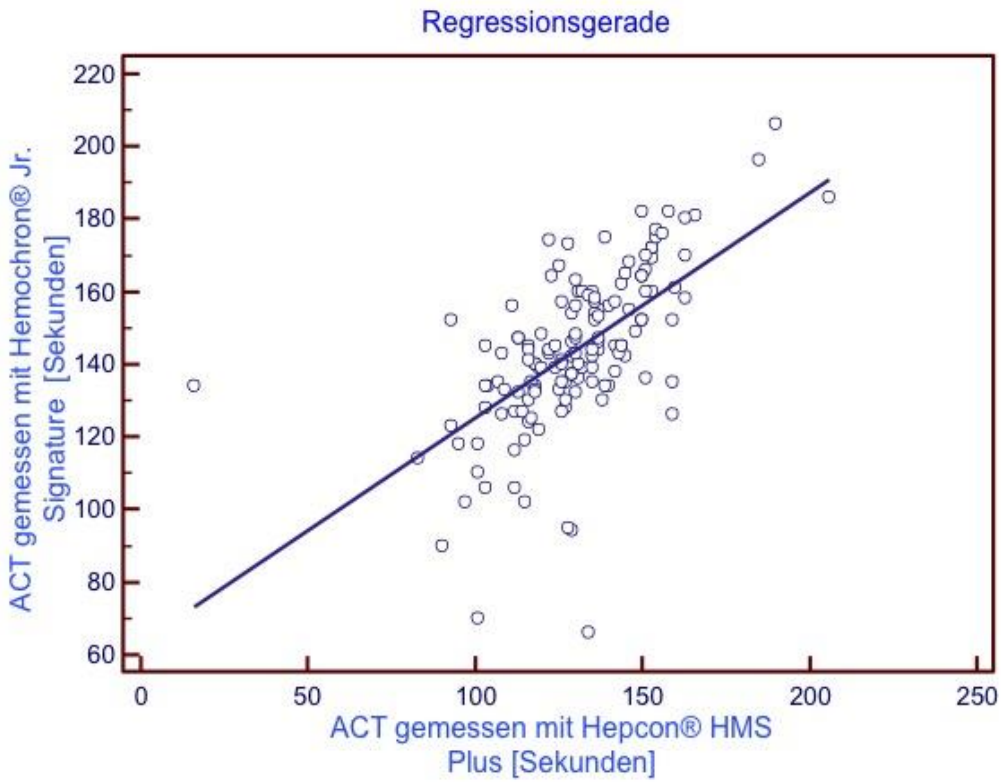


Abb. 12: Regressionsgerade zur Unterscheidung der beiden angewendeten Messmethoden zur Bestimmung der ACT. Die Messwerte wurden gegeneinander aufgetragen.

4 Diskussion

4.1 Inzidenz einer residuellen Heparinisierung und Einflüsse durch die Gabe von Maschinenblut

Die Inzidenz einer Heparinkonzentration von mehr als 0,4 IE/ml lag nach Beenden der extrakorporalen Zirkulation bei 6,3%. Im weiteren Verlauf nach der Gabe des Maschinenbluts betrug sie noch 3,2%. Die niedrige Inzidenz nach Beenden der extrakorporalen Zirkulation deckt sich mit den Ergebnissen anderer Autoren (Murray et al. 1997). Mittermayr et al. fanden eine ähnlich niedrige Fallzahl, in einer Studie mit 22 Patienten nach ACVB Operationen (Mittermayr et al. 2009).

Bei näherer Betrachtung zeigten alle Patienten, die zum MZP 2 eine erhöhte Anti-Xa-Aktivität aufwiesen, nach der Gabe des Maschinenbluts wieder einen normalen Wert. Dies könnte zum einen durch eine ausreichende renale und hepatische Metabolisierung von zugeführtem Heparin bedingt sein. Zum anderen ist die Zusammensetzung des Maschinenbluts nicht standardisiert. Es besteht neben Blut des Patienten aus Wundflüssigkeit und kristalloiden Spüllösungen. Auch der Anteil der korpuskulären Anteile ist individuell unterschiedlich. Dies könnte zu einem nennenswerten verdünnenden Effekt im Hinblick auf die Heparinkonzentration im Maschinenblut geführt haben. Letztlich könnte deutlich weniger Heparin mit dem Maschinenblut verabreicht worden sein, als allgemein angenommen. Da in dieser Studie keine Bestimmung der Heparinkonzentration im zugeführten Maschinenblut erfolgte, kann zu diesem Punkt keine Aussage getroffen werden. Auch in der Literatur konnten hierzu keine näheren Angaben gefunden werden.

Die vermehrte Aktivierung von Thrombozyten durch die extrakorporale Zirkulation könnte ein weiterer Faktor sein, der zur Reduktion der Heparinkonzentration im Maschinenblut geführt haben könnte. Hierbei wird Plättchen Faktor vier (PF4) aus den Granula der Thrombozyten freigesetzt und bindet Heparin, das dadurch an Wirkung verliert (Levy et al. 1995, Tanaka et al. 2009). Durch diesen Vorgang könnte vorhandenes Heparin im Maschinenblut durch PF4 gebunden worden sein. Ebenso könnte eine PF4-Zufuhr durch die Transfusion des Maschinenbluts die Heparinmenge im Körper des Patienten reduziert haben. In der Literatur wird diskutiert, ob rekombinanter PF4 als Alternative zu Protamin für die Antagonisierung von Heparin nutzbar wäre (Cook et al. 1992, Bernabei et al. 1995, Dehmer et al. 1995, Dehmer et al. 1996, Demma und Levy 2012).

Die Applikation des Maschinenblutes war im Hinblick auf die Anti-Xa-Aktivität für die meisten Patienten unproblematisch. Allerdings zeigten drei Patienten in der vorliegenden Studie nach Infusion der autologen Transfusion eine Heparinkonzentration >0,4 IE/ml. Diese Patienten unterschieden sich nicht bezüglich demographischer Parameter wie Geschlecht, Größe oder Gewicht, der präoperativen antikoagulativen Therapie oder der durchschnittlichen Menge an Maschinenblut. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung könnte in einer schnelleren Infusionsgeschwindigkeit liegen, so dass ein höherer Spitzenspiegel an Heparin messbar gewesen wäre. Auch eine postoperativ eingeschränkte renale oder hepatische Funktion könnte zu einer verminderten Metabolisierung von zugeführtem Heparin geführt haben. Da in dieser Studie die Dauer der Maschinenbluttransfusion nicht dokumentiert wurde, ist nicht auszuschließen, dass es durch einen kürzeren Applikationszeitraum zu Veränderungen der Anti-Xa-Aktivität gekommen sein könnte.

In der Literatur wird außerdem ein Heparin-Rebound als mögliche Ursache gesehen (Teoh et al. 1993, Levy et al. 1995). Aufgrund der kürzeren Halbwertzeit des Protamins, bezogen auf die des Heparins, hätte es theoretisch einige Stunden nach der Antagonisierung zu einer erneuten Freisetzung von Heparin und somit auch zu einem Anstieg der Anti-Xa-Aktivität kommen können (Teoh et al. 2004). In der Literatur ebenso wie in der vorliegenden Arbeit finden sich wenige Hinweise auf einen relevanten Effekt (Martin et al. 1992).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie legen nahe, dass eine Erhöhung der Anti-Xa-Aktivität nach kardiochirurgischen Eingriffen sowohl nach Beendigung der extrakorporalen Zirkulation als auch nach Transfusion des Maschinenblutes eher selten vorkommt. Dennoch muss ein möglicher Heparinüberschuss als Ursache einer postoperativen Blutungskomplikation in Betracht gezogen und ausgeschlossen werden, da die spezifische Therapie mittels Protamin vergleichsweise einfach und kostengünstig ist. Eine prophylaktische Gabe ohne diagnostisches Korrelat sollte nicht erfolgen, da zahlreiche Studien einen gerinnungshemmenden Effekt des Protamins bei Überdosierung dokumentiert haben (Mochizuki et al. 1998, Nielsen et al. 2006, Mittermayr et al. 2009).

Wir untersuchten im Weiteren verschiedene Möglichkeiten der Gerinnungsdiagnostik im Hinblick auf ihr Potential, eine residuelle Heparinkonzentration >0,4 IE/ml von anderen Ursachen einer gestörten Gerinnung zu unterscheiden. Dies soll im Folgenden näher betrachtet werden.

4.2 Möglichkeiten der regulären Gerinnungsdiagnostik in der Kardiochirurgie

Aus den Parametern der Routinediagnostik wurden in unserer Studie die aPTT und die Thrombinzeit auf ihre Sensitivität und Spezifität hin untersucht, eine residuelle Heparinkonzentration >0,4 IE/ml zu detektieren. Beide Parameter erwiesen sich als geeignet, eine relevante Restheparinisierung zu erkennen. Ein Nachteil der konventionellen Gerinnungstests ist, dass lediglich die Zeit bis zum Einsetzen der Gerinnung gemessen wird. Sie beinhalten keine Informationen über die Thrombozytenfunktion oder die Qualität des entstandenen Gerinnsels (Ogawa et a. 2012, Haas et al. 2012).

Früher stellte die TZ eine Möglichkeit der indirekten Fibrinogenbestimmung dar (Kochs et al. 2008). Die Methode erwies sich jedoch vielfach als störanfällig, deshalb ist sie für den Routinebetrieb nur bedingt geeignet (Kochs et al. 2008, Schulte am Esch et al. 2011).

Trotz ihrer Aussagekraft in Bezug auf eine residuelle Heparinisierung hat die reguläre Gerinnungsdiagnostik einen entscheidenden Nachteil – den Zeitfaktor. Eine Standardgerinnungsdiagnostik benötigt zwischen 40 und 90 Minuten, bis die Werte dem Untersuchenden zur Verfügung stehen (Tschaikowsky et al. 1998, Toulon et al. 2009, Haas et al. 2012). Insbesondere bei akuten Blutungen muss zügig eine residuelle Heparinisierung aufgedeckt werden bzw. von anderen Ursachen unterschieden werden, um eine entsprechende Therapie einzuleiten. Lediglich zur Untermauerung bzw. zum Ausschluss einer residuellen Heparinisierung bei einem stabilen Patienten wäre die aPTT hilfreich (Toulon et al. 2009, Haas et al. 2012, Weber et al. 2013a/b).

Schnellere Therapieentscheidungen zur Behandlung von Gerinnungsstörungen können durch den Einsatz von patientennahen Methoden getroffen werden. Diese sollen im Folgenden näher betrachtet werden.

4.3 ACT-Messung

In der Herzchirurgie erfolgt die Steuerung der Heparintherapie während der extrakorporalen Zirkulation häufig über die ACT. In der vorliegenden Studie konnten beide untersuchten ACT-Methoden eine residuelle Heparinisierung nicht signifikant von anderen Ursachen einer gestörten Hämostase unterscheiden.

Frühere Studien haben bereits gezeigt, dass verschiedene Einflussgrößen wie Hypothermie während des Eingriffs, Hämodilution, aber auch Protamin in der Lage sind, die ACT zu verlängern (Murray et al. 1997, Dalbert et al. 2006). Auch eine niedrige Thrombozytenzahl

oder ein erniedrigter Hämatokrit, die häufig nach kardiochirurgischen Eingriffen zu beobachten sind, können zu einer Verlängerung der ACT führen (Mochizuki et al. 1998, Girardi et al. 2000). Die ACT gilt als wenig spezifisch und sensitiv (Despotis et al. 1994). Durch die durchgeführte Hämodilution während der extrakorporalen Zirkulation sinkt der Hämatokrit. Chavez et al beschrieben dies als einen der Haupteinflüsse, die die ACT verfälschen können (Chavez et al. 2004). Auch ein Mangel an Fibrinogen wird für eine Verlängerung der ACT verantwortlich gemacht (Mittermayr et al. 2009). Murray et al zeigten bereits Ende der neunziger Jahre, dass bei einer noch normwertig gemessenen ACT nach kardiochirurgischen Eingriffen häufig andere Parameter, wie etwa die aPTT oder auch die Thrombelastometrie außerhalb des Referenzbereiches lagen (Murray et al. 1997). Auch neuere Studien bestätigten, dass die ACT nicht mit der tatsächlichen Heparinkonzentration im Blut korreliert (Nielsen 2002, Racioppi et al. 2009, Khan et al. 2010). In Kenntnis dieser Untersuchungen erscheint der Einsatz dieser Methode zur Detektion einer postoperativen residuellen Heparinisierung beim herzchirurgischen Patienten nicht sinnvoll.

Tremey und Kollegen beschrieben hingegen eine gute Korrelation bei Heparinkonzentrationen kleiner 0,8 IE/ml. Allerdings bezog sich diese Untersuchung zum einen auf eine kleine Kohorte von 30 Patienten (Tremey et al. 2006). Zum anderen handelte es sich um Patienten, die nicht mittels extrakorporaler Zirkulation operiert wurden, sondern um Patienten, die sich kürzeren gefäßchirurgischen Eingriffen unterzogen haben. Daher lässt sich ein direkter Vergleich mit unseren Ergebnissen nicht anstellen.

Des Weiteren fiel bei unserer Untersuchung auf, dass die Werte der beiden parallel verwendeten ACT-Methoden teils deutlich voneinander abwichen. Beide Tests basieren auf ähnlichen Prinzipien in Bezug auf die Aktivierung des intrinsischen Gerinnungsweges, eine Kapillarverschlussmethode im Haemochron® versus Häkelmethode mit repetitiver Absenkung des Kolbens im Hepcon®. Innerhalb dieser Studie konnten signifikant längere ACT-Werte im Haemochron® festgehalten werden als im Hepcon®, obwohl die Diagnostik aus derselben Blutprobe erfolgte. Auch andere Studien präsentierten bereits eine relevante Variabilität unter Einsatz verschiedener ACT-Methoden (Despotis et al. 1994, Bosch et al. 2006, Guzzetta et al. 2010, Garvin et al. 2010, Ojito et al. 2012).

Da auch heute noch oft die ACT als Hauptmethode zum Monitoring der Gerinnung nach extrakorporaler Zirkulation genutzt wird, erscheint es wenig sinnvoll, Geräte unterschiedlicher Hersteller einzusetzen.

4.4 Protamintitration mittels Hepcon®

Als einziger POC-Parameter der vorliegenden Studie konnte die Protamintitration eine residuelle Heparinisierung mit mehr als 0,4 IE/ml signifikant von anderen Störungen der Hämostase unterscheiden. Andere Autoren konnten zeigen, dass durch Einsatz des Hepcons® während der extrakorporalen Zirkulation die Häufigkeit einer repetitiven Protamingabe gesenkt werden konnte (Bennett et al. 2001, Vonk et al. 2014). Ob ein Blutverlust durch die Protamintitration wesentlich vermindert werden kann, wird weiterhin kontrovers diskutiert (Shore-Lesserson et al. 1998, Runge et al. 2009). Dennoch konnten mehrfach die Vorteile von niedrigeren Protamindosen auf das Gerinnungssystem demonstriert werden (Shigeta et al. 1999, Kimmel et al. 2002, Vonk et al. 2014).

Neben der sehr zuverlässigen Detektion einer erhöhten Heparinkonzentration im Blut des Patienten ist ein weiterer Vorteil dieser Methode die kurze Messdauer und die einfache Handhabung des Gerätes. Ein möglicher Nachteil des Hepcons® könnte sein, dass Konzentrationen unter 0,4 IE/ml nicht abgebildet werden. Somit wären hochnormale Heparinkonzentrationen in Proben nicht erkannt worden.

Ein Patient in unserem Kollektiv wies vor der Gabe des Maschinenbluts hochnormale Konzentrationen an Heparin im Blut auf, die durch das Hepcon® nicht erkannt werden konnten. Nach der Gabe des Maschinenbluts kam es zu einer Grenzwertüberschreitung, die detektiert wurde. Möglicherweise könnte eine Erweiterung der erhältlichen Kartuschen helfen, grenzwertig erhöhte Heparinkonzentrationen zu erkennen. So könnte eine zusätzliche Applikation von Heparin durch die Gabe von Maschinenblut in diesen Situationen vermieden werden.

4.5 Thrombelastometrie/ROTEM®

Die Thrombelastometrie hat in den letzten Jahren einen großen Stellenwert in der Diagnostik und Therapie perioperativer Blutungskomplikationen entwickelt. Viele Algorithmen zur Behandlung von perioperativen Blutungen basieren auf Parametern der Thrombelastometrie (Weber et al. 2013a/b). Vor allem bei kardiochirurgischen Patienten konnte gezeigt werden, dass die Anwendung von POC-basierten Algorithmen von Vorteil ist (Tschaikowsky et al. 1998, Reinhöfer et al. 2008, Weber et.al. 2013a/b, Gorlinger et al. 2013). Weber und Kollegen beobachteten unter der Verwendung von POC-basierten Verfahren nicht nur eine signifikant geringere Transfusionsrate, sondern neben kürzeren Nachbeatmungszeiten und einer kürzeren Verweildauer auf der Intensivstation auch eine signifikant geringere Mortalität nach sechs Monaten (Weber et al. 2012).

Ein gezielter Einsatz der verschiedenen Blut- und Gerinnungsprodukte führt zu einem geringeren Bedarf an diesen insgesamt. Hierdurch werden nicht nur finanzielle Ressourcen geschont, sondern vor allem die Transfusionsrate von Fremdblutbestandteilen reduziert (Vincent et al. 2002, Murphy et al.2007, Kashuk et al. 2010). Viele Studien haben bereits präsentiert, dass es zu einer höheren Mortalität und Morbidität kommt, wenn vermehrt Fremdblut transfundiert wird (Koch et al. 2006, Bursi et al. 2009, Kertai et al. 2009, Murphy und Pamphilon 2009, Haas 2012, Johansson 2010, Weber et al. 2012).

Trotz der eben beschriebenen, nachgewiesenen, positiven Effekte bei der Anwendung von Thrombelastometrie bei kardiochirurgischen Patienten konnte in der vorliegenden Arbeit nicht gezeigt werden, dass diese Methode eine residuelle Heparinisierung signifikant von anderen Ursachen einer gestörten postoperativen Hämostase unterscheiden kann. Dies galt sowohl für die CT INTEM, als auch für die Differenz CT INTEM/CT HEPTEM. Letztere konnte *in vitro* eine Heparinisierung nachweisen (Mittermayr 2005). Mittermayr und Kollegen konnten in einer Untersuchung an 22 Patienten residuelles Heparin nach einem kardiochirurgischen Eingriff durch die DIFF CT INTEM/CT HEPTEM in 3 von 6 Fällen detektieren (Mittermayr 2009). Dieses Ergebnis ist vergleichbar mit der Detektionsrate in der vorliegenden Studie. In den ausgewerteten Daten fiel auf, dass die CT HEPTEM in 74 von 190 Messungen länger als die CT INTEM war. Eigentlich ist davon auszugehen, dass die Zugabe von Heparinase zu einer Blutprobe mit residuellem Heparin die Gerinnung durch die Elimination des überschüssigen Heparins verbessert und damit die CT verkürzt. Daher sollte die oben beschriebene Konstellation so nicht vorkommen. Die Messungen im Rahmen der Studie erfolgten durch zwei Personen mit ausreichend Erfahrung in der Anwendung der Rotationsthrombelastometrie, die Reagenzien wurden nach Anweisungen des Herstellers hergestellt und gelagert. Daher wurde nicht von einem methodischen Problem ausgegangen. Nach Rücksprache mit dem Hersteller TEM International ist auch unter korrekter Anwendung eine Varianz von bis zu 5% zwischen unterschiedlichen Tests aus derselben Blutprobe zu beobachten. Nach Anwendung dieser Kriterien und Ausschluss aller Messungen mit einer Differenz unter 5% zeigten immer noch 51 von 190 Messungen die oben beschriebene Auffälligkeit. In *in vitro* Versuchen wurde eine verlängerte CT HEPTEM bei einem Überschuss an Protamin in der Blutprobe beobachtet (Mittermayr 2005). In einer Studie mit 38 Patienten, die sich einer Herzklappenoperation unterzogen, wiesen Vonk und Kollegen eine längere CT HEPTEM in der Gruppe mit höheren Protamindosen nach (Vonk 2014). In der Studie von Vonk und Kollegen erfolgte allerdings keine Bestimmung der CT INTEM, so dass keine Aussage in Bezug auf die Differenz CT INTEM/CT HEPTEM gemacht werden kann. Die Blutentnahme in der eben zitierten Studie erfolgte ebenso wie in der vorliegenden Studie

kurz nach Beenden der extrakorporalen Zirkulation und Antagonisierung des Heparins mit Protamin. In diesem Zusammenhang wäre ein Überschuss an Protamin eine mögliche Ursache für eine verlängerte CT HEPTEM. Allerdings sollte dann eine ebenso veränderte CT INTEM zu beobachten sein, da ein Überschuss an Protamin hier ebenfalls zu einer Verlängerung führen würde. Eine mögliche Erklärung für die beobachtete Diskrepanz zwischen CT INTEM und HEPTEM könnte eine Freisetzung von Protamin aus Heparin-Protamin-Komplexen sein. Dies könnte möglicherweise durch einen Abbau von Heparin durch Heparinase entstehen. Zu den Auswirkungen von Heparinase auf Heparin-Protamin-Komplexe existieren bisher keine Untersuchungen, so dass keine Aussage in Bezug auf eine mögliche Freisetzung von Protamin hergestellt werden kann.

Vor allem unter dem Aspekt, dass die Thrombelastometrie in der Diagnostik von perioperativen Blutungskomplikationen einen enormen Stellenwert hat, bedarf diese mögliche Störquelle einer Klärung durch weitere Studien.

4.6 Limitationen und Vorzüge der Studie

Die vorliegende Arbeit weist einige Limitationen auf. Zum einen wurde die zu erwartende Ereignishäufigkeit in der Fallzahlanalyse deutlich überschätzt. Daraus resultierte nur eine geringe Anzahl an Patienten, die tatsächlich eine residuelle Heparinisierung aufwiesen. Diese geringe Inzidenz erschwerte die statistische Auswertung der Daten und Berechnung von Sensitivität und Spezifität der unterschiedlichen evaluierten Methoden. Zum anderen erfolgte keine Bestimmung der Heparinkonzentration aus dem Maschinenblut, so dass eine Aussage zu der tatsächlich zugeführten Menge an Heparin durch die Applikation des Maschinenbluts nicht möglich ist.

Auch wenn die zugeführte Heparinmenge nicht bestimmt wurde, konnte dennoch durch die vorliegende Arbeit gezeigt werden, dass die Transfusion von Maschinenblut nur sehr selten zu einer Heparin-bedingten Verschlechterung der hämostatischen Situation des Patienten führt. Daher besteht keine Notwendigkeit, auf die Gabe dieser Ressource zu verzichten. Angesichts der bekannten negativen Auswirkungen einer Fremdblutgabe, die zu einer Erhöhung der Mortalität und Morbidität führt, stellt die Nutzung von Maschinenblut eine Möglichkeit dar, den Einsatz von Erythrozytenkonzentraten zu reduzieren (Vincent et al. 2002, Koch et al. 2006, Murphy et al. 2007, Kashuk et al. 2010, Bursi et al. 2009, Kertai et al. 2009, Murphy und Pamphilon 2009, Ebinger et al. 2010, Johansson 2010, Haas 2012, Weber et al. 2012).

Zusätzlich unterstreicht diese Arbeit nochmals den Stellenwert der Protamintitration bei der Detektion von überschüssigem Heparin. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wäre es empfehlenswert, die Protamintitration regelhaft in der Diagnostik der postoperativen Blutungskomplikation nach kardiochirurgischen Eingriffen einzusetzen. Sie könnte eine sinnvolle Ergänzung zu den etablierten POC-Methoden wie beispielsweise der Rotationsthrombelastometrie sein. Insbesondere da die beobachteten Diskrepanzen zwischen den thrombelastometrischen Messungen im INTEM- und HEPTEM-Test möglicherweise einen Hinweis auf noch unbekannte Störquellen aufzeigen. Es erscheint sinnvoll, diese Fragestellung durch weitere Studien zu untersuchen. Sollte sich dieser Zusammenhang bestätigen, fände sich unter Umständen eine Möglichkeit, Hämotherapiealgorithmen für Patienten nach kardiochirurgischen Eingriffen zu erweitern bzw. zu verbessern.

5 Zusammenfassung

Postoperative Blutungen stellen häufige Komplikationen nach kardiochirurgischen Eingriffen mittels Herzlungenmaschine dar. Eine mögliche Ursache kann eine residuelle Heparinwirkung sein. In dieser Studie wurde zum einen untersucht, ob das verabreichte Maschinenblut nach Ende der extrakorporalen Zirkulation einen relevanten Effekt auf die Hämostase im Patienten ausübt und zum anderen, mit welcher laborchemischen Methode dies am besten erkannt werden kann.

Hierzu wurden die Anti-Xa-Aktivität sowie Standardgerinnungsparameter (TZ, aPTT) von 100 konsekutiven Patienten, die sich einem Eingriff mittels HLM unterziehen mussten, zu drei verschiedenen Zeitpunkten detektiert. Die erste Messung erfolgte präoperativ, die zweite nach Beenden der extrakorporalen Zirkulation und die dritte nach Gabe des MB's. Zusätzlich wurden Untersuchungen mittels POC-Verfahren zu MZP 2 und 3 durchgeführt. Dazu zählten die Thrombelastometrie (ROTEM®), die ACT (Haemochron®, Hepcon®) sowie die Protamintitration (Hepcon®).

Die Inzidenz von Patienten mit einer Heparinkonzentration >0,4 IE/ml war insgesamt gering. Die AUC in den ROC-Analysen der ACT sowie der Thrombelastometrie (Differenz CT INTEM/HEPTEM) waren nicht signifikant verschieden von 0,5. Die CT im HEPTEM war in 74 von 190 Fällen länger als die CT im INTEM. Die Standardgerinnungstests sowie die Protamintitration konnten eine residuelle Heparinisierung signifikant von anderen Ursachen einer gestörten Gerinnung unterscheiden.

Die Gabe des Maschinenbluts erhöht die Anti-Xa-Aktivität lediglich vereinzelt. In dieser Arbeit fiel eine mögliche Störanfälligkeit im HEPTEM der ROTEM®-Analyse insbesondere nach Ende der extrakorporalen Zirkulation auf. Die Protamintitration mittels Hepcon® stellt hingegen eine sichere POC-Methode zur Detektion einer Restheparinisierung nach kardiochirurgischen Eingriffen dar. Auch die aPTT erwies sich als valide, ist in der Notsituation jedoch zu langsam.

6 Anhang

6.1 Ethikkommission

UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN UMG

Ethikkommission der Med. Fakultät, Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen

Herrn
PD Dr. med. A. Bräuer
Abt. Anaesthesiologie,
Rettungs- und Intensivmedizin

im Hause

Medizinische Fakultät
Ethikkommission
Vorsitzender: Prof. Dr. Wolfgang Poser
Referentin
Regierungsrätin Doris Wettschereck
0551 / 39-8644 **Telefon**

37099 Göttingen **Briefpost**
Robert-Koch-Straße 40, 37075 Göttingen
Adresse
0551 / 39-6629 **Telefon**
0551 / 39-9536 **Fax**
ethik@med.uni-goettingen.de **E-Mail**
www.ethikkommission.med.uni-goettingen.de
08.07.2010 wp - sc - sc Datum

Vorab per Fax: 8676

Antragsnummer:	**8/6/10 (bitte stets angeben)**
Studientitel:	Methodenvergleich zur Erfassung einer Restheparinisierung nach kardiochirurgischen Eingriffen
Antragsteller:	PD Dr. med. Anselm Bräuer, Dr. med. Stefanie Cassens, Dr. med. Saskia Wand, Dr. med. Daniel Heise, Abt. Anästhesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin, Prof. Dr. med. Nicolas von Ahsen, Abt. Klinische Chemie, Christian Bireta, Klinik und Poliklinik für Thorax- , Herz- und Gefäßchirurgie, UMG

Sehr geehrte Damen, sehr geehrte Herren,

Nach Ergänzung der vorliegenden Dokumente und Beantwortung der im vorläufigen Votum aufgeführten Fragen durch Ihre Schreiben vom 5.7.2010 und 7.7.2010 bestehen nunmehr keine ethischen und rechtlichen Bedenken gegen die Durchführung des oben genannten Forschungsvorhabens.

Folgende Unterlagen wurden zur Bewertung vorgelegt:

- Protokoll
- Informationsschrift und Einverständniserklärung
- Dokumentationsbogen

Wir wünschen viel Erfolg bei der Durchführung Ihres Projektes.

Die Ethik-Kommission weist darauf hin, dass die ärztliche und juristische Verantwortung bei den jeweiligen Prüfärzten verbleibt.

Auf die Einhaltung einschlägiger Gesetze und Rechtsvorschriften wird hingewiesen. Die nach Rechtslage notwendigen Unterrichtungen (u. A. Prüfplanänderungen, entsprechende Zwischenfallsereignisse, neue Datenlage, Nachmeldung von Prüfzentren, Abschlussbericht) sind der Ethik-Kommission unverzüglich vorzulegen.

Die Ethik-Kommission bestätigt, dass sie auf Grundlage nationaler Gesetze, Vorschriften sowie der GCP/ICH-Richtlinie arbeitet.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. W. Poser
Vorsitzender der Ethik-Kommission

Universitätsmedizin Göttingen, Georg-August-Universität Stiftung Öffentlichen Rechts Vorstand Prof. Dr. Cornelius Frömmel (Forschung & Lehre, Sprecher des Vorstands), Prof. Dr. Wolfgang Brück (komm. Krankenversorgung) Dipl.-Kfm. (FH) Barbara Schulte (Wirtschaftsführung & Administration) Sparkasse Göttingen (260 500 01) Kto.: 448

KURZPROTOKOLL

ZUR VORLAGE BEIM ETHIK-KOMITEE DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER GEORG-AUGUST-UNIVERSITÄT GÖTTINGEN

1. Studienziel

Titel: **„Methodenvergleich zur Erfassung einer Restheparinisierung nach kardiochirurgischen Eingriffen“**.

Postoperative Blutungen stellen ein weiter bestehendes Problem nach kardiochirurgischen Eingriffen unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine dar. Dieses Problem ist multifaktoriell bedingt (1). Ein möglicher Faktor kann ein postoperativer Überschuss von Heparin sein. Ziel der nachfolgenden Untersuchung ist es, die Häufigkeit eines postoperativen Überschusses von Heparin nach kardiochirurgischen Eingriffen an der extrakorporalen Zirkulation zu erfassen und zu bestimmen, welcher laborchemische Marker bzw. welche laborchemische Methode diesen Überschuss von Heparin am zuverlässigsten detektiert.

2. Wissenschaftlicher Hintergrund

Eine postoperative Blutung nach kardiochirurgischen Eingriffen mit nachfolgender Transfusion von Blutprodukten ist mit einer erhöhten Rate an Re-Thorakotomien sowie vermehrten infektiösen Komplikationen (2), wie zum Beispiel sternalen Wundinfektionen und systemischen Infektionen, assoziiert. Neben chirurgischen Ursachen gibt es noch verschiedene weitere Ursachen für eine vermehrte postoperative Blutungsneigung. Dies sind z.B. Hypothermie, Inflammation, Thrombozytendysfunktion, Hyperfibrinolyse und eine residuelle Heparinwirkung (1). Die Häufigkeit und der Anteil einer residuellen Heparinwirkung an einer diffusen Nachblutung ist umstritten (1, 3).

3. Studiendesign

Es handelt sich bei diesem Vorhaben um eine prospektive beobachtende Untersuchung ohne Einfluss auf die Behandlung des Patienten.

Primäre Zielparameter:

- Heparin-Konzentration im Plasma gemessen als Anti-Xa Aktivität, einer etablierten Methode für den Nachweis von residuellem Heparin im Blut unmittelbar nach Ankunft des Patienten aus dem OP
- ACT (activated clotting time) unmittelbar nach Ankunft des Patienten aus dem OP mit Hepcon® HMS Plus™ (Medtronic Minneapolis, USA) und Hemochron Jr. Signature+ Jr (International Technidyne Corp. Edison, NJ,USA)
- Ergebnis der Protamin-Titration mittels Hepcon® HMS Plus™ (Medtronic Minneapolis, USA) unmittelbar nach Ankunft des Patienten aus dem OP
- aPTT und TZ unmittelbar nach Ankunft des Patienten aus dem OP
- Ergebnis einer Thrombelastographie mittels Rotem® (Pentapharm, München) unmittelbar nach Ankunft des Patienten aus dem OP (Verhältnis zwischen CT-Intem und CT-Heptem Test)(4)

Dieselben Parameter sollen unmittelbar nach der Applikation von mit Heparin versetztem Eigenblut, gewonnen aus der Herz-Lungen-Maschine, erneut erhoben werden, um zu sehen, ob die Applikation des sogenannten „Maschinenblutes“ eine erneute klinisch relevante Heparin-Wirkung verursacht.

Zu diesem Zwecke müssen intra- und postoperativ zusätzlich 30 ml Blut gewonnen werden, die sonst in der Routine nicht entnommen werden müssten.

Um eine relevante präoperative Beeinflussung der Anti-Xa Aktivität (z.B. durch niedermolekulare Heparine) auszuschließen wird vor der intraoperativen Heparingabe eine Gerinnungsmonovette zur Bestimmung von Quick, PTT, TZ, Fibrinogen und Anti-Xa Aktivität abgenommen).

Zusätzlich sollen folgende weitere Parameter erfasst werden:

- Biometrische Daten (Alter, Gewicht, Körpergröße, Geschlecht)
- Art des operativen Eingriffes

- Intraoperativ verabreichte Heparin und Protaminmenge.
- Intraoperativ verabreichte Menge an Blutprodukten (inklusive Retransfusion von „Maschinenblut“) sowie von applizierten Gerinnungsfaktoren.
- Körperkerntemperatur des Patienten
- Standardgerinnungsparameter (Quick, PTT, Fibrinogen, Thrombozytenzahl).

Alle diese Parameter sind aus der Routine-Dokumentation ersichtlich.

4. Patienten / Probandenrekrutierung

Es sollen 100 konsekutive Patienten, die sich einem elektiven kardiochirurgischen Eingriff mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine unterziehen müssen, eingeschlossen werden.

Einschlusskriterien:

- Alter: z wischen 18 und 90 Jahren;
- Geschlecht: männlich/weiblich;
- Risikogruppe: ASA II bis IV;
- Geplante Operation mit Einsatz der Herz-Lungen-Maschine

Ausschlusskriterien:

- Risikogruppe: ASA V;
- Patienten, die postoperativ ein Assist-System benötigen, welches eine kontinuierliche Heparintherapie erfordert (ECMO, LVAD, RVAD, BVAD)
- Patienten, die präoperativ niedermolekulares Heparin zur therapeutischen Antikoagulation erhalten.
- Patienten mit einer allergischen Reaktion auf Protamin
- Patienten mit bekannter HIT Typ II

Der Zeitraum der Erfassung soll ca. 3 Monate betragen.

5. Biometrie

Eine relevante Restwirkung von Heparin wird bei einer Heparin-Konzentration von mehr als 0,6 IE pro ml Blut erwartet. Bei einem Verteilungsvolumen des Heparins von 0,06 L/kg KG (≈Plasmavolumen) entspricht dieses bei einem 70 kg Menschen einer Heparinmenge von 2500 IE.

Durch die Bestimmung der funktionell aktiven Heparin-Konzentration mittels Anti-Xa Aktivität soll ermittelt werden, wie häufig eine relevante Heparinkonzentration trotz intraoperativer Antagonisierung des Heparins mit Protamin bei Aufnahme auf der Intensivstation vorliegt. Des Weiteren soll überprüft werden, wie häufig diese Konzentration durch die Gabe von mit Heparin versetztem „Maschinenblut" überschritten wird. Mittels ROC-Analysen sollen Sensitivität und Spezifität der anderen vier Parameter ermittelt werden, mit der eine Überschreitung des oben genannten Grenzwertes detektiert werden kann.

6. Archivierung und Datenschutz

Alle Daten werden pseudoanonymisiert erfasst. Die Codierung erfolgt über die klinikinterne Patientennummer.

Eine gesonderte Aufklärung und schriftliche Einwilligung des einzelnen Patienten über die studienbedingte zusätzliche Entnahme von 30 ml Blut wird durchgeführt.

7. Literatur

1. Paperella D, Brister SJ, Buchanan MR (2004): Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. Intensive Care Med 30, 1873-1881

2. Murphy GJ, Reeves BC, Rogers CA, Rizvi SIA, Culliford L, Angelini GD (2007): Increased mortality, postoperative morbidity, and cost after red blood cell transfusion in patients having cardiac surgery. Circulation 116, 2544-2552

3. Teoh KH, Young E, Blackall MH, Roberts RS, Hirsh J (2004): Can extra protamine eliminate heparin rebound following cardiopulmonary bypass? J Thorac Cardiovasc Surg 128, 211-2019

4. Mittermayr M, Margreiter J, Velik-Salchner C, Klingler A, Streif W, Fries D, Innerhofer P (2005): Effects of protamine and heparin can be detected and easily differentiated by modified thrombelastography (Rotem): an in vitro study. Br J Anaesth 95, 310-316

8. Unterschriften

Einverständniserklärung der beteiligten Untersucher:

Projektleiter: PD Dr. med. Anselm Bräuer, DEAA#

Prüfärzte: Dr. med. Saskia Wand

Dr. med. Stephanie Cassens, DESA #

Prof. Dr. med. Nicolas von Ahsen*

Dr. med. Daniel Heise, DEAA#

Christian Bireta +

Abteilungsdirektor: Prof. Dr. med. Michael Quintel#

Zentrum Anaesthesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin, Universitätsmedizin Göttingen

+ Klinik und Poliklinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie, Universitätsmedizin Göttingen

* Abteilung Klinische Chemie, Universitätsmedizin Göttingen

9. Fragebögen

Entfällt

10. Patienteninformation und Einverständniserklärung

Anlagen

Dokumentationsbogen

Patient:

Alter: __ Jahre Geschlecht: __w __m

Körpergröße: __ cm ASA: ___

Gewicht: __ kg

Präoperative Medikation: ASS __ mg bis zum.....

Clopidogrel __ mg bis zum.....

Marcumar __ mg bis zum.....

Heparin s.c. __ IE bis zum.....

Präoperative Gerinnung: Quick: ___%

PTT: ___sec

TZ: ___sec

Fibrinogen: ___m g/dl

Thrombozytenzahl: ___x10³/ml

Anti-Xa ___ IE/ml

Operativer Eingriff: _____

Intraoperativ verabreichte Medikamente:

Heparin _____ IE Protamin _____ IE

Intraoperativ transfundierte Einheiten:

EK ____ml FFP ____ml

Thrombozytenkonzentrat ____ml Maschinenblut ____ml

Gerinnungsfaktoren/Gerinnungsaktive Substanzen:

PPSB ____ IE Fibrinogen ____g AT III ____ IE

Tranexamsäure ____g Desmopressin ____E

Laborparameter bei Aufnahme:

Quick ___%

PTT ___sec

TZ ___sec

Fibrinogen ___m g/dl

Thrombozytenzahl ___x10^3/ml

Anti-FXa ___ IE/ml

ACT Hemochron	___sec
ACT Hepcon®	___sec
Hepcon®	___ E Protamin empfohlen
Rotem® CT-INTEM	___ sec
CT-HEPTEM	___ sec
Körperkerntemperatur	___°C

Laborparameter nach Gabe von „Maschinenblut“:

Menge des „Maschinenblutes“	___ml
Quick	___%
PTT	___sec
TZ	___sec
Fibrinogen	___m g/dl
Thrombozytenzahl	___x10³/ml
Anti-Xa	___ IE/ml
ACT Hemochron	___sec
ACT Hepcon®	___sec
Hepcon®	___ E Protamin empfohlen
Rotem® CT-INTEM	___ sec
CT-HEPTEM	___ sec
Körperkerntemperatur	___°C]

6.2 Patienteninformation

ZENTRUM ANAESTHESIOLOG IE, RETTUNGS- U. INTENSIVMEDIZIN

Geschäftsführender Leiter: Prof. Dr. med. M. Quintel

Leiter der Studie: PD Dr. med. A. Bräuer, Robert-Koch-Str. 40, 37075 Göttingen,

Tel.:0551-39-22946

Information zur Studie

„Methodenvergleich zur Erfassung einer

Restheparinisierung nach kardiochirurgischen Eingriffen“

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient!

Bei Ihnen ist eine Herzoperation unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine geplant. Aus diesem Grund bitten wir Sie um die freiwillige Teilnahme an dieser wissenschaftlichen Studie, die einen Vergleich zwischen verschiedenen Laboruntersuchungen im Hinblick auf die Blutgerinnung ergeben soll. Nach der Operation werden Sie zunächst auf die Intensivstation verlegt, damit in dieser frühen Phase die Funktion aller lebenswichtigen Organe lückenlos überwacht werden können. Hierzu werden Sie von speziell geschultem ärztlichen und pflegerischen Fachpersonal betreut, das Ihre Körperfunktionen nicht nur mit Messinstrumenten überwacht ("Monitoring"), sondern auch regelmäßig bestimmte Blutwerte kontrolliert.

Störungen der Blutgerinnung gehören zu den häufigeren Problemen nach Herzoperationen. Der Einsatz der Herz-Lungen-Maschine erfordert, dass Ihr Blut durch Medikamente ungerinnbar gemacht wird (sog. Heparinisierung). Eine weitere mögliche Ursache ist die Gabe von un-

gerinnbar gemachtem Wundblut, das während der Operation gesammelt und aufbereitet wird. Auch wenn hierdurch unter Umständen die Gerinnung beeinträchtigt wird, kann dadurch andererseits die Gabe von Fremdblutkonserven vermieden werden.

Für die Überwachung der Blutgerinnung und der Restheparinisierung nach Abschluss der Operation stehen eine Reihe von Laboruntersuchungen zur Verfügung. Alle bisher bekannten Laborwerte haben ihre Vor- und Nachteile, so dass ein „idealer" Labortest bislang nicht existiert. Von besonderer Bedeutung ist daher ein systematischer Vergleich der bisher gebräuchlichen Laboruntersuchungen, um gegebenenfalls die Vorteile der einzelnen Untersuchungen allein oder in Kombination nutzen zu können.

Aus diesem Grund bitten wir Sie um Ihre freiwillige Teilnahme an dieser Studie, die am Klinikum der Universität Göttingen durchgeführt wird und fünf verschiedene Blutgerinnungstests bei Patienten nach Herzoperationen vergleichend untersuchen soll. Hierzu werden vor der Operation, unmittelbar nach Aufnahme auf der Intensivstation sowie nach der Gabe von aufbereitetem Eigenblut alle fünf Gerinnungsuntersuchungen durchgeführt. Hierzu sind drei Blutentnahmen notwendigen, bei denen insgesamt etwa 30 ml Blut aus bereits liegenden Infusionskathetern entnommen.
Die Untersuchung beschränkt sich ausschließlich auf die Messung und den Vergleich der verfügbaren Blutgerinnungstests. Es werden nicht nur die Ergebnisse der Gerinnungstests gespeichert, sondern auch einige in der Routineversorgung erhoben Laborwerte und Daten zur Operation, wie Art und Dauer des Eingriffs, oder zur Person, wie Alter und Geschlecht. Die Speicherung dieser Daten erfolgt in pseudoanonymisierter Form. Das heißt die Daten werden unter einer Nummer gespeichert, damit die Zuordnung der erhobenen Daten zur Person nur

durch einen getrennt aufbewahrten Schlüssel möglich ist. Nur die verantwortlichen Studienärzte haben Einblick in die Originalunterlagen und können eine Entschlüsselung vornehmen. Nach Anschluss der Studie werden die gesammelten Proben vernichtet, es erfolgt keine Weitergabe an Dritte. Die Speicherung der Daten wird für 2 Jahre erfolgen. Für den Fall, dass Sie Ihre Teilnahme an dieser Studie widerrufen, können Sie eine Löschung aller personenbezogenen Daten verlangen. Es werden im Rahmen der Studie weder Testsubstanzen verabreicht, noch wird die medizinische Behandlung vor, während und nach der Operation durch die Studie in irgendeiner Weise beeinflusst. Die einzige zusätzliche Maßnahme besteht in der Entnahme von insgesamt ca. 30 ml Blut, was weniger als 0,5% der gesamten Blutmenge des Körpers entspricht. Hierdurch sind keinerlei negative Effekt auf den Kreislauf oder die Erholungsphase nach der Operation zu erwarten.

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig und erfolgt nur nach Aufklärung der Patienten sowie nach deren schriftlicher Zustimmung. Die Einverständniserklärung kann jederzeit von den Patienten oder ihren Angehörigen widerrufen werden. Aus der Teilnahme an der Untersuchung ergibt sich kein unmittelbarer Nutzen für die Patienten, die medizinische Behandlung wird durch die Teilnahme in keiner Weise beeinflusst oder geändert.
Zusätzlich zum oben genannten Studienleiter sind die an der Studie beteiligten Prüfärzte für die Patienten oder ihre Angehörigen persönlich oder telefonisch (über die Hauptpforte: 0551-39 6810) erreichbar:

PD Dr. A. Bräuer:	Pieper-Nr. 919-4094
Dr. S. Wand :	Pieper-Nr: 919-4035
Dr. S. Cassens:	Pieper-Nr. 919-4205 Dr.
D. Heise:	Pieper-Nr. 919-4069
C. Bireta:	Pieper-Nr. 919-1342

6.3 Einwilligungserklärung des Patienten

GEORG-AUGUST-UNIVERSITÄT GÖTTINGEN

Universitätsmedizin Göttingen

ZENTRUM ANAESTHESIOLOG IE, RETTUNGS- U. INTENSIVMEDIZIN

EINWILLIGUNGSERKLÄRUNG DES PAT IENTEN

Methodenvergleich zur Erfassung einer Restheparinisierung nach kardiochirurgischen Eingriffen

NAME:.....

Geb. am .....

Pat.-Nr. .....

AUFKLÄRENDER ARZT: ..... P IEPER: .....

Zentrum Anaesthesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin Robert-Koch-Str. 40

D-37075 Göttingen

Tel.-Nr. 0551-39-22230 (Anästhesiologie)

Über das Ziel und den Nutzen der Untersuchung wurde ich aufgeklärt, meine Fragen wurden beantwortet. Mir ist bekannt, dass ich die Einwilligung jederzeit widerrufen kann, ohne dass

dadurch Nachteile entstehen. Ich erkläre mich bereit, an der wissenschaftlichen Untersuchung über den Methodenvergleich zur Erfassung einer Restheparinisierung nach kardiochirurgischen Eingriffen teilzunehmen.

Mir ist bekannt, dass bei dieser Untersuchung personenbezogene Daten, medizinische Proben gesammelt und Daten über mich erhoben, gespeichert und ausgewertet werden sollen. Ich wurde informiert, dass die Speicherung der Daten in pseudoanonymisierter Form erfolgt, damit keine Zuordnung der erhobenen Daten zu meiner Person durch Dritte erfolgen kann. Mir ist bekannt, dass eine Speicherung der Daten für einen Zeitraum von 2 Jahren erfolgt und ich im Falle eines Widerrufs meiner Studienteilnahme eine Löschung aller personenbezogenen Daten verlangen kann. Desweiteren ist mir bekannt, dass nach Abschluß der Untersuchung sämtliche gesammelten Proben vernichtet werden. Die Verwendung der Angaben über meine Person und die Erhebung der Daten erfolgt nach den gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor der Teilnahme an der Untersuchung die folgende freiwillig abgegebene Einwilligungserklärung voraus.

Göttingen, den .....

..... (Unterschrift des/der Patienten/in)

..... (Unterschrift des Arztes)

7 Literaturverzeichnis

Avidan MS, Alcock EL, Da Fonseca J, Ponte J, Desai JB, Despotis GJ, Hunt BJ (2004): Comparison of structured use of routine laboratory tests or nearpatient assessment with clinical judgement in the management of bleeding after cardiac surgery. Br J Anaesth 92 (2), 178–186

Barthels M: Das Gerinnungskompendium. 2. Auflage: Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2013

Bennett KM, Briggins D, Zucker M, LaDuca F (2001): A four-year experience with patient individualized heparin and protamine dosing using the Hemochron RxDx system. J Extra Corpor Technol 33, 19-22

Bernabei A, Gikakis N, Maione TE, Kowalska MA, Yan Z, Niewiarowski S, Edmunds JLH (1995): Reversal of heparin anticoagulation by recombinant platelet factor 4 and protamine sulfate in baboons during cardiopulmonary bypass. J Thorac Cardiovasc Surg 109, 765–771

http://www.biomed.ruhr-uni-bochum.de/forschun g/pic/9801p08a01.gif; Zugriff am 22.4.2012

Bojar RM: Manual of Perioperative Care in Adult Cardiac Surgery. 5. Auflage; Wiley Blackwell Verlag, Hoboken (New Jersey) 2011

Bolliger D, Szlam F, Azran M, Koyama K, Levy JH, Molinaro RJ, Tanaka KA (2010): The Anticoagulant Effect of Protamine Sulfate Is Attenuated in the Presence of Platelets or Elevated Factor VIII Concentrations. Anesth Analg 111, 601–608

Born F, Dreizler T, Lipps C, Schmid O, Schulze J, Haimerl G, Starck C, Behrens M (2010): Modified Adult Perfusion System – MAPS. Kardiotechnik 2, 33–36

Bosch YP, Ganushchak YM, de Jong DS (2006): Comparison of ACT point-of-care measurements: repeatability and agreement. Perfusion 21, 27-31

Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith 3rd. EE, Steward DE, Theroux P, Gibbons RJ, Alpert JS, Faxon DP, Fuster V, Gregoratos G, Hiratzka LF, Jacobs AK, Smith Jr. SC, American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina) (2002): ACC/AHA Guideline Update for the Management of Patients With Unstable Angina and Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction 2002: Summary Article: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). Circulation 14, 1893–1900

Bruhn H, Hach-Wunderle V, Schambeck CM, Scharf RE: Hämostaseologie für die Praxis-Sicher durch den klinischen Alltag. 2. Auflage; Schattauer Verlag, Stuttgart 2011

Burgis E: Intensivkurs allgemeine und spezifische Pharmakologie. 4. Auflage; Urban & Fischer Verlag, München 2008

Bursi F, Barbieri A, Politi L, Di Girolamo A, Malagoli A, Grimaldi T, Rumolo A, Busani S, Girardis M, Jaffe AS, Modena MG (2009): Perioperative red blood cell transfusion and outcome in stable patients after elective major vascular surgery. Eur J Vasc Endovasc Surg 37, 311-318

Calatzis A, Kling M, Stemberger A, Hipp R (1995): Konzept zum „bedside"-Gerinnungsmonitoring mittels modifizierter Thrombelastographie. Anaesthesist 44(2), 437

Calatzis A, Heesen M, Spannagl M (2003): Patientennahe Sofortdiagnostik von Hämostaseveränderungen in der Anästhesie und Intensivmedizin. Anaesthesist 52, 229–237

Chavez JJ, Foley DE, Snider CC, Howell JC, Cohen E, Muenchen RA, Carroll RC (2004): A Novel Thrombelastograph® Tissue Factor/Kaolin Assay of Activated Clotting Times for Monitoring Heparin Anticoagulation During Cardiopulmonary Bypass. Anesth Analg 99, 1290–1294

Cook JJ, Niewiarowski S, Yan Z, Schaffer L, Lu W, Stewart GJ, Mosser DM, Myers JA, Maione TE (1992): Platelet factor 4 efficiently reverses heparin anticoagulation in the rat without adverse effects of heparin-protamine complexes. Circulation 85, 1102–1109

Dalbert S, Ganter MT, Furrer L, Klaghofer R, Zollinger A, Hofer CK (2006): Effects of heparin, haemodilution and aprotinin on kaolin-based activated clotting time: in vitro comparison of two different point of care devices. Acta Anaesthesiol Scand 50, 461-468

Darius H (2010): Update: orale Thrombozyteninhibitoren in der Kardiologie. Internist 4, 533–538

Dehmer GJ, Fisher M, Tate DA, Teo S, Bonnem EM (1995): Reversal of heparin anticoagulation by recombinant platelet factor 4 in humans. Circulation 91, 2188–2194

Dehmer GJ, Lange RA, Tate DA, Pirwitz M, Daniel W, Fisher M, Bonnem EM (1996): Randomized trial of recombinant platelet factor 4 versus protamine for the reversal of heparin anticoagulation in humans. Circulation 94, II347–352

Demma L, Levy JH (2012): A case series of recombinant platelet factor 4 for heparin reversal after cardiopulmonary bypass. Anesth Analg 115(6), 1273-1278

Despotis GJ, Summerfield AL, Joist JH, Goodnough LT, Santoro SA, Spitznagel E, Cox JL, Lappas DG (1994): Comparison of activated coagulation time and whole blood heparin measurements with laboratory plasma anti-Xa heparin concentration in patients having cardiac operations. J Thorac Cardiovasc Surg 108, 1076–1082

Despotis GJ, Joist HJ, Goodnough LT (1997): Monitoring of hemostasis in cardiac surgical patients: impact of Punkt-of-care testing on blood loss and transfusion outcomes Monitoring of hemostasis in cardiac surgical. Clin Chem 43 (9), 1684–1696

Eagle KA, Guyton RA, Davidoff R, Edwards FH, Ewy GA, Gardner TJ, Hart JC, Herrmann HC, Hillis LD, Hutter Jr. AM, Lytle BW, Marlow RA, Nugent WC, Orszulak TA (2004): ACC/AHA 2004 Guideline Update for Coronary Artery Bypass Graft Surgery: Summary Article: A Report of the American College of Cardiologyebinger/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 1999 Guidelines for Coronary Artery Bypass Graft Surgery). Circulation 9, 1168–1176

Ebinger T, Ruland A, Lakner M, Schwaiger M (2010): Validity, regulatory registration and approval of ROTEM thromboelastometry. Blood Coagul Fibrinolysis 21, 106–107

Fischlein T (2000): Coagulation Defects in Cardiac Surgery. Hamostaseologie 20, 110–116

Flom-Halvorsen HI, Ovrum E, Oystese R, Brosstad F (2003): Quality of intraoperative autologous blood withdrawal used for retransfusion after cardiopulmonary bypass. Ann Thorac Surg 76, 744-748

Garvin S, FitzGerald DC, Despotis G, Shekar P, Body SC (2010): Heparin Concentration–Based Anticoagulation for Cardiac Surgery Fails to Reliably Predict Heparin Bolus Dose Requirements. Anesth Analg 111, 849–855

http://www.gerinnung-igs.at/pic-buch/paramerter_Thrombelastometr.gif; Zugriff am 12.12.2012

Girardi L, Sudi K, Muntean W (2000): Effect of Heparin, Platelets, Activated Platelets, Platelet Fragments, and Hematocrit on Activated Clotting Time. Artif Organs 24(7), 507–513

Gorlinger K, Shore-Lesserson L, Dirkmann D, Hanke AA, Rahe-Meyer N, Tanaka KA (2013): Management of hemorrhage in cardiothoracic surgery. J Cardiothorac Vasc Anesth 27, 20-34

Gravlee GP, Rogers AT, Dudas LM, Taylor R, Roy RC, Case LD, Triscott M, Brown CW, Mark LJ, Cordell AR (1992): Heparin Management Protocol for Cardiopulmonary Bypass Influences Postoperative Heparin Rebound but Not Bleeding. Anesthesiology 76, 393–401

Griffin MJ, Rinder HM, Smith BR, Tracey JB, Kriz NS, Li CK, Rinder CS (2001): The Effects of Heparin, Protamine and Heparin/Protamine Reversal on Platelet Function Under Conditions of Arterial Shear Stress. Anesth Analg 93, 20–27

Guzzetta NA, Monitz HG, Fernandez JD, Fazlollah TM, Knezevic A, Miller BE (2010): Correlations between activated clotting time values and heparin concentration measurements in young infants undergoing cardiopulmonary bypass. Anesth Analg 111, 173-179

Haas T, Spielmann N, Mauch J, Madjdpour C, Speer O, Schmugge M, Weiss M (2012): Comparison of thromboelastometry (ROTEM) with standard plasmatic coagulation testing in paediatric surgery. Br J Anaesth 1, 36–41

Hartert H (1948): Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. Klin Wochenschr 26, 577-583

Hartmann M, Boehm O, Koch A, Loer S, Zacharowski K (2005): Das Gerinnungssystem während extrakorporaler Zirkulation. Kardiotechnik 2, 43–48

Heindl B, Spannagl M (2009): Neue orale Antikoagulanzien. Anaesthesist 12, 1252–1255

Heymann C von, Spies C, Grubitzsch H, Schönfeld H, Sander M, Volk T (2006): Blutungen nach herzchirurgischen Operationen. Die Rolle des rekombinanten Faktors VIIa. Hamostaseologie 26, 77–87

Hoffman M, Monroe III DM (2001): A Cell-based Model of Hemostasis. Thromb Haemost 85, 958–965

Johansson PI (2010): 7th Innsbruck Winter Symposium for Coagulation "Haemostasis in Massive Bleeding and Trauma" Standard coagulation tests versus viscoelastic POC monitoring. Wien Klin Wochenschr 122, 9-10

Karow T, Lang-Roth R: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 22. Auflage; Karow, Köln 2013

Kashuk JL, Moore EE, Sawyer M, Le T, Johnson J, Biffl WL, Cothren CC, Barnett C, Stahel P, Sillman CC, Sauaia A, Banerjee A (2010): Postinjury Coagulopathy Management Goal Directed Resuscitation via POC Thrombelastography. Ann Surg 251 (4), 604–614

Kemkes-Matthes B (2008): Anticoagulation by oral treatment with vitamin K antagonists. Hamostaseologie 28(5), 421-427

Kertai MD, Tiszai-Szucs T, Varga KS, Hermann C, Acsady G, Gal J (2009): Intraoperative use of packed red blood cell transfusion and mortality in patients undergoing abdominal or thoracoabdominal aortic aneurysm surgery. J Cardiovasc Surg 50, 501-508

Khan NU, Wayne CK, Barker J, Strang T (2010): The effects of protamine overdose on coagulation parameters as measured by the thrombelastograph. Eur J Anaesthesiol 27, 624–627

Khuri SF, Valeri CR, Loscalzo J, Weinstein MJ, Birjiniuk V, Healey NA, MacGregor H, Doursounian M, Zolkewitz MA (1995): Heparin Causes Platelet Dysfunction and Induces Fibrinolysis Before the Institution of Cardiopulmonary Bypass. Ann Thorac Surg 60, 1008–1014

Kimmel SE, Sekeres M, Berlin JA, Ellison N (2002): Mortality and Adverse Events After Protamine Administration in Patients Undergoing Cardiopulmonary Bypass. Anesth Analg 94, 1402–1408

Koch CG, Li L, Duncan AI, Mihaljevic T, Cosgrove DM, Loop FD, Starr NJ, Blackstone EH (2006): Morbidity and mortality risk associated with red blood cell and blood-component transfusion in isolated coronary artery bypass grafting. Crit Care Med 34, 1608-1616

Kochs E, Adams HA, Spies C: Anästhesiologie. 2. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2008

Lancé M, Stessel B, Hamulyák K, Marcus MA (2010): Alte und neue Gerinnungshemmer Antidota und Maßnahmen bei akuter Blutung sowie dringenden Eingriffen. Anaesthesist 59, 62–68

Lang T, Depka M von (2006): Possibilities and limitations of thrombelastometry/-graphy. Hamostaseologie 26, 20–29

Leal-Noval SR, Rincón-Ferrari MD, García-Curiel A, Herruzo-Avilés A, Camacho-Larana P, Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R (2001): Transfusion of Blood Components and Postoperative Infection in Patients Undergoing Cardiac Surgery. Chest 119, 1461–1468

Leitlinie Chronische KHK s. Nationale Versorgungsleitlinie

Levy JH, Cormack JG, Morales A (1995): Heparin Neutralization by Recombinant Platelet Factor 4 and Protamine. Anesth Analg 81, 35–37

Luxembourg B, Krause M, Lindhoff-Last E (2007): Basiswissen Gerinnungslabor. Dtsch Arztebl 104 (21), 1489-1498

Mahnel R, Bassus S, Kirchmaier CM (2009): Blutungskomplikationen unter Antikoagulanzientherapie. Internist 12, 1369–1380

Mallett SV, Cox DJA (1992): Thrombelastography. Br J Anaesth 69, 307–313

Martin P, Horkay F, Gupta NK, Gebitekin C, Walker DR (1992): Heparin rebound phenomenon-much ado about nothing? Blood Coagul Fibrinolysis 3, 187–191

McFarlane RG (1964): An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biological amplifier. Nature 202, 498–499

Mehta SR, Tanguay JF, Eikelboom JW, Jolly SS, Joyner CD, Granger CB, Faxon DP, Rupprecht HJ, Budaj A, Avezum A, Widimsky P, Steg PG, Bassand JP, Montalescot G, Macaya C, Di Pasquale G, Niemela K, Ajani AE, White HD, Chrolavicius S, Gao P, Fox KA, Yusuf S (2010): Double-dose versus standard-dose clopidogrel and high-dose versus low-dose aspirin in individuals undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndromes (CURRENT-OASIS 7): a randomised factorial trial. Lancét 376(9748), 1233-1243

Menasché P (2001): Strategies to improve myocardial protection during extracorporeal circulation. Shock 16, 20–23

Miceli A, Duggan SMJ, Aresu G, de Siena PM, Romeo F, Glauber M, Caputo M, Angelini GD (2013): Combined clopidogrel and aspirin treatment up to surgery increases the risk of postoperative myocardial infarction, blood loss and reoperation for bleeding in patients undergoing coronary artery bypass grafting. Eur J Cardiothorac Surg 43(4), 722-728

Mittermayr M, Margreiter J, Velik-Salchner C, Klingler A, Streif W, Fries D, Innerhofer P (2005): Effects of protamine and heparin can be detected and easily differentiated by modified thrombelastography (Rotem®): an in vitro study. Br J Anaesth 95, 310–316

Mittermayr M, Velik-Salchner C, Stalzer B, Margreiter J, Klingler A, Streif W, Fries D, Innerhofer P (2009): Detection of Protamine and Heparin After Termination of Cardiopulmonary Bypass by Thrombelastometry (ROTEM®): Results of a Pilot Study. Anesth Analg 108, 743–750

Mochizuki T, Olson PJ, Szlam F, Ramsay JG, Levy JH (1998): Protamine Reversal of Heparin Affects Platelet Aggregation and Activated Clotting Time After Cardiopulmonary Bypas. Anesth Analg 87, 781–785

Monroe DM, Hoffman M (2006): What Does It Take to Make the Perfect Clot? Arterioscler Thromb Vasc Biol 26 (1), 41-48

Murphy GJ, Reeves BC, Rogers CA, Rizvi SIA, Culliford L, Angelini GD (2007): Increased Mortality, Postoperative Morbidity, and Cost After Red Blood Cell Transfusion in Patients Having Cardiac Surgery. Circulation 116, 2544–2552

Murphy MF, Pamphilon DH: Practical Transfusion Medicine. 3. Auflage; Wiley-Blackwell Verlag, Oxford 2009

Murray DJ, Brosnahan WJ, Pennel B, Kapalanski D, Weiler JM, Olson J (1997): Heparin Detection by the Activated Coagulation Time: A Comparison of the Sensitivity of Coagulation Tests and Heparin Assays. J Cardiothorac Vasc Anesth 11, 24-28

Nationale Versorgungsleitlinie Chronische KHK. Hrsg. V. Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) u. a. 2. Auflage, Version 1, Juli 2013

Nielsen VG (2002): The Detection of Changes in Heparin Activity in the Rabbit: A Comparison of Anti-Xa Activity, Thrombelastography®, Activated Partial Thromboplastin Time, and Activated Coagulation Time. Anesth Analg 95, 1503–1506

Nielsen VG (2006): Protamine Enhances Fibrinolysis by Decreasing Clot Strength: Role of Tissue Factor-Initiated Thrombin Generation. Ann Thorac Surg 81, 1720–1727

Ogawa S, Szlam F, Chen EP, Nishimura T, Kim H, Roback JD, Levy JH, Tanaka KA (2012): A comparative evaluation of rotation thromboelastometry and standard coagulation tests in hemodilution-induced coagulation changes after cardiac surgery. Transfusion 52, 14–22

Ojito JW, Hannan RL, Burgos MM, Lim H, Huynh M, Velis E, Arocha M, Tirotta CF, Burke RP (2012): Comparison of point-of-care activated clotting time systems utilized in a single pediatric institution. J Extra Corpor Technol 44, 15-20

Paparella D, Brister SJ, Buchanan MR (2004): Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. Intensive Care Med 10, 1873–1881

Preissner KT (2008): Physiologie der Blutgerinnung und Fibrinolyse. Hamostaseologie 28, 259-271

Pretzsch S, Müller P, Stiller M, Henning R, Zorn H (2007): Standard der extrakorporalen Zirkulation in der Klinik für Herz- und Thoraxchirurgie des Universitätsklinikums der Martin-Luther-Universität Halle (Saale). Kardiotechnik 1, 3–7

Racioppi L, Quinart A, Biais M, Nouette-Gaulain K, Revel P, Sztark F (2009): Validation of a bedside activated clotting time test (Hemochron ® Jr II Signature) with low dose heparin therapy. Anaesthesia 64, 430–434

Reinhöfer M, Brauer M, Franke U, Barz D, Marx G, Lösche W (2008): The value of rotation thromboelastometry to monitor disturbed perioperative haemostasis and bleeding risk in patients with cardiopulmonary bypass. Blood Coagul Fibrinolysis 19, 212–219

Roberts HR, Hoffman M, Monroe DM (2006): A cell-based model of thrombin generation. Semin Thromb Hemost 32, 32-38

Runge M, Moller CH, Steinbruchel DA (2009): Increased accuracy in heparin and protamine administration decreases bleeding: a pilot study. J Extra Corpor Technol 41, 10-14

Ruß M, Cremer J, Krian A, Meinertz T, Werdan K, Zerkowski H-R (2009): Differenzialtherapie der chronischen koronaren Herzkrankheit. Dtsch Arztebl 106 (15), 253-261

Schulte am Esch J, Bause H, Kochs E, Schulz J, Standl T, Werner C: Anästhesie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie. 4. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2011

Shigeta O, Kojima H, Hiramatsu Y, Jikuya T, Terada Y, Atsumi N, Sakakibara Y, Nagasawa T, Mitsui T (1999): Low-dose protamine based on heparin-protamine titration method reduces platelet dysfunction after cardiopulmonary bypass. J Thorac Cardiovasc Surg 118, 354-360

Shore-Lesserson L, Reich DL, DePerio M (1998): Heparin and protamine titration do not improve haemostasis in cardiac surgical patients. Can J Anaesth 45, 10-18

Smith SA (2009): The cell-based model of coagulation. J Vet Emerg Crit Care 1, 3–10

Spannagl M, Calatzis A (2002): Punkt-of-Care Analyse des Hämostasesystems. Transl Res 26, 68–76

Striebel HW: Anästhesie, Intensivmedizin, Notfallmedizin-Für Studium und Ausbildung. 6. Auflage; Schattauer Verlag, Stuttgart 2005

Tanaka KA, Key NS, Levy JH (2009): Blood Coagulation: Hemostasis and Thrombin Regulation. Anesth Analg 108, 1433–1446

Teoh KH, Young E, Bradley CA, Hirsh J (1993): Heparin binding proteins. Contribution to heparin rebound after cardiopulmonary bypass. Circulation 88, 420–425

Teoh KHT, Young E, Blackall MH, Roberts RS, Hirsh J (2004): Can extra protamine eliminate heparin rebound following cardiopulmonary bypass surgery? J Thorac Cardiovasc Surg 128, 211–219

Thiel H, Roewer N: Anästhesiologische Pharmakotherapie-Von den Grundlagen der Pharmakologie zur Medikamentenpraxis. 3. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2013

http://www.thromboseportal.at/_images/patienteninfos/13_Heparin_Strukturformel.jpg; Zugriff am 26.4.2012

Toulon P, Ozier Y, Ankri A, Fleron MH, Leroux G, Samama CM (2009): Point-of-care versus central laboratory coagulation testing during haemorrhagic surgery. A multicenter study. Thromb Haemost 101, 394-401

Tremey B, Szekely B, Schlumberger S, Francois D, Liu N, Sievert K (2006): Anticoagulation monitoring during vascular surgery: accuracy of the Hemochron(R) low range activated clotting time (ACT-LR). Br J Anaesth 97, 453–459

Tschaikowsky K, Balint R, Pscheidl E, Bremer F (1998): On-site measurement of prothrombin time and activated partial thromboplastin time in surgical patients. Anaesthesist 47, 295–302

Van Es RF, Jonker JJ, Verheugt FW, Deckers JW, Grobbee DE (2002): Aspirin and coumadin after acute coronary syndromes (the ASPECT-2 study): a randomised controlled trial. Lancét 360 (9327), 109-113

Vincent JL, Baron J, Reinhart K, Gattinoni L, Thijs L, Webb A, Meier-Hellmann A, Nollet G, Peres-Bota D (2002): Anemia and Blood Transfusion in Critically Ill Patients. JAMA 288, 1499–1507

Vonk AB, Veerhoek D, van den Brom CE, van Barneveld LJ, Boer C (2014): Individualized heparin and protamine management improves rotational thromboelastometric parameters and postoperative hemostasis in valve surgery. J Cardiothorac Vasc Anesth 28, 235-241

Völler H, Alban S, Westermann D (2010): Neue orale Antikoagulanzien. Internist 12, 1571–1581

Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, Horrow J, Husted S, James S, Katus H, Mahaffey KW, Scirica BM, Skene A, Steg PG, Storey RF, Harrington RA (2009): Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. N Engl J Med 361(11), 1045-1057

Weber CF, Görlinger K, Meininger D, Herrmann E, Bingold T, Moritz A, Cohn LH, Zacharowsky K (2012): Punkt-of-Care Testing: A Prospective, Randomized Clinical Trial of Efficacy in Coagulopathic Cardiac Surgery Patients. Anesthesiology 117, 531–547

Weber CF, Klages M, Zacharowski K (2013a): Perioperative coagulation management during cardiac surgery. Curr Opin Anaesthesiol 26, 60–64

Weber CF, Zacharowski K, Brun K, Volk T, Martin EO, Hofer S, Kreuer S (2013b): Basisalgorithmus für "Point-of-Care" basierte Hämotherapie: Perioperative Versorgung koagulopathischer Patienten. Anaesthesist 62, 464-472

Werdan K, Ruß M, Buerke M, Delle-Karth G, Geppert A, Schöndube FA (2012): Cardiogenic Shock Due to Myocardial Infarction: Diagnosis, Monitoring and Treatment. Dtsch Arztebl Int 109(19), 343–51

Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, Neumann FJ, Ardissino D, De Servi S, Murphy SA, Riesmeyer J, Weerakkody G, Gibson CM, Antman EM (2007): Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. N Engl J Med 357(20), 2001-2015

Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK (2001): Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. N Engl J Med 345(7), 494-502

Zisman E, Eden A, Shenderey A, Meyer G, Balagula M, Ammar R, Pizov R (2009): The effect of acute autologous blood transfusion on coagulation dysfunction after cardiopulmonary bypass. Eur J Anaesthesiol 26, 868–873